

## بررسی وقوع ورم پستان تحت بالینی در یک گاو شیری با استفاده از تست کالیفرنایی شیر؛ شمارش سلولهای سوماتیک، تعیین بار میکروبی و اثرات درمان با پنسیلین در میزان شیردهی آنان

امیر هوشنگ فلاح راد - محمد محسن زاده<sup>۱</sup>

تاریخ دریافت: ۸۳/۱۱/۱۹

### چکیده

در قالب طرحی جهت بررسی میزان وقوع ورم پستان تحت بالینی در تعدادی از گله‌های شیری صنعتی اطراف مشهد مشتمل بر ۲۰۰۰ راس گاو شیری با استفاده از تست کالیفرنایی (CMT)، شمارش سلولهای سوماتیک و تعیین بار میکروبی، گله‌های آلوده تر شناسایی شدند. در یکی از گاو‌داریها که با افزایش سلولهای سوماتیک ( $\geq 8 \times 10^5$ ) و شمارش میکروبی ( $\geq 15 \times 10^4$ ) در شیر مخزن روپرو بود، CMT برای تمامی گاوها انجام شده و با توجه به نتایج بدست آمده از کل گاوها (میانگین بیش از یک مثبت) طرح زیر اجرا گردید. در این طرح برای بررسی میزان وقوع ورم پستان تحت بالینی و اثرات تزریق پنی سیلین بر سطح تولید شیر گاوها تعداد ۳۰ راس گاو شیری هولشتاین از زایمان اول تا ششم به سه گروه ده تایی دوز بالا، دوز پائین و شاهد تقسیم شدند. میزان شیر دهی در یک دوره ده روزه قبل از تزریق آنتی بیوتیک اندازه گیری شد. پنج روز قبل و پنج روز بعد از تزریق ابتدا در تمامی گاوها CMT انجام شده و دو نمونه شیر برای شمارش سلولی و کشت آزمایشگاهی جهت شمارش بار میکروبی و تعیین نوع آلودگی گرفته شد. پنی سیلین پروکائین G در دوزهای ۴۰۰۰۰ IU/KgBW در گروه دوز بالا، ۲۲۰۰۰ IU/KgBW در گروه دوز پائین، و سرم فیزیولوژیک (نمکی) در گروه شاهد در دو نوبت به فاصله ۱۲ ساعت و بمدت سه روز متوالی بصورت عضلانی به گاوها تزریق گردید. میزان شیر دهی در یک دوره ده روزه بعد از تزریق آنتی بیوتیک نیز اندازه گیری شد. میزان شیر دهی در سه گروه قبل از شروع آزمایش اختلاف معنی داری نداشت ( $P > 0.05$ ). همچنین، مقایسه شمارش سلولی، بار کلی میکروبی، تعداد گاو و کارتیبه مبتلا در نمونه‌های شیر ۵ روز قبل از تزریق در سه گروه اختلاف معنی داری نشان نمی داد ( $P > 0.05$ ). در آزمایشات میکروبی اول از ۱۰۰٪ گاوها و ۷۳٪ کارتیبه‌ها استرپتوکوک، ۹۷٪ گاوها و ۵۴٪ کارتیبه‌ها استافیلوکوک، ۳۳٪ گاوها و ۱۰٪ کارتیبه‌ها کولیفرم جدا شد که توأم با نتایج CMT نمایانگر وجود ورم پستان تحت بالینی در گله بود. تولید شیر بعد از تزریق در گروه دوز بالا افزایش یافته در حالیکه در دو گروه دیگر کاهش داشته است. با استفاده از آزمون دانکن اثر سه تیمار فوق در میزان تولید شیر اختلاف معنی داری نشان می داد ( $P < 0.05$ ). همچنین، برای مشخص نمودن اختلاف بین میانگین تیمارها نشان داده شده که دو تیمار دوز پائین و شاهد اثر مشابهی بر روی تولید داشته و فقط در تیمار دوز بالا تولید شیر افزایش یافته بود. از طرفی مقایسه آماری بار کلی میکروبی شیر گاوهای تیمار دوز بالا پنج روز قبل و ده روز بعد از درمان با پنی سیلین نشان دهنده کاهش آن بود ( $P < 0.05$ ). نتیجه اینکه علت افزایش تولید شیر در گروه دوز بالا وجود ورم پستانهای تحت بالینی در گاوهای این گروه بود که عمدتاً در اثر آلودگی پستان‌ها با باکتری هائی ایجاد شده که به درمان با پنی سیلین پاسخ مثبت داده بود. نتایج این طرح اهمیت پایانی اورام پستان تحت بالینی با استفاده از CMT، شمارش کلی باکتریائی و شمارش سلولی در شیر را در گله‌های صنعتی نشان می دهد.

