

بخش ۴

میکروبیهای ایجاد کننده ورم پستان

(MASTITIS ORGANISMS)

در این بخش در مورد انواع ورم پستان، میکروب‌های دخیل و راه‌های کنترل آن بحث می‌گردد. بعضی از بیماریها مثل تب برفکی را می‌توان با رعایت سیاست تست و کشتار (حذف) و رعایت بیوسکیوریتی شدید به طور کامل از گاو‌داری حذف کرد. بعضی از بیماریها از جمله بیماری عفونی شاربن علامتی را می‌توان با انجام واکسیناسیون، به طور کامل کنترل نمود. ولی ورم پستان متفاوت است. ورم پستان هرگز ریشه کن نمی‌شود چون باکتریهای بی شماری می‌توانند باعث ورم پستان شوند، ضمن اینکه بسیاری از این باکتریها همیشه در محیط زندگی گاو حضور دارند. درمان ورم پستان با آنتی‌بیوتیکها نیز با کارایی مختلفی همراه است و به دلایل مختلف، تاکنون واکسیناسیون تاثیر کمی در کاهش موارد ورم پستان داشته است. ولی در هر حال بایستی ورم پستان کنترل شود، با توجه به افزایش سرعت خروج شیر از پستان، میزان حساسیت به ورم پستان افزایش می‌یابد، به همین دلیل به طور فزاینده‌ای در آینده، کنترل ورم پستان اهمیت بیشتری پیدا خواهد کرد (بخش سوم).

تعریف ورم پستان

- معمولا ورم پستان به روش زیر طبقه بندی می‌شود:
- ۱- ورم پستان بالینی (Clinical mastitis): یک عفونت پستانی که پستان سفت، متورم همراه با لخته‌هایی در شیر و..... بروز می‌کند.
 - ۲- ورم پستان تحت بالینی (Subclinical mastitis): یک عفونت پستانی که البته در ظاهر پستان تغییری دیده نمی‌شود.
- ورم پستان‌های بالینی را می‌توان به دو گروه طبقه بندی کرد:
- الف - ورم پستان حاد (Acute mastitis): شروع بیماری ناگهانی و علائم آن شدید (severe) است.
- ب- ورم پستان مزمن (Chronic mastitis): به مدت طولانی ادامه دارد اما شدید نیست.

ایجاد یک عفونت جدید

- برای اینکه بتوانیم اهمیت فاکتورهای مختلف کنترل ورم پستان را که بعدا توضیح می‌دهیم خوب درک کنیم، در ابتدا بایستی چگونگی و اینکه چه موقع یک مورد ورم پستان جدید ایجاد می‌گردد را خوب بفهمیم. این عوامل تحت عناوین زیر مورد بحث قرار خواهد گرفت:
- ۱- ورود یک مخزن (reservoir) عفونت ۲- انتقال عفونت از یک مخزن به نوک سرپستانک ۳- نفوذ به کانال سرپستانک ۴- پاسخ سیستم ایمنی میزبان ۵- عفونتهای دوره خشکی به نسبت عفونتهای دوره شیردهی.
- فاکتورهای مرتبط به خود گاو مانند فاکتورهای مربوط به مکانیک سرپستانک و مکانیسمهای سیستم دفاعی پستان در بخش قبلی توضیح داده شد.

ورود یک مخزن عفونت

بعضی از باکتریهای عامل ورم پستان همیشه در محیط گاوداری حضور دارند و بنابراین به آنها عوامل محیطی (environmental organisms) گفته می‌شود. برای این باکتریها “ورود یک مخزن” فقط به معنی تغییر شرایط محیطی است که به افزایش چالش عفونت در نوک سرپستانک منجر می‌شود. مطالعات زیادی نشان داده است که سرپستانکهای آلوده به باکتریهای ایجاد کننده ورم پستان، امکان ابتلای بیشتری به تورم پستان محیطی دارند.

عفونتهای دیگری (مثل استرپتوکوکوس آگالاکتیه) به طور طبیعی در داخل پستان گاوهای مبتلا وجود دارد و “ورود یک مخزن” به معنی خرید یک گاو مبتلا و یا احتمالاً زایش یک گاو مبتلا در گله میتواند باشد. در این حالت، عفونت حالت مسری (contagious) دارد، چون از یک گاو به گاو دیگر منتقل می‌شود.

انتقال عفونت از یک مخزن به نوک سرپستانک

این اتفاق به طور کلی در بین فواصل شیردوشی گاوها برای میکروبیهای محیطی رخ می‌دهد. چون در مرحله اول ایجاد یک عفونت جدید، بایستی انتقال باکتری از محیط به نوک سرپستانک انجام شود. ولی برای میکروبهای مسری، انتقال در حین شیردوشی رخ می‌دهد و یک ناقل (vector) باید باکتری را از یک گاو مبتلا به یک گاوی که عفونتی ندارد (و یا از یک کارتیه عفونی به یک کارتیه غیر عفونی) منتقل کند. عوامل ناقل می‌توانند دست کارگر شیردوش، پارچه مخصوص خشک کردن پستان (اگر یک پارچه مشترک برای خشک کردن بیش از یک گاو استفاده شود) و یا لاینرهای دستگاه شیردوش باشند.

نفوذ به کانال سرپستانک

معمولاً دو راه برای ورود و نفوذ باکتری به کانال سرپستانک وجود دارد:

۱- رشد و تکثیر در داخل کانال سرپستانک: بعد از انتقال میکروبیها به نوک سرپستانک، میکروبیهای مسری بخصوص استافیلوکوکوس اتوروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه که فاکتورهای چسبندگی قوی دارند، با ایجاد اولین کلنی و تکثیر باکتری در نوک سرپستانک، حمله خود را به پستان شروع می‌کنند. بعد از اینکه آنها در نوک سرپستانک مستقر شدند، باکتریها به تعداد بسیار زیادی در کانال سرپستانک رشد می‌کنند و بعد به داخل سینوس سرپستانک می‌روند.

۲- رانده شدن باکتریها در داخل کانال: پاتوژنها بخصوص باکتریهای محیطی مثل اشیریشیا کولی دارای خاصیت چسبندگی نیستند، بنابراین اغلب با فشار به داخل کانال سرپستانک رانده می‌شوند که معمولاً طی جریان برگشت شیر که در حالت ایجاد ضربات به نوک سرپستانک (teat-end impacts) رخ می‌دهد وارد کانال سرپستانک می‌شوند (بخش پنجم). استثنای این حالت عفونتهایی است که در دوران خشکی گاو ایجاد می‌شود.

اختلاف بین این دو گروه میکروبیها در جدول ۱-۴ نشان داده شده است. در یک بررسی در یک آلودگی تجربی، نوک سرپستانک تعدادی گاو به یک محیط کشت حاوی دو باکتری استافیلوکوکوس اتوروس و اشیریشیا کولی آلوده گردید. بعد با استفاده از سواب، روزانه نمونه کشت از نوک سرپستانک این گاوها اخذ شده و درصد سوابهای مثبت برای هر دو میکروب در هر روز ثبت گردید.

درصد زیادی از گاوهای آلوده شده به باکتری اشیریشیا کولی در روزهای ۱ و ۲ از عفونت بهبود یافته و این میکروب در روز ۴ بعد از آلودگی کلاً از پستان حذف گردید. ولی باکتری استافیلوکوک به دلیل تشکیل کلنی و افزایش تعداد کلنی‌ها در طی گذشت زمان، تعداد آنها به تدریج افزایش یافت. در این آزمایش سرپستانکها بعد از شیردوشی ضدعفونی نشدند. اگر ضدعفونی بعد از دوشش (postdip) انجام شده بود، میزان عفونت میکروب استافیلوکوک بسیار کمتر بود.

جدول ۱-۴ - مقایسه بین بیماریزایی عوامل مسری و محیطی بدنبال ایجاد عفونت تجربی. باکتری استافیلوکوکوس اتوروس به عنوان یک باکتری مسری می تواند یک کلنی میکروب را در نوک سرپستانک تشکیل دهد، بنابراین یک ریسک مداوم عفونت را نشان می دهد. در صورتی که باکتری اشیریشیا کولی یک عفونت با مدت زمان بسیار کوتاه تری را ایجاد می کند.

درصد سواب های مثبت در هر روز	روز اول	روز دوم	روز پنجم	روز دهم	درصد کارته های عفونی
استافیلوکوکوس اتوروس	۵۰	۶۸	۷۵	۷۳	۴
اشیریشیا کولی	۹۳	۳۴	۱۰	۰	۰

یکی از دلایل اختلاف نفوذ میکروبها به کانال سرپستانک، اختلاف قدرت و توانایی ارثی و ذاتی آنها در چسبیدن به سطوح پوششی پستان است. میکروبهای مسری مثل استافیلوکوکوس اتوروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه دارای خاصیت چسبندگی قوی هستند. آنها به سطوح می چسبند و می توانند شرایط مزمی را ایجاد کنند. میکروبهای محیطی مثل اشیریشیا کولی دارای خاصیت چسبندگی نیستند. بنابراین در حین شیردوشی، بیشترین انتقال میکروب به پستان در طی جریان برگشت شیر از طریق کانال سرپستانک رخ می دهد، که اغلب در حالت ایجاد ضربات نوک سرپستانک (teat-end impacts) اتفاق می افتد (بخش پنجم). هرچند عفونتهای جدیدی که در حین دوره خشکی رخ می دهد، قسمت عمده ورم پستان را در گاو تشکیل می دهند. این عفونتها عمدتاً با پاتوژنهایی مثل اشیریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس ارتباط دارد و واضح است که این میکروبها از طریق جریان برگشت شیر به کانال سرپستانک، وارد پستان نشده اند. عفونتهای دوران خشکی در همین بخش به تفصیل بحث می گردد.

اگرچه تاکید شده است که میکروبهای مسری در کانال سرپستانک رشد می کنند و میکروبهای محیطی به داخل سرپستانک رانده می شوند ولی باید ذکر کرد که این تمایز به هیچ وجه دقیق نیست. کاملاً واضح است که جریان برگشت شیر به انتقال پاتوژنهای مسری از طریق کانال سرپستانک هم کمک می کند، ولی در مواقعی (مثل تماس با تعداد زیاد میکروب در نوک سرپستانک بلافاصله بعد از شیر دوشی)، باکتری اشیریشیا کولی می تواند بدون کمک جریان برگشت شیر به داخل سرپستانک نفوذ کند. بعلاوه اینکه باکتری استرپتوکوکوس یوبریس که هم خواص میکروبهای مسری و هم خواص میکروبهای محیطی را دارد، می تواند از هر دو روش وارد پستان شود.

پاسخ میزبان

حتی وقتی باکتری به داخل کانال سرپستانک نفوذ کرد و وارد پستان هم شد، دلیل بر ایجاد حتمی عفونت پستانی نیست. راههای مختلفی وجود دارد که پستان می تواند بر این عفونت غلبه کند و البته توانایی و کارایی این مکانیسمها در بین گاوها بسیار متفاوت است که در بخش سوم مورد بحث قرار گرفت. ضمناً در پاسخ میزبان به میکروبهای مختلف بخصوص بین دوره شیردهی و دوره خشکی نیز تفاوت وجود دارد.

اختلاف عفونتهای دوره خشکی و دوره شیردهی

پاراگراف قبلی بیان گر این مطلب است که عفونتهای جدید در درجه اول در دوره شیردهی رخ می دهد. ولی هم اکنون به خوبی می دانیم که بسیاری از عفونتهای جدید در حین دوره خشکی رخ می دهند. توجیه این مطلب بدین صورت است که این عفونتها اغلب به صورت نهفته و خاموش (dormant) در پستان باقی می مانند و تا ۳ یا ۴ ماه اول دوره شیردهی خود را به صورت ورم پستان بالینی نشان نمی دهند. مکانیسم دقیق آنها در ورود به کانال سرپستانک مشخص نیست، اما قاعدتاً بایستی با رشد تدریجی انجام شود. این مورد بعداً در همین بخش بحث می شود.

استراتژی و خط مشی کنترل ورم پستان

بعد از درک چگونگی ایجاد موارد جدید ورم پستان، این امکان فراهم می‌شود که استراتژی خط مشی کنترل ورم پستان را تعریف کنیم. این استراتژی را می‌توان به سه زیر بخش تقسیم نمود.

۱- کاهش مخازن عفونت: این بدین معنی است که تا حد امکان محیط را تمیز نگه داریم و تعداد گاوهای که ناقل میکروبهای مسری هستند (میکروبهای مسری را با خود دارند) را به حداقل برسانیم، مثلاً با انجام درمان گاوهای خشک (dry cow therapy)، ضدعفونی سرپستانکها بعد از دوشش (teat Dip) و حذف گاوها (culling).