واژه‌های کلیدی: ورم پستان تحت بالینی، CMT، SCC، TBC، پنسیلین، تولید شیر.

### مقدمه

استافیلوکوکها می توانند در تانک شیر نیز تکثیر شده و سبب افزایش بار میکروبی شیر تحویلی به کارخانه‌ها بشوند (۱ و ۸). یکی از ابزار هائی که کاربرد میدانی داشته و انجام آن بسیار ساده و اغلب توسط خود دامدار انجام می شود CMT می باشد. با وجود سادگی این روش از کارآئی بسیاری برخوردار بوده و در تشخیص اورام پستان تحت بالینی کاربرد دارد (۲ و ۴).

عوامل متعدد میکروبی می توانند در ایجاد اورام پستان دخالت داشته باشند که در گونه‌های مختلف دام متفاوت و بعضاً مشترک نیز هستند (۶). تعدادی از این میکروارگانیزمها بعنوان عامل اصلی بیشتر اورام پستان شناخته شده اند که بین ۵۰ الی ۹۰ درصد اورام پستان را در گاو باعث می شوند (۳ و ۱۲). استرپتوکوکها و نه

شیر دهی آنان. طرح زیر به اجرا در آمد.

#### مواد و روشها

جهت بررسی میزان وقوع ورم پستان تحت بالینی در تعدادی از گله های شیری صنعتی اطراف مشهد مشتمل بر ۲۰۰۰ رأس گاو شیری، با استفاده از CMT، شمارش سلولهای سوماتیک و تعیین بار کلی میکروبی، گله های آلوده تر شناسائی شدند. در یک گاوداری که دارای ۷۵ رأس گاو دوشا بوده و با افزایش سلولهای سوماتیک ( $8 \times 10^5 \geq$ ) و شمارش میکروبی ( $10^4 \times$ ) (۱۵  $\geq$ ) در شیر مخزن روبرو بود از یازده رأس بنا به دلایل ورم پستان بالینی، کور بودن دوکارتیه و یا بیماری دیگر CMT بعمل نیامده و بقیه مورد این تست قرار گرفتند. میانگین نتایج CMT در گله بیش از یک مثبت بوده که نشان دهنده وجود ورم پستان تحت بالینی در گله بود. از ۶۴ رأس گاو باقیمانده که دارای ۲۵۰ کارتیه سالم بودند (۶ گاو دارای یک کارتیه کور بودند)، تعداد ۳۰ رأس که در زایمان اول تا ششم (۲۶ رأس زایمان اول تا چهارم و بقیه زایمان های بالا تر) و در اوسط دوره شیر دهی بودند برای انجام طرح جدا شده و به سه دسته تائی تقسیم گردیدند. سعی گردید که گاوها از نظر دفعات زایش، سن و میزان تولید بطور یکسان در سه دسته پخش شوند، سپس هر دسته بطور تصادفی به یکی از گروه های آزمایشی دوز بالا، دوز پائین و شاهد اختصاص یافت. مجدداً پنج روز قبل از شروع آزمایش در تمامی گاوها CMT انجام شده، یک نمونه شیر برای شمارش سلولی و یک نمونه نیز در شیشه درب دار استریل برای کشت آزمایشگاهی (SPC) گرفته شد. به سه تیمار فوق پرتیب پنی سیلین پروکائین G در دوزهای روزانه ۴۰۰۰۰ واحد بین المللی به ازاء هر کیلوگرم وزن زنده دام در گروه دوز بالا، ۲۲۰۰۰ واحد در گروه دوز پائین، و سرم فیزیولوژیک (نمکی) در گروه شاهد بصورت عضلانی تزریق گردید. تزریقات روزانه در دو نوبت به فاصله ۱۲ ساعت و بمدت سه روز متوالی انجام شد.

میزان تولید شیر یک دوره ده روزه قبل و ده روز بعد از تزریق آنتی بیوتیک ثبت شده و واریانس آن مورد تجزیه و تحلیل آماری واقع شد، لذا نوسانات روزانه در اندازه گیری تولید واقعی شیر اثر چندانی نداشت. نمونه های شیر پنج روز قبل از تزریق و ده روز بعد از پایان تزریق آنتی بیوتیک در هنگام شیردوشی در هر