۲- کنترل انتشار میکروب توسط وسایل (vectors): این برنامه بخصوص برای میکروبهای مسری اهمیت دارد که در بخش ششم مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۳- بهینه سازی سیستم‌های دفاعی میزبان: این موضوع در بخش سوم مورد بحث قرار گرفت. نگهداری و حفظ سلامت سرپستانک و نوک سرپستانکها در شرایط مناسب یک فاکتور حیاتی برای کنترل ورم پستان محسوب می‌گردد که خود متاثر از عملکرد دستگاه شیردوش می‌باشد که در بخش پنجم مورد بحث قرار می‌گیرد.

میکروبهای مسری و محیطی

هدف از این کتاب این نیست که در مورد جزئیات هر میکروبی که می‌تواند باعث ورم پستان بشود بحث گردد. چون بیش از ۲۰۰ میکروب مختلف در منابع علمی به عنوان عامل ورم پستان گاو ثبت گردیده است. آنها را می‌توان به دو گروه زیر تقسیم بندی کرد، مواردی که پررنگ تایپ شده، نشان دهنده اهمیت بیشتر عامل ورم پستان و اینکه عمده ورم پستانها توسط آنها ایجاد می‌گردد.

عوامل مسری

Staphylococcus aureus

Streptococcus agalactiae

Coagulase-negative staphylococci

Streptococcus dysgalactiae

Corynebacterium bovis

Mycoplasma

عوامل محیطی

Streptococcus uberis

Coliforms:

E. coli

Citrobacter

Enterobacter

Klebsiella

Pseudomonas aeruginosa

Bacillus cereus

Bacillus licheniformis

Pasteurella

Streptococcus faecalis

Fungi

Yeasts

تعداد دیگری از عوامل ورم پستان هم وجود دارد که عمومیت کمتری در ایجاد ورم پستان دارند و خیلی مشکل است که آنها را در گروه‌های مسری و یا محیطی طبقه بندی نمود. در مورد آنها در آخر همین بخش بحث می‌گردد. اگرچه تعداد بسیار زیادی از میکروب‌ها در ورم پستان می‌توانند دخیل باشند ولی اکثر موارد ورم پستان توسط تعداد کمی از میکروبهای معمول ایجاد می‌گردند. جدول ۲-۴ میزان شیوع عفونت ورم پستان را که توسط میکروبهای مختلف ایجاد می‌گردد، در سالهای ۱۹۶۸، ۱۹۹۵ و ۲۰۰۷ مقایسه نموده است. در این جدول به کاهش زیاد درصد موارد ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس اتیروس در مقایسه با افزایش درصد موارد ورم پستان محیطی (ناشی از اشریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس) توجه نمایید. در حقیقت مجموع شیوع موارد ورم پستان بالینی به طور چشمگیری کاهش یافته است، به طوریکه از ۱۲۱ مورد ورم پستان به ازای ۱۰۰ راس گاو در سال ۱۹۶۸ به ۵۰ مورد ورم پستان به ازای ۱۰۰ راس گاو در سال ۱۹۹۵ و ۴۷ مورد در سال ۲۰۰۷ رسیده است. این کاهش عمدتاً به دلیل تاثیر چشمگیر اقدامات کنترلی مانند ضد عفونی سرپستانک بعد از دوشش (postmilking teat disinfection)، برنامه درمان گاوهای خشک (dry cow therapy) و برنامه حذف (culling) بر ورم پستانهای مسری بوده است.

جدول ۲-۴- نتایج یک بررسی که نشان دهنده کاهش موارد ورم پستان مسری در بین سالهای ۱۹۶۸، ۱۹۹۵ و ۲۰۰۷ همزمان با افزایش متناسب موارد ورم پستانهای محیطی با عوامل اشریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس بوده است را نشان می‌دهد.

درصد موارد ورم پستان بالینی			
نوع	۱۹۶۸	۱۹۹۵	۲۰۰۷
کلی فرمی	۵/۴	۲۶	۱۹/۸
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۳	۰	۰
استافیلوکوکوس اتیروس	۳۷/۵	۱۵/۴	۳/۳
استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه	۲۰/۱	۱۰/۸	۱/۵
استرپتوکوکوس یوبریس	۱۷/۷	۳۲	۲۳/۵
دیگر باکتریها	۱۶/۳	۱۵/۸	۰
عدم رشد	۰	۰	۲۶/۵
تعداد موارد ورم پستان به ازای هر ۱۰۰ گاو در سال	۱۲۱	۵۰	۴۷

اگرچه در این آمار درصد موارد ورم پستان محیطی افزایش یافته است (از ۲۳ درصد در سال ۱۹۶۸ به ۴۳ درصد در سال ۱۹۹۵)، این مهم به دلیل کاهش نسبی موارد عفونت‌های مسری (عوامل استافیلوکوکوس اتیروس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه) بوده است، نه اینکه موارد ورم پستانهای محیطی افزایش یافته باشد. تنها تغییر مهمی که در طی چندین سال گذشته در بریتانیا اتفاق افتاده است، افزایش زیاد موارد عفونت‌های ناشی از باکتری استرپتوکوکوس یوبریس بوده است. چندین سویه از باکتری استرپتوکوکوس و همچنین ترکیبی از آنها با هم وجود دارد که آنها، هم خواص میکروبهای محیطی و هم خواص میکروبهای مسری را دارند. بدین صورت که ممکن است اولین مورد ورم پستان ناشی از عفونت محیطی به خصوص در دوران خشکی رخ داده باشد، اما به دلیل عدم پاسخ مناسب به درمان، بعداً موارد عفونت از یک گاو به گاو دیگر در حین شیردوشی پخش شده باشد.

در بخشهای بعدی توضیح داده خواهد شد که اپیدمیولوژیکی میکروبهای محیطی و مسری تفاوت بسیاری با هم دارند.

اپیدمیولوژی میکروبهای مسری

- ۱- غده پستان و یا پوست سرپستانک مخزن‌های (reservoirs) عفونت هستند.
- ۲- میکروب‌ها از گاو ناقل (carrier) و یا کارتیه گاو ناقل به سرپستانک گاو و یا کارتیه‌های غیرعفونی گاوهای دیگر در حین کار شیردوشی منتقل می‌شوند.
- ۳- کلنی‌های میکروب در نوک سرپستانک تشکیل و با رشد تدریجی، خود را در طی ۱ تا ۳ روز به کانال سرپستانک می‌رسانند.
- ۴- برنامه درمانی گاوهای خشک (Dry cow therapy) (بخش ۱۲) و ضدعفونی بعد از دوشش (بخش ۷) ابزارهای مهم کنترل ورم پستان محیطی هستند.
- ۵- دوران خشکی زمان مهمی برای شروع عفونت‌های جدید نیست.
- ۶- گله‌هایی که دارای موارد شیوع (incidence) بالای عفونت‌های مسری هستند، اغلب دارای شمارش سلولی بالایی می‌باشند، اما بار میکروبی (TBC/Bactoscan) آنها طبیعی است (بخش ۱۰).
- ۷- گله‌هایی که فقط مشکل عفونت‌های مسری دارند، به طور مشخص دارای شمارش سلولی بالا هستند اما اغلب شیوع ورم پستان بالینی کمی دارند.