در اورام پستان تحت بالینی گاو مبتلا در ظاهر سالم به نظر می رسد ولی تولید شیر کم شده، جمعیت میکروب ها و همچنین سلولهای سوماتیک در شیر زیاد تر شده و کیفیت شیر نیز پائین می آید (۱، ۲ و ۳). کاهش تولید و کیفیت شیر با تعداد میکروبها و سلولهای سوماتیک در آن ارتباط مستقیم دارد. بعضی میزان کاهش را بیش از ۱۰٪ تولید روزانه می دانند (۹). بعد از تشخیص اولیه با CMT می توان نسبت به آزمایشات دیگری مانند شمارش کلی میکروبی (Total Bacterial Count, TBC)، شمارش سلولی (Somatic Cell Count; SCC)، کشت میکروبی (Standard Plate Count; SPC)، و آنتی بیوگرام اقدام کرد. به دلیل اینکه انجام تمام این تست ها زمان زیادی می برد و ممکن است که سلامت دام و یا پستان ها به خطر بیافتد دامپزشکان با دیدن علامت بالینی نسبت به درمان ورم پستان اقدام می کنند. البته در مورد اورام تحت بالینی کمتر درمان آنتی بیوتیکی انجام می شود و اغلب با تمهیدات مدیریتی این مشکل را برطرف می کنند.

پنی سیلین اولین آنتی بیوتیک کشف شده توسط پشر است که بصورت های مختلفی (تزریقی، خوراکی و موضعی) در پزشکی و دامپزشکی به مصرف میرسد. پنی سیلین یکی از آنتی بیوتیک های مورد تأیید FDA و CVM برای درمان اورام پستان گاوهای شیرده است (۶). باکتریهای اصلی مولد ورم پستان های مسری و محیطی که می توانند به صورت بالینی و تحت بالینی در گاو ظاهر شوند و حساسیت آنها به پنی سیلین عبارتند از استرپتوکوکوس آگالاکتیه (+)، استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه (+)، استرپتوکوکوس یوریریس (+)، استافیلوکوکوس اورئوس (±)، آنتروکوکها (±) و کولیفرمها (-) (۱۳). علامت (به معنی حساس بودن *in vitro* و حساس نبودن *in vivo* می باشد) (۶).

با توجه به اینکه تعیین گاوهای که دچار اورام پستان تحت بالینی می باشند از اهمیت ویژه ای در اقتصاد گاوداری برخوردار بوده و ضمناً افزایش شمارش سلولی و بار میکروبی سبب کاهش ارزش ریالی شیر شده و در نهایت در بهداشت مصرف کننده اثر گذار است لذا انجام پژوهش هایی نظیر طرح حاضر می تواند هم برای تولید کننده و هم مصرف کننده محصولات لبنی مفید باشد. بنا به دلایل ذکر شده برای بررسی وقوع ورم پستان تحت بالینی در یک گله گاو شیری با استفاده از CMT، شمارش سلولهای سوماتیک، تعیین بار میکروبی و اثرات درمان با پنیسیلین در میزان

کشت بلاگ آگار که حاوی ۱۰٪ خون انسانی بود کشت داده شدند. بر مبنای ایجاد پرگنه های همولیتیک و انعقاد (Coagulation) وضعیت نمونه های شیر بررسی شدند.

از نرم افزار SAS برای آنالیز آماری استفاده گردید. مقایسه آماری واریانس تولید شیر، ده روز قبل و ده روز بعد از تزریق آنتی بیوتیک با استفاده از روش (F-test) انجام شد. سپس با استفاده از آزمون دانکن اثر سه تیمار فوق در میزان تولید شیر تعیین گردید. برای مقایسه بار کلی میکروبی شیر هر تیمار، قبل و بعد از تزریق، با فرض بر مساوی بودن واریانس، از روش (Paired Student's t-test) استفاده شد. مقایسه بار میکروبی سه گروه در هر دوره با استفاده از آزمون (Analysis of Variance) انجام گردید. در هر مورد مقایسه میانگین ها  $P \leq 0.05$  معنی دار در نظر گرفته می شد.

#### نتایج و بحث

با بررسی آمار های مربوط به آخرین رکورد گیری تولید گاوها قبل از انجام آزمایش مشخص گردید که تفاوت معنی داری در تولید شیر گاو های سه گروه وجود نداشته ( $P > 0.05$ ). رکورد گیری بعد از انجام آزمایش مشخص کرد که فقط در گاوهای گروه دوز بالا، شیر تولید شده در دوره ده روزه بعد از پایان تزریقات افزایش نشان داده در حالیکه در گروه دوز پائین و شاهد تولید با کاهش همراه بوده است (جدول شماره ۱ و ۲).

در کشت نمونه های نوبت اول در چهار نمونه آزمایشگاهی (چهار کارتی) رشد میکروبی مشاهده نشد ولی در بقیه نمونه ها انواع مختلفی از میکروارگانیزم ها وجود داشتند که نام پنج نوع غالب آنها که در نمونه شیر گاوهای هر سه گروه دیده شده در جدول شماره ۴ آمده است.