اپیدمیولوژی میکروبهای محیطی

- ۱- محیط مخزن عفونت است.
 - ۲- میکروبها در بین فواصل شیردوشی از مخزن به سرپستانکها منتقل می‌شوند.
 - ۳- نفوذ میکروبها به کانال سرپستانک با راندن آنها به داخل کانال از طریق جریان برعکس شیر رخ می‌دهد.
 - ۴- برنامه درمان گاوهای خشک (Dry cow therapy) برای حذف عفونت‌های کلی فرمی موجود، از ارزش کمی برخوردار است. چون عفونت‌های محیطی به صورت تحت بالینی باقی نمی‌مانند، لذا نمی‌توانند از یک دوره شیردهی به دوره بعدی شیردهی منتقل شوند.
 - ۵- بسیاری از عفونت‌های جدید در حین دوران خشکی رخ می‌دهد. به همین دلیل درمان گاوهای خشک و استفاده از پلمپ داخلی سرپستانک (internal teat seals) از اقدامات مهم پیشگیری محسوب می‌گردد.
 - ۶- ضد عفونی سرپستانک قبل از دوشش (Premilking teat disinfection) در کنترل آن بسیار مهم بوده ولی ضدعفونی بعد از دوشش برای آنها از اهمیت کمی برخوردار است.
 - ۷- گله‌هایی که دارای شیوع (incidence) بالای عفونت‌های محیطی هستند، ممکن است شمارش سلولی شیر آنها در حد قابل قبول باشد، اما میزان بار میکروبی بالا (TBC/Bactoscan) و موارد ورم پستان بالینی زیادی دارند.
- اختلاف اپیدمیولوژیکی میکروبهای مسری و محیطی در جدول شماره ۳-۴ خلاصه شده است.

جدول ۳-۴ - خلاصه‌ای از اختلافات مهم میکروب‌های مسری و محیطی. محدوده اختلاف این دو گروه همیشه دقیق مشخص نیست.

ورم پستان	مسری	محیطی
منبع عفونت	پستان و سرپستانکها	محیط آلوده
انتقال عفونت به پستان	در حین شیردوشی	بین دفعات شیردوشی و در زمان خشکی
ورم پستان بالینی	اکثر موارد تحت بالینی هستند	اکثر موارد بالینی هستند (فقط استرپتوکوکوس یوبریس می‌تواند تحت بالینی است)
	ضد عفونی سرپستانکها بعد از دوشش	رعایت بهداشت محیط
	درمان در زمان خشکی	ضد عفونی سرپستانکها قبل از دوشش
کنترل بوسیله	رعایت بهداشت شیردوشی	استفاده از پلمپهای سرپستانک در زمان خشک کردن گاو
	حذف	

میکروبهای اختصاصی مولد ورم پستان

در این بخش توضیح مختصری در مورد میکروبهای مهم عامل ورم پستان و مشخصات آنها بر روی محیط کشت و نوع ورم پستانی که ایجاد می‌کنند، ارائه می‌شود. اما به هیچ وجه قصد نداریم که یک توضیح مقایسه‌ای برای باکتری شناسی عوامل ورم پستان داشته باشیم.

بایستی توجه داشت که با قطعیت نمی‌توان فقط از روی علائم بالینی، نوع میکروب عامل ورم پستان را تشخیص دهیم. ولی تعداد کمی علائم کلاسیک به عنوان راهنما هستند که می‌توانند این میکروبها را پیشنهاد بدهند. برای مثال ترشحات آبکی مشابه سرم در اثر عفونت حاد ناشی از اشیریشیا کولی از پستان ترشح می‌شود، اما این به هیچ وجه قطعیت ندارد. باکتری اشیریشیا کولی هم می‌تواند یک ورم پستان خیلی خفیف را ایجاد کند که در یک وعده شیردوشی فقط چند لخته در شیر دیده شود که به طور کلی در شیردوشی بعدی اثری از آن نباشد و پستان کاملاً طبیعی باشد و یا اینکه یک ورم پستان با شمارش سلولی بسیار بالا که مرتب عود می‌کند (recurrent mastitis) را ایجاد نماید. میکروبهایی که در ادامه بحث به تفصیل توضیح داده خواهند شد عبارتند از: میکروبهای مسری نظیر: استافیلوکوکوس ائوروس، دیگر استافیلوکوک‌ها، استرپتوکوکوس آگالاکتیه، استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه و مایکوپلاسما و میکروبهای محیطی نظیر: اشیریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس.

استافیلوکوکوس ائوروس

استافیلوکوکوس ائوروس میکروبی کروی شکل، گرم مثبت و همولیتیک (تجزیه کننده خون) که در محیط کشت حاوی خون (blood agar) کلنی (پرگنه) های آن به رنگ زرد کرم و یا سفید مشاهده می‌شود (تصویر ۱-۴).

استافیلوکوکوس ائوروس دارای آنزیم کوآگولاز (coagulase-positive) است (می‌تواند سرم خردگوش را لخته نماید) به همین دلیل گاهی اوقات به آن استافیلوکوک کوآگولاز مثبت اطلاق می‌شود. اگرچه بعضی از کلنی‌های استافیلوکوکوس ائوروس، کوآگولاز مثبت نیستند (جزئیات روشهای کشت در ادامه همین بخش بحث می‌گردد).

مخزن اولیه استافیلوکوکوس ائوروس در داخل غده پستان است. استافیلوکوک‌ها به مشکل بودن درمان معروفند و اگر زمانی یک عفونت از آنها ایجاد گردید، ریشه کن سازی آنها بسیار سخت است. جدول ۴-۴ نشان می‌دهد که درمان موارد بالینی ورم پستان استافیلوکوکی با داروی کلوکساسیلین (cloxacillin) فقط با ۲۵ درصد موفقیت و موارد تحت بالینی نیز فقط با ۴۰ درصد موفقیت همراه بوده است. اما درمان مراحل اولیه عفونت در تلیسه‌ها بایستی با نتایج بهتری همراه باشد، اگرچه در مقابل موارد مزمن بیماری در گاوهای مسن

ممکن است با میزان درمان کمی در حد ۱۰ درصد همراه باشد (درمان باکتریولوژی). این موضوع با تفصیل بیشتر در قسمت درمان در بخش ۱۲ بحث می‌گردد.