بطوریکه در جدول ۳ دیده می شود اکثر گاوهای گروه های

نوبت در لوله های استریل از هر کوآرتر پستان ۳۰ گاو جمع آوری شده و به آزمایشگاه تحویل گردیدند. نمونه ها به شرح زیر مورد انجام آزمایش های میکروبی قرار گرفتند:

۱. تهیه گسترش: در اولین مرحله آزمایش با تهیه مستقیم گسترش روی لام از نمونه های شیر هر کوآرتر، و انجام رنگ آمیزی به روش نیومن- لامپرت (Newman-Lampert)، از طریق مشاهدات میکروسکوپی تعداد میکروارگانیزم ها شمارش و انواع قابل مشاهده تفکیک و ثبت گردیدند.

۲. کشت در محیط: همچنین، نمونه شیر هر کوآرتر بوسیله محلول سالین رقیق و در محیط کشت میلک پروتئین هیدرولیز آگار (MPH) کشت داده شدند که محیط کشت انتخابی جهت شمارش و بررسی کلی میکروارگانیزم های شیر است. سپس پرگنه ها شناسائی و شمارش شده، از پرگنه های متفاوت لام تهیه گردید. از محلول لاکتو فنل (Lactophenol) جهت رنگ آمیزی کپکها و مخمرها و از روش گرم (Gram staining method) برای رنگ آمیزی باکتریها استفاده شد.

۳. باکشت نمونه های، و مشاهدات میکروسکوپی از لام های تهیه شده مستقیم، میانگین تعداد کلی میکروارگانیزم ها در هر میلی لیتر (Total count/ml) شیر هر کوآرتر پستان بدست آمد.

۴. کشت در محیط خوندار (Blood Agar): بر اساس نتایج بدست آمده از کشت های اولیه و مشخص شدن میکروارگانیزم های غالب هر نمونه شیر، جهت پیگیری وجود انواع میکروارگانیزم های مولد همولیز، تمام نمونه هایی که از نظر وجود میکروارگانیزم هائی شامل استرپتوکوک های پایوژن، استافیلوکوکوس اورتوس و اشریشاکلی جواب مثبت داده بودند با استفاده از محیط

جدول (۱) مقایسه آماری واریانس تولید شیر ده روز قبل و ده روز بعد از تزریق در سه گروه

منابع تغییرات	درجه آزادی	مجموع مربعات	واریانس	F	P-value
تیمار	۲	۲۱۱۶/۲۲	۱۰۵۸/۱۱	۷/۲۴	< ۰.۰۱
خطا	۲۵	۳۴۵۲/۴۶	۱۴۶/۱۰		
کل	۲۷	۵۵۶۸/۶۸			

جدول (۲) جدول واریانس معدههای تولید شیر، میانگین هایی که با حروف متفاوت لاتین نشان داده شده است دارای تفاوت معنی داری می باشند

تیمار	دوز بالا	دوز پائین	شاهد
میانگین	۰۷/۲۲ <sup>b</sup>	-۱۰/۹۱ <sup>a</sup>	-۱۲ <sup>a</sup>
انحراف خطا	۴/۰۳	۳/۶۴	۴/۲۷

جدول (۳) انواع غالب میکروارگانیسم های کشت داده شده در نمونه های شیر گاوهای سه گروه و تعداد گاو و کارتیه آلوده

نوع میکروارگانیسم	استرپتوکوکها		استافیلوکوکها		مخمرها		قارچ ها		کولیفرم ها
	گاو	کارتیه آلوده	گاو	کارتیه آلوده	گاو	کارتیه آلوده	گاو	کارتیه آلوده	
گروه شاهد	۱۰	۲۵	۹	۲۳	۱	۱	۴	۶	۵
گروه دوز پائین	۱۰	۳۰	۱۰	۱۸	۲	۲	۶	۷	۳
گروه دوز بالا	۱۰	۳۳	۱۰	۲۳	۳	۳	۳	۴	۲

جدول (۴) آلودگی با میکروارگانیسم ها صرف نظر از گروه به تفکیک کارتیه های جلو و عقب

نوع میکروارگانیسم	استرپتوکوکها		استافیلوکوکها		مخمرها		قارچ ها		کولیفرم ها
	عقب	جلو	عقب	جلو	عقب	جلو	عقب	جلو	
کارتیه جلو یا عقب	۴۲	۴۶	۳۵	۲۳	۴	۴	۲	۱۰	۴
تعداد	۴۲	۴۶	۳۵	۲۳	۴	۴	۲	۱۰	۴

جدول (۵) تعداد کارتیه ها و گاوهایی که شیر آنها در تست همولیز مثبت بوده است

گروه	تست همولیز مثبت	
	تعداد گاو	تعداد کارتیه
دوز بالا	۹	۱۴
دوز پائین	۹	۱۱
شاهد	۸	۱۳

مایست، پرپیونی باکتریوم، پسودوموناس، کورینه باکتریوم، لاکتو باسیلوس ها، کلوستریدیوم و کلی فرمها بودند. قارچها از انواع نوکاردیا، کاندیدا و مخمرها از انواع، ساکارومایسس و رودتورولا تشکیل شده بودند.

مقایسه آماری سلولهای سوماتیک شیر سه گروه قبل از تزریق با استفاده از آزمون آنالیز واریانس تفاوت معنی داری را نشان نمی داد ( $p = 0.29$ ) در حالی که شمارش سلولی شیر بعد از تزریق در سه گروه دارای تفاوت معنی داری بود ( $p = 0.031$ ). با استفاده از آزمون دانکن مشخص شد که شیر بعد از تزریق در گروه دوز بالا با دو گروه دیگر از نظر سلولهای سوماتیک متفاوت بوده ولی گروه های دوز پائین و شاهد تفاوتی نداشتند.

سه گانه آلودگی به باکتری های گرم مثبت داشته و از نظر تعداد گاو و کارتیه آلوده هر سه گروه مشابهت دارند.

بر اساس جدول فوق تفاوت زیادی از لحاظ پراکنش آلودگی پستان ها به باکتری های مختلف وجود ندارد.

تعداد کارتیه های مثبت از نظر تست همولیز درجات ۱ الی ۴ در سه گروه متفاوت بوده است اما این تفاوت معنی دار نبوده ( $P > 0.05$ ) جداول بالا در مجموع نشان دهنده وجود آلودگی عمومی در پستان گاو ها می باشد. نتیجه کشت میکروبی پنج روز قبل از تزریق نشان می دهد که نمونه های شیر دچار آلودگی با طیف وسیعی از باکتریها و قارچها و مخمرها بوده است. باکتریهای جدا شده از انواع استافیلوکوک، استرپتوکوک، اشریشیاکلی، اکتینو

گروه دوز بالا را به عاملی غیر از درمان با پنی سیلین نمی توان نسبت داد.

با توجه به جدول شماره ۹ متوسط بار میکروبی و سلولهای سوماتیک در گروه دوز پائین از ابتدا زیاد تر از دو گروه دیگر بود که با توجه به واریانس زیاد نمونه ها این تفاوت معنی دار نبود، ولی چون گروه ها بطور تصادفی انتخاب شده بودند امکان جابجائی وجود نداشت و در هر حال میزان بار میکروبی و سلولهای سوماتیک در گروه دوز بالا بعد از درمان کمتر شده و تولید شیر نیز افزایش داشته. این در حالی است که در گروه دوز پائین میانگین های فوق تغییری نشان نداده و در گروه شاهد بار میکروبی و سلولهای سوماتیک افزایش و میانگین تولید شیر کاهش نشان می داد.

در ابتدا گاوهای مورد استفاده در این طرح ظاهراً دچار ورم پستان بالینی نبودند ولی با استفاده از SCC، CMT و TBC وجود ورم پستان تحت بالینی در گله مشخص گردید. بعد از درمان با پنسیلین و رکورد گیری در نگاه اول به نظر میرسید که کاهش تولید شیر در گروه های دوز پائین و شاهد به سیر نزولی طبیعی شیر در دوره شیر دهی مرتبط است اما بررسی داده ها مشخص کرد که با وجود شرایط یکسان محیطی برای گاوهای هر سه گروه، گاوهای تیمار دوز بالا، بعد از تزریق پنی سیلین تولید شیر بیشتری داشتند. درمان آنتی بیوتیکی گاو هائی که دچار این نوع ورم پستان می باشند از نظر مدیریتی و اقتصادی مقرون به صرفه نیست زیرا باعث ظهور دارو در شیر شده و ضمناً هزینه بردار است (۱۷)، ولی، می توان با اعمال مدیریت صحیح مساله ورم پستان تحت بالینی را کنترل کرد (۱۸). مدیریت ورم پستان تحت بالینی می تواند شامل تحت نظر داشتن گاوهای مشکوک و درمان صحیح

مقایسه بار میکروبی نمونه های شیر گرفته شده در هر گروه پنج روز قبل و ده روز بعد از تزریق آنتی بیوتیک با استفاده از آزمون Paired Student's t-test) مشخص کرد که تزریق پنی سیلین در گروه دوز بالا تاثیر مثبتی در پائین آوردن بار میکروبی داشته است ( $p = 0.05$ ). در گروه دوز پائین با اینکه بار میکروبی بیشتر شده این افزایش معنی دار نبود ( $p = 0.332$ ) در حالی که در مورد گاوهای شاهد افزایش بار میکروبی معنی دار بود ( $p = 0.23$ ).