جدول ۴-۴ - میزان (درصد) درمان باکتریولوژیکی عفونت‌های داخل پستانی ایجاد شده توسط باکتریهای گرم مثبت، با استفاده از آنتی بیوتیک کلوکساسیلین.

نام میکروب	در طول شیردهی	
	عفونت‌های بالینی	عفونت‌های تحت بالینی
استافیلوکوکوس اترووس	۲۵	۴۰
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۸۵	۹۰ <
استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه	۹۰	۹۰ <
استرپتوکوکوس یوریس	۷۰	۸۵

دلایل این پاسخ ضعیف به درمان به شرح زیر است:

۱- در زمان ایجاد عفونت استافیلوکوک‌ها در داخل پستان، اغلب دیواره‌ای از جنس بافت فیبروزی در اطراف آنها تشکیل می‌شود، لذا نفوذ آنتی بیوتیک‌ها به داخل این عفونت کاهش می‌یابد. در تصویر ۴-۲ گاو مبتلا به عفونت استافیلوکوکی که توده‌های فیبروزی بزرگی از سطح پستی پستان او بیرون زده شده است را به خوبی نشان می‌دهد. در هر میلی لیتر شیر این گاو بیش از ۳ میلیون سلول موجود بود و او از یک ورم پستان عود کننده شدید رنج می‌برد.

۲- استافیلوکوکوس اترووس قادر است در داخل ماکروفاژها، گلبولهای سفید (PMNs) و سلوهای پوششی زنده بماند و از دسترس آنتی بیوتیک‌ها در امان باشد. آنتی بیوتیک‌ها فقط می‌توانند در مایعات داخل بدن جریان داشته باشند، و عمدتاً قادر نیستند که به داخل سلولها نفوذ کنند. دلایل دیگر پاسخ ضعیف آنها به درمان در بخش ۱۲ ارائه خواهد شد.

تصویر ۴-۲ - ورم پستان مزمن استافیلوکوکی - به توده‌های فیبروزی داخل پستان توجه نمایید.



تصویر ۴-۱ - رشد استافیلوکوکها بر روی محیط کشت حاوی خون. هر نقطه سفید کرم رنگ معرف یک کلنی (پرگنه) استافیلوکوکی است که حاوی میلیونها باکتری می‌باشد. وجود حلقه روشن تر اطراف کلنی‌ها نشان دهنده حلقه همولیز (تجزیه خون) می‌باشد.



این دو فاکتور تا حدودی دلیل اختلاف زیاد شمارش سلولی شیر و میزان باکتری دفع شده از گاوهایی که بصورت مزمن به باکتری استافیلوکوکوس اتوروس مبتلا شده‌اند را نشان می‌دهد (جدول ۵-۴). این نتایج به وضوح نشان می‌دهد که اخذ هر گونه تصمیمی از جمله حذف گاوها بر اساس نتایج شمارش سلولی و یا نتایج یک نوبت کشت شیر یک گاو آلوده به استافیلوکوکوس اتوروس، کاری غیر عاقلانه است. نتیجه منفی کشت هم ضرورتاً به معنی این نیست که این گاو عاری از استافیلوکوکوس اتوروس است. این فقط به این معنی است که در روز آزمایش هیچ میکروبی از شیر گاو مذکور جدا نشده است. برعکس به دلیل دفع متناوب و همچنین به دلیل دفع تعداد کم میکروب، فقط حدود یک سوم نمونه‌های شیر اخذ شده از گاوهای مبتلا در کشت شیر مثبت هستند. بعلاوه، پاسخ ضعیف آنها به درمان، تاکید بر اهمیت این موضوع است که شما تمام تلاش خود را به کار ببرید تا گاوها به باکتری استافیلوکوکوس اتوروس مبتلا نشوند. لذا با این توضیح اهمیت بهداشت زیاد و سخت گیرانه در سالن شیر مشخص می‌شود. بنابراین برنامه درمانی گاوهای خشک (استفاده از پماد پستانی در زمان خشک کردن گاوها) یک امر حیاتی است و علی‌رغم اینکه پاسخ به درمان ناامید کننده است (جدول ۴-۴)، ولی حداقل باعث کاهش میزان عفونت در گله می‌شود و یک روش کمکی برای کاهش میزان چالش میکروب با گاوهای غیر عفونی است.

جدول ۵-۴ - تغییرات مشاهده شده در میزان شمارش سلولی و میزان باکتریهای دفع شده از یک پستان مبتلا به عفونت استافیلوکوکوس اتوروس (From Bramley, 1992.)

روز نمونه برداری	تعداد باکتری در هر میلی لیتر شیر	شمارش سلولی (هزار سلول در هر میلی لیتر شیر)
۱	۲,۸۰۰	۸۸۰
۲	۶,۰۰۰	۱۴۴
۴	۷,۰۰۰	۱۰۴
۵	۱۰,۰۰۰	۸۹۶
۱۳	< ۱۰,۰۰۰	۱۵۲
۱۴	۱,۲۰۰	۱,۰۰۰
۱۵	< ۱۰,۰۰۰	۱۶۸

جدول ۶-۴ نشان می‌دهد گاوی که می‌دانیم به استافیلوکوکوس اتوروس مبتلا است، چه تاثیری بر گاوهایی که بعد از این گاو در گله دوشیده می‌شوند دارد. در این تحقیق گاوهای شاهد قبلاً تست شده بودند و مشخص شده بود که پوست سرپستانک آنها عاری از باکتری استافیلوکوکوس اتوروس است. توجه کنید که چگونه با هر بار دستکاری سرپستانک‌ها میزان آلودگی افزایش می‌یابد و حتی با رعایت بهداشت زیاد و سختگیرانه (استفاده از دستکش، افزودن ماده ضد عفونی به آب شستشوی پستان و استفاده از دستمال کاغذی برای خشک کردن پستانها)، باز هم آلودگی رخ می‌دهد.

بررسی‌ها نشان می‌دهد گاوی که باکتری استافیلوکوکوس اتوروس را از شیر دفع می‌کند، ممکن است سرپستانک شش تا هشت گاوی که بعد از او دوشیده می‌شوند را آلوده نماید. بنابراین احتمال آلودگی زیاد است و البته به فاکتورهایی مثل کیفیت لاینرها (از لاینرهای خشن استفاده نکنید)، میزان عفونت ابتدایی دفع شده از پستان و چگونگی عملکرد دستگاه شیردوش بستگی دارد. البته ما در این جا در مورد میزان آلودگی پوست سرپستانک و نه میزان عفونت واقعی داخل پستان صحبت می‌کنیم. اکثر عفونت‌ها توسط ضد عفونی بعد از دوشش (postdipping) از بین می‌روند.