در اورام پستان تحت درمانگاهی شیر تولید شده و همچنین پستان گاو طبیعی به نظر می رسند اما میزان تولید شیر کاهش یافته، تعداد باکتری ها و سلولهای سوماتیک افزایش می یابند و کیفیت شیر نیز تغییر می کند. کاهش تولید و کیفیت شیر با تعداد میکروبیها و سلولهای سوماتیک در آن ارتباط مستقیم دارد (۱۴ و ۸).

در پستان های طبیعی معمولاً تعداد میکروبیها در میلی لیتر شیر بسیار کم و در حد ۱۰۰۰ باکتری در میلی لیتر می باشد (۹). متداول ترین میکروبیها در شیر گاوهای دچار ورم پستان از نوع استرپتوکوکوس آگالاکتیه و یوربریس می باشند و استافیلوکوکوس اورئوس کمتر باعث افزایش بار میکروبی شیر تازه از پستان می گردد (۹). هماهنگی نزدیکی بین شمارش سلولهای سوماتیک و تعداد باکتریهای مولد ورم پستان مخصوصاً استرپتوکوک ها می باشد (۱۰ و ۸). از نتایج این طرح میتوان به وجود ورم پستان تحت بالینی در این گله پی برد. در آزمایشات میکروبی فقط از یک کارتیبه از گاوهای گروه شاهد و سه کارتیبه از گاوهای گروه دوز پائین میکروبی جدا نشد ولی تمامی دیگر کارتیبه ها دارای بار میکروبی بوده اند. اینکه کاهش تولید شیر ده روز بعد از پایان تزریقات در گروه دوز پائین و شاهد تماماً مربوط به وجود ورم پستان تحت بالینی بوده مشخص نیست لیکن افزایش تولید شیر در

جدول (۴) آلودگی با میکروارگانیزم ها صرف نظر از گروه به تفکیک کارتیبه های جلو و عقب

گروه	دوز بالا		دوز پائین		شاهد
	SCC	Total	SCC	Total	
متوسط بار میکروبی و سلولهای سوماتیک	۷۵۶۱۰۰	۱۰۴۴۰۰	۱۳۵۲۵۰۰	۶۳۷۰۰	۱۰۴۵۰۰۰
پیش از درمان	۴۴۲۸	۲۹۹۶۹۱	۲۹۹۶۵۴	۵۹۶۴	۱۷۷۲۵۲
± SEM	۱۵۰۵۵	۱۲۸۲۲۲	۱۱۱۵۰۰	۱۲۵۴۰۰۰	۸۸۳۵۰۰
پس از درمان	۱۲۶۲	۱۶۳۴۸	۹۷۲۴۸	۷۶۹۲	۸۱۲۱۶
± SEM	۱۰۵۰	۱۰۵۰	۰/۳۳۲	۰/۱۴۱	۰/۲۰۵
مقدار عدد P	۰/۰۵۰	۰/۰۵۰	۰/۳۳۲	۰/۱۴۱	۰/۲۰۵

درمان با این آنتی بیوتیک باید با دوز زیاد صورت می گرفت بطوریکه درمان با دوز پائین (۲۲۰۰۰ واحد در گیلوگرم وزن زنده) اثر زیادی نشان نداد. البته با توجه به اینکه پائینی های گرم منفی نیز از نمونه ها جدا شده بود ممکن است که اگر از آنتی بیوتیک هائی با طیف وسیع تر استفاده می شد نتیجه بهتری بدست می آمد (۱۶ و ۶). بسیاری اعتقاد دارند که نباید در درمان اورام تحت بالینی از آنتی بیوتیک ها استفاده شود و راههائی دیگر را پیشنهاد می کنند که شامل بهبود بستر، بهداشت دامداری و دام مخصوصا بهداشت پستان ها مثل چیدن موهای بلند دم و پستانها (۱۶ و ۱۸)، افزایش دفعات تخلیه پستان (۸) و غیره می شود. باید در نظر داشت که افزایش اورام تحت بالینی سبب افزایش تعداد باکتریهای موجود در شیر تحویلی به کارخانه شده که دامدار از این راه هم دچار ضرر شده و علاوه بر عدم دریافت جایزه، جریمه نیز پرداخت می کند (۱۷)

#### سپاسگزاری

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد که سهم عمده ای از هزینه های این طرح را تقبل کرده اند تشکر کرده همچنین از پرسنل آزمایشگاه شیر جهاد خراسان و شخص آقای مهندس پچاز که انجام شمارش سلولی را به عهده گرفتند به این وسیله تشکر و قدردانی می گردد.

آنها در دوران خشکی باشد (۱۵ و ۷). در مطالعات Gonzalez (۹) در مورد لزوم درمان آنتی بیوتیکی این نوع گاو ها در زمان های مختلف تاکید گردیده است.

پنی سیلین پروکائین G یکی از قدیمی ترین و مؤثرترین آنتی بیوتیک هائی است که در حال حاضر در درمان بیماریهای میکروبی مخصوصاً میکروبهای گرم مثبت کار برد دارد. این آنتی بیوتیک از راه های تزریق عضلانی، موضعی، جلدی، داخل پستانی و غیره، به تنهائی و یا همراه با بسیاری از آنتی بیوتیکها، سولفونامیدها و یا داروهای ضد قارچی در دامپزشکی مورد مصرف دارد (۱۲ و ۱۳ و ۱۵). یکی از مزایای پنی سیلین پروکائین قابلیت استفاده از این آنتی بیوتیک به همراه دیگر آنتی بیوتیکها می باشد (۱۲ و ۱۳) اما در مقابل، پائین بودن قابلیت نفوذ آن در بافتهای پستان یکی از امتیازات منفی تزریق پنی سیلین است (۱۵ و ۶). البته در تحقیقات مفید بودن آن در درمان گاو خشک به اثبات رسیده است (۱۰ و ۷). این دارو و مشتقات آن در درمان اورام پستان ناشی از استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیسگالاکتیه، استرپتوکوکوس یوبریس، کورینه باکتریوم پیورنس و بعضی از باکتریهای گروه اتروکوک بصورت تزریقی عضلانی (۱۵ و ۱۶) و داخل پستانی کاربرد دارد (۱۰). در طرح فوق نشان داده شد که ورم پستان تحت بالینی که در این گله وجود داشت عمدتاً توسط باکتریهای ایجاد شده بود که نسبت به پنی سیلین حساس بوده و

#### منابع

۱. دبانی دردشتی، ا. (۱۳۷۹). مطالعه کیفیت شیرها تحویلی به کارخانه صنایع شیر ایران بر اساس اندازه گیری شاخص های مختلف شیمیائی و شمارش کلی باکتری ها. انتشارات دانشگاه تهران- مجله دانشکده دامپزشکی دوره ۵۵ شماره ۳ صفحه ۵۹-۶۲
۲. قره گزلو، ف.، م. جگانی، ا. عرفان منش. (۱۳۸۰). ارزیابی میزان بهداشت شیر و التهاب پستانی با استفاده از روشهای باکتریولوژیک و شمارش سلولهای سوماتیک در گاودارهای صنعتی شهرستان کرج. مقالات نخستین همایش تخصصی صنعت شیر و فرآورده های آن. صفحه ۹۶-۱۰۵.
۳. کسروی، ر.، م. بلورچی. (۱۳۸۱). تأثیر درمان ضربتی استرپتوکوک آگالاکتیه با سفنیوفور سدیم بر تعداد سلولهای سوماتیک شیر مخزن کل و تولید شیر در یک گله شیری در استان تهران. سومین گرد همایی دامپزشکان علوم بالینی ایران. آبان ۱۳۸۱. خلاصه مقالات صفحه ۱۲۲.
۴. گورانی نژاد، س. م.، قربانبور نجف آبادی، و. ا. پ سلاطی. (۱۳۸۱). دو مورد ورم پستان تحت بالینی ناشی از *Pseudomonas aeruginosa* در گاو. مجله علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، سال پنجم، شماره هشتم صفحه ۱۰۱-۱۰۵.