جدول ۴-۶ - مراحل انتقال باکتری استافیلوکوکوس انوروس به سرپستانک‌های غیر عفونی گاوهای دیگر بدنبال شیردوشی یک گاو عفونی با استفاده از روشهای مختلف ضدعفونی در شیردوشی (From Bramley, 1981.).

درصد سواب‌های مثبت برای کشت باکتری استافیلوکوکوس انوروس				
سرپستانکها قبل از پیش دوشش	سرپستانکها بعد از پیش دوشش	سرپستانکها بعد از شستن پستان	سرپستانکها بعد از شیردوشی	بهداشت به کار رفته شده
۰	۲۹	۶۳	۹۷	استفاده از آب
۰	۱۶	۳۹	۷۹	استفاده از مواد ضدعفونی کننده، دستمال کاغذی و دستکش

لذا بدیهی است اگر در یک گله باکتری استافیلوکوکوس انوروس وجود دارد، اقدامات زیر باید انجام شود:

- ۱- ضدعفونی سرپستانک‌ها بعد از هر دوشش یک امر حیاتی است. حتی با بهترین شرایط بهداشت شیردوشی، جلوگیری کامل از انتقال عفونت از یک گاو به گاو دیگر غیر ممکن است. اما ضدعفونی بعد از دوشش اکثر عفونتهای موجود بر روی سرپستانک‌ها را قبل از اینکه بتوانند به داخل کانال سرپستانک نفوذ کنند از بین می‌برد.

- ۲- ایده‌آل این است که بایستی گاوهای عفونی در آخر کار و یا در گروه جداگانه‌ای دوشیده شوند. در جایی که این کار امکان پذیر نباشد، بایستی گاوهایی که می‌دانیم عفونی هستند توسط خرچنگی جداگانه دوشیده شوند و سپس در فواصل بین دوشش، خرچنگی‌ها را ضدعفونی نماییم. با این کار به طور قابل ملاحظه‌ای احتمال انتشار میکروب از یک گاو به گاو دیگر کاهش خواهد یافت.

- ۳- باید توجه زیادی به ضدعفونی خرچنگی‌ها در فواصل دوشش بشود. این موضوع در بخش ششم بحث می‌شود.

- ۴- سلامت پوست سرپستانک‌ها بایستی در بهترین شرایط حفظ گردد. استافیلوکوکوس انوروس یک باکتری کاملاً مقاومی است. این باکتری می‌تواند در خارج از غده پستان در جاهایی مثل پارچه‌های مورد استفاده برای خشک کردن پستان، دست کارگر و پوست سرپستانک زنده بماند. بخصوص در مواقعی مثل ترک خوردن و یا خراش داشتن و یا زمانی که پوست سرپستانک بوسیله ویروس آبله آسیب دیده باشد و یا در زمان عملکرد بد دستگاه شیردوش و یا وجود زگیل و... وجود عفونت بر روی پوست سرپستانک یک امر عادی است. این موضوع خود دلیل مهم دیگری برای استفاده از ضدعفونی کننده حاوی مواد نرم کننده (emollient) بعد از دوشش است.

ورم پستان حاد قانقرایایی استافیلوکوکی

در تحت شرایط خاص استافیلوکوکوس انوروس می‌تواند ایجاد یک ورم پستان حاد قانقرایایی نماید. این حالت بدنبال تولید مقدار زیادی سم در بدن رخ می‌دهد. همانطور که در جدول ۷-۴ نشان داده شده است، این حالت را می‌توان به صورت تجربی با حذف کردن تمام سیستم ایمنی از غده پستان گاو با استفاده از آنتی سرم ضد گلبولهای سفید گاو (anti-bovine leucocyte antiserum) که باعث حذف تمام گلبولهای سفید بدن گاو می‌شود ایجاد نمود. یک گاو ممکن است عفونت مزمن استافیلوکوکوس انوروس را برای ماه‌ها و یا سالها همراه خود داشته باشد، ولی در مدت کمتر از چند روز، ورم پستان قانقرایایی استافیلوکوکی در او ایجاد گردد. بنابراین ورم پستان قانقرایایی بوسیله سویه خاصی از استافیلوکوک ایجاد نمی‌گردد، بلکه در اثر تغییر در وضعیت سیستم ایمنی پستان گاو ایجاد می‌گردد.

تظاهرات بالینی ورم پستان قانقرایایی در تصاویر ۳-۴ تا ۶-۴ نشان داده شده است. ابتدا پوست سرپستانک و قسمتهای پایین پستان در مجاورت سرپستانکها، یک تغییر رنگ سیاه متمایل به آبی را نشان می‌دهند. منطقه

درگیر در زمان لمس، سرد و مرطوب است و ممکن است یک احساس چسبندگی به دلیل ترشح مواد در سطح پوست، وجود داشته باشد. در بعضی موارد تاوهای کوچکی هم بر روی پوست تشکیل می شود (تصویر ۴-۴).

جدول ۴-۷ - ورم پستان قانقرایی استافیلوکوکی نتیجه سرکوب سیستم ایمنی بدن گاو است و نه اینکه میکروب خاصی آن را ایجاد کند. توجه کنید که چگونه حذف سیستم دفاعی گلبولهای سفید (با تزریق آنتی سرم) منجر به افزایش بسیار زیاد تعداد باکتریها در پستان و مرگ سریع گاو می شود.