5. Bolourchi, M., P. Hovareshti, and A. H. Tabatabayi. 1995. Comparison of the effects of local and systemic dry cow therapy for staphylococcal mastitis. *Preventive Veterinary Medicine* 25:63-67
6. Bradford, P. S. 1996. *Large Animal Internal Medicine*. Second edition Copyright. Mosby-Year Book Inc. pp. 1191-1193
7. Erskine, R. J., J. H. Kirk, J. W. Tyler and, F. J. DeGraves. 1993. Advances in the therapy for mastitis. *The Veterinary Clinics of North America*. In updates on Bovine Mastitis. Vol. 9, Number 3. Nov. 1993. W. B. Saunders Company.
8. Galton, D. M., R. W. L. G. Petersson, W. G. Merrill, D. K. Bandler, and D. E. Shuster. 1984. Effects of premilking udder preparation on bacterial counts, sediment and iodine residue in milk. *J. Dairy Sci.* 67:2580-2587
9. Gonzalez, R. N., D. E. Jasper, R. B. Busnell, and T. B. Farber. 1986. Relationship between mastitis pathogen numbers in bulk tank milk and bovine udder infections. *J. Amer. Vet. Med. Assoc.* 189:442-448
10. Hillerton J. E. and Kliem, E. Kirsty 2002. Effective Treatment of *Streptococcus uberis* Clinical Mastitis to Minimize the Use of Antibiotics. *J. Dairy Sci.* 85:1009-1014.
11. Kelly, A. L., D. Tiernan, C. O. Sullivan, , and P. Joyce. 2000. Correlation Between Bovine Milk Somatic Cell Count and Polymorphonuclear Leukocyte Level for Samples of Bulk Milk and Milk from Individual Cows. *J. Dairy Sci.* 83:300-304
12. McKellar, Q. A. 1991. Intramammary treatment of mastitis in cows. *In Practice*. Nov. 244-249
13. Radostis, O. M., C. C. Gay, D. C. Blood, and K. W. Hinchcliff. 2000. *Veterinary Medicine. A Text Book of the Diseases of Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses*. 9th Edition. W. B. Saunders Company LTD. pp. 618-675
14. Ruegg, P. L. and D. J. Reinemann. 2002. *Milk Quality and Mastitis Tests*. University of Wisconsin Press, Madison
15. Soback, S., G. Ziv, M. Winkler, And A., aran. 1990. Systemic dry cow therapy- a preliminary report. *J. Dairy Sci.* 73:661-666
16. Tyler, J. W., R. C. Wilson, and P. Dowling. 1992. Treatment of subclinical mastitis. *Vet. Clin. North Am.* 8:17-35
17. Van. Schaik. G., M. Lotem, and Y. H. Schukken. 2002. Trends in Somatic Cell Counts, Bacterial Counts and Antibiotic Residue Violations in New Yourk State During 1999-2000. *J. Dairy Sci.* 85:782-789.
18. Wagner, A. M. and P. L. Ruegg .2001. The Effect of Manual Forestrapping on Milking Performance of Holstein Dairy Cows. *J. Dairy Sci.* 85:804-809

**study on the prevalence of sub-clinical mastitis in a dairy farm using California mastitis test, somatic cell count and total bacterial count and the effect of treatment with penicillin procaine G on the level of milk production**

A.H. Fallah rad- M. Mohsenzadeh<sup>1</sup>

**Abstract**

As part of an experiment to find out the rate of sub-clinical mastitis in some of the industrial dairy farms in the suburbs of the city of Mashhad, milk samples from 2000 cows were tested by California Mastitis Test (CMT), Somatic Cell Count (SCC) and Total Bacterial Count (TBC) procedures. The more contaminated farms were determined. In one the farms experiencing high SCC ( $\geq 8 \times 10^5$ ), and TBC ( $\geq 15 \times 10^4$ ) in the bulk tank milk, the results of CMT in all of the quarters showed an average higher than one plus. The aim of the present study was to find the prevalence of sub-clinical mastitis and effects of treatment with penicillin procaine G on SCC, TBC and the level of milk production of cows, thirty Holstein cows in their first to sixth parity were equally assigned into 3 groups of high dose, low dose and control groups. Milk production level was recorded in a 10 day period, before injections were started. Five days before injections, CMT was performed in all the cows and two milk samples were taken aseptically for SCC, TBC and bacterial culture. In the high dose group, the cows received penicillin procaine G at the rate of 40000 IU/Kg BW, in the low dose group cows had 22000 IU/Kg BW and in the control group the cows received injections of aseptic normal saline solution two times a day 12 hrs apart and for three consecutive days. All the injections were intramuscular and with the same volume. Milk production level was recorded 10 days after end of injections. Five days after the last injections, two milk samples were taken again, to do the same tests as before injections. Level of milk production was not different in the three groups before the experiment was started ( $P > 0.05$ ). Comparison of the SCC, TBC, number of contaminated cows and quarters of the three groups showed no significant difference in the samples which were taken 5 days before the injection ( $P > 0.05$ ). From the initial samples, 100% of the cows and 73% of the quarters, streptococci, 97% of the cows and 54% of the quarters, Staphilococci, 33.3% of the cows and 10% of the quarters, Coliforms were recovered. The above data with the CMT results confirmed the presence of sub-clinical mastitis in the herd. Milk production level in the high dose group increased but in the two other groups reduced. Using Duncan test, the effect of the three treatments on the level of milk production showed significant difference ( $P < 0.05$ ). It was shown that low dose and control had similar effects on the level of milk production and the high dose treatment increased milk production. Comparison of the total bacterial count of the milk samples taken 5 days before and after last injections of penicillin showed a reduction in the high dose group but not in the other two groups ( $P = 0.05$ ). In conclusion, the reason for the increase in milk production in the high dose group after the injections was due to the presence of sub-clinical mastitis before the injections, mostly with Gram positive bacteria which were sensitive to penicillin procaine treatment. Results of this experiment show the importance of monitoring of sub-clinical mastitis by using CMT, total bacterial count and somatic cell count in the milking dairy herds.

**Keywords:** Sub-clinical mastitis, CMT, SCC, TBC, penicillin, milk production.

1- Contribution from collage of vet. Med. Ferdowsi University Mashhad.