زمان (روز)	تعداد نوتروفیلها (میلیون در هر میلی لیتر خون)	تعداد باکتری استافیلوکوکوس انوروس
۱	۳۰۵	۱۰
۲	۵	۲۲
تزریق آنتی سرم		
۳	۹	۳۷
۴	۰	۱۴,۰۰۰
۵	مرگ	۱۷۰,۰۰۰

با دوشیدن پستان مقداری مواد قهوه‌ای رنگ مایل به سیاه از آن خارج می شود که اغلب با گاز همراه است (تصویر ۴-۵). اگر گاو خیلی بیمار باشد، پیش آگهی (prognosis) بیماری ناامید کننده است. حتی گاوهایی که خیلی هم بیمار نیستند، این احتمال وجود دارد که بعدا پستان آنها بیافتد و کارتیبه مبتلا کاملاً تخلیه شود (تصویر ۴-۶). بهترین کار برای گاوهایی که بسیار شدید مبتلا شده‌اند، حذف آنها است. اما اگر فقط قسمت کمی از بافت پستان نکروز شده باشد، بالاخره بافت نکروزه تخلیه می شود و پستان به طور کامل ترمیم می گردد. به هر حال به یک نکته توجه نمایید. گاوهایی که به پستان آنها ضربه وارد می شود (تصویر ۴-۷)، باعث جمع شدن مقداری خون در زیر پوست آنها می گردد، در نتیجه یک تغییر رنگ سیاه متمایل به آبی در آنها رخ می دهد. این گاوها خودشان سالم هستند و شیرشان نیز طبیعی است، ضمن اینکه کارتیبه آسیب دیده گرم بوده و سرد نیست و آنها بدون انجام هیچ درمانی بهبود می یابند. البته این گاوها نیازی به درمان ندارند و با مبتلا به ورم پستان قانقرایی نیستند که حذف شوند.

تصویر ۴-۴ - پوست سرپستانک، پر از تاو ناشی از ورم پستان قانقرایی شده است.



تصویر ۴-۳ - ورم پستان حاد قانقرایی استافیلوکوکی - به تغییر رنگ پوست به سیاه متمایل به آبی توجه نمایید. میکروبهای دیگری مثل باسیلوس سرئوس و گاها اشریشیا کولی می توانند علائم مشابهی را ایجاد نمایند.



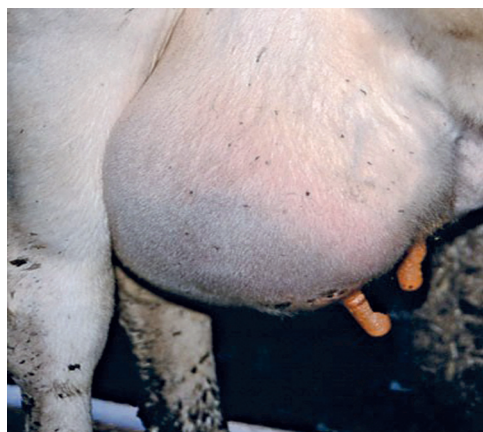
تصویر ۴-۶ - ورم پستان شدید قانقرایایی که منجر به افتادن پستان شده، این گاو بایستی حذف گردد.



تصویر ۴-۵ - ترشحات آبکی قهوه‌ای مایل به قرمز که اغلب همراه با گاز است، از مشخصات ورم پستان قانقرایایی است.



تصویر ۴-۷ - حالت ضربه به پستان - این حالت را نباید با ورم پستان قانقرایایی اشتباه کرد.



استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی (CNS)

استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی (میکروب‌های CNS) به عنوان عوامل ورم پستان بالینی و تحت بالینی و عامل افزایش شمارش سلولی (SCC) شناخته می‌شوند. آنها باکتریهای کروی شکل، گرم مثبت هستند که در تست داخل لوله کوآگولاز، هیچ لخته‌ای تشکیل نمی‌دهند. آنها ممکن است همولیتیک (haemolytic) و یا غیرهمولیتیک باشند. اما این موضوع تاثیری بر بیماریزایی آنها ندارد. نمونه‌هایی از استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی عبارتند از: استافیلوکوکوس زایلوسوس (*S. xylosus*)، استافیلوکوکوس اینترمیدیوس (*S. Intermedius*)، استافیلوکوکوس هایکوس (*S. hyicus*) و استافیلوکوکوس اپی درمیس (*S. epidermis*). آنها به طور معمول بر روی پوست سرپستانک، نوک سرپستانک و کانال سرپستانک تجمع می‌یابند. بنابراین خیلی مشکل است که تشخیص بدهیم آیا اینها عامل ورم پستان بالینی و یا تحت بالینی هستند و یا اینکه یک آلودگی ساده در نوک سرپستانک می‌باشند. به هر حال اگر از نمونه شیر گاوی که شمارش سلولی شیر او بالا است، یک کشت خالص

از باکتری CNS بدست بیاید، سپس می‌توان گفت این میکروب‌ها عامل عفونت پستانی هستند که منجر به افزایش شمارش سلولی شیر شده است. این بسیار مهم است که ترشحات ۴ تا ۶ دوشش پستان را قبل از اخذ نمونه شیر برای کشت باکتریولوژی دور بریزیم. اگر ما این کار را انجام ندهیم و هر کدام از باکتریهای CNS جدا شود، فقط بدین معنی است که ممکن است آنها از کانال سرپستانک منشاء گرفته باشند. افزایش تعداد باکتریهای CNS شیر تانک ممکن است نتیجه ضدعفونی بد سرپستانک در بعد از دوشش و یا وضعیت بد پوست سرپستانک باشد. مشخص شده است که این میکروب‌ها در گوساله‌های ماده غیر آبستن و تلیسه‌های آبستن هم وجود دارند و بعضی از محققین نشان داده‌اند که این موضوع می‌تواند باعث کاهش تولید شیر آنها بعد از زایمان شود. حتی اطلاعاتی وجود دارد که نشان می‌دهد درمان داخل پستان تلیسه‌ها شش ماه قبل از زایمان، باعث افزایش تولید شده است. اما انجام این درمان با خطرانی همراه است. چون وارد ساختن پماد به داخل پستان، باعث حذف پلمپ کراتینی طبیعی (natural keratin plug) از داخل سرپستانک می‌شود و همچنین عفونت‌های جدیدی مثل کلی فرمها، مخمرها و یا قارچها می‌توانند وارد پستان شوند.

استرپتوکوکوس آگالاکتیه

استرپتوکوکوس آگالاکتیه یک باکتری گرم مثبت و آلفا-همولیتیک (alpha-haemolytic) است. کلنی‌های این باکتری خیلی کوچک و در محیط ادواردز (Edwards) ظاهری آبی رنگ دارد. باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه یک باکتری فوق العاده مسری در ایجاد ورم پستان بوده و به آسانی از یک گاو به گاو دیگر در حین کار شیردوشی منتقل می‌شود. مخزن (reservoir) اولیه عفونت آن در داخل خود پستان است. اگرچه گاها ممکن است آنها در داخل کانال سرپستانک و یا حتی روی پوست سرپستانک بخصوص اگر سطوح آن دارای خراش باشد، تجمع یابند. آنها به درمان آنتی‌بیوتیکی خیلی خوب پاسخ می‌دهند (جدول ۴-۴)، بنابراین این امکان وجود دارد که عفونت‌های ناشی از آن را از یک گله حذف نمود، به شرط اینکه به نکات شش گانه کنترلی زیر توجه دقیق بشود.

- ۱- رعایت بهداشت در زمان شیردوشی.
- ۲- انجام ضد عفونی سرپستانک‌ها بعد از دوشش.
- ۳- انجام درمان گاوهای خشک (Dry cow therapy) و یا استفاده از پماد حاوی آنتی‌بیوتیک در زمان خشک کردن گاوها.

۴- حذف گاوهای مبتلا به ورم پستان مزمن عود کننده (recurrent).

۵- عملکرد بسیار مناسب دستگاه شیردوش.

۶- انتخاب دقیق گاوهای جایگزین.

بنابراین اگر استرپتوکوکوس آگالاکتیه از گله‌ای جدا شد، این نشان دهنده خوبی است که در انجام حداقل رعایت بهداشت شیردوشی نقایصی وجود دارد.

شیر کارتیبه‌های عفونی (با این باکتری) ممکن است دارای تعداد بسیار زیادی باکتری باشد، در بعضی موارد این تعداد باکتری به ۱۰۰,۰۰۰,۰۰۰ در هر میلی لیتر شیر می‌رسد. این می‌تواند به افزایش و یا متغیر بودن بار میکروبی شیر در گله‌هایی که بسیار عفونی هستند منجر شود. در چنین گله‌هایی با اجرای سیستم درمانی بلیتز (blitz) پاسخ بسیار خوبی بدست می‌آید. این روش درمانی بدین صورت است که همه گاوها با تزریق آنتی‌بیوتیک (پماد داخل پستانی) به داخل همه کارتیبه‌ها در طی سه بار دوشش متوالی درمان می‌شوند. تقریباً همه آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه موثرند. ترجیحاً از داروهایی استفاده کنید که دوران پرهیز دارویی آنها کوتاه است. به دلیل اینکه پاسخ درمانی خوب است و شیر فقط برای ۲۴ ساعت بعد از درمان دور ریخته می‌شود. در گله‌هایی که بسیار عفونی شده‌اند، این روش درمانی کاملاً توجیه اقتصادی دارد. البته این روش درمانی بایستی با رعایت بهداشت بسیار زیاد همراه باشد. روش درمانی بلیتز (Blitz) به تفصیل

در بخش ۱۲ در قسمت درمان توضیح داده خواهد شد.

میزان عفونت استرپتوکوکوس آگالاکتیه در یک گاو به طور فردی، ارتباط بسیار بیشتری با میزان شمارش سلولی شیر آن نسبت به عفونت استافیلوکوکوس اتوروس دارد. به همین دلیل می‌توان روش درمانی بلیتز (blitz) را در مواردی که فقط گاوها دارای شمارش سلولی بالایی هستند، به کار برد. این روش درمان نتایج خوبی را به همراه دارد.

اینطور تصور می‌شود که باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه با رشد و تکثیر در کانال سرپستانک به داخل آن نفوذ می‌کند. لذا دوشش ناقص (Undermilking) که باعث کاهش شستشوی کانال سرپستانک (کاهش خروج کراتین داخل سرپستانک) می‌شود، می‌تواند ایجاد عفونتهای جدید را افزایش دهد. اگرچه استرپتوکوکوس آگالاکتیه عمدتاً پاتوژن داخل پستانی محسوب می‌گردد ولی می‌تواند در محیط هم به خوبی باقی بماند. برای مثال نشان داده شده است که این باکتری بر روی دست کارگران شیر دوش بخصوص زمانی که دست آنها دارای ترکهای عمیق و ناجور باشد (شکل ۱-۶)، این باکتری باقی می‌ماند و بدین روش از یک گاوداری به گاوداری دیگر منتقل شود.

عفونتهای تحت بالینی ناشی از باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه کاملاً متداول هستند و اغلب اینها منجر به بالا رفتن شمارش سلولی می‌شود. علائم بالینی هم ممکن است موقتی باشد. برای مثال در یک تحقیق تزریق تعداد زیادی باکتری استرپتوکوکوس آگالاکتیه به داخل کاردیه گاوها باعث بروز علائم بالینی شدیدی در کمتر از ۸ ساعت گردید، اما بعد از ۲۴ ساعت تمام علائم بالینی از بین رفت و عفونتها تبدیل به عفونتهای تحت بالینی شدند (Mackie et al., 1983). بنابراین، کشت باکتریایی این گاوها منفی خواهد بود، اما با تست سرمی مشخص شد که آنتی بادی در خون آنها وجود دارد (antibody positive) و این گاوها یک منبع عفونت بالقوه برای دیگر گاوها خواهند بود. برعکس اغلب عفونتهای ناشی از باکتری استافیلوکوکوس اتوروس منجر دفع میزان بسیار زیادی از باکتری خواهد شد، بنابراین کشت یک وسیله تشخیصی خوبی برای این باکتری می‌باشد.

استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه

استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه یک باکتری گرم مثبت و همولیتیک است که کلنی‌های بسیار کوچکی را تولید می‌نماید و رنگ محیط کشت ادواردز را به رنگ مایل به سبز تغییر می‌دهد.

استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه یکی از چهار عامل مهم ورم پستان‌های مسری می‌باشد. به این ترتیب در بسیاری از خواص و روشهای کنترلی با باکتریهای استافیلوکوکوس اتوروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه مشابه هستند، هرچند که چند اختلاف خاص هم با این باکتریها دارد.

باکتری استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه به خوبی در محیط بیرون دوام آورده و در بعضی جهات حالتی بین عوامل مسری و عوامل محیطی را دارد. این باکتری به طور معمول بر روی سرپستانک یافت می‌شود، بخصوص زمانی که یکنواختی سطح پوست سرپستانک بوسیله خراشیدگی، بریدگی، صدمات دستگاه شیردوش، ضایعات و ویروس آبله و... از بین رفته باشد. به این ترتیب گاوها حضور این باکتری در تانک شیر، نشان دهنده آسیب و صدمه پوست سرپستانک می‌باشد. خود غده پستان کمتر به عنوان ناقل این باکتری اهمیت دارد. چون باکتری استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه در لوزه‌های گاوها و گوساله‌ها وجود دارد، بنابراین در اثر لیسیدن می‌تواند این باکتری به سرپستانک‌ها منتقل شود. این موضوع می‌تواند دلیل اینکه چرا این باکتری به عنوان یک عامل معمول در ایجاد ورم پستان در تلیسه‌ها (حتی تلیسه‌های غیر آبستن و گاوهایی خشک) شناخته می‌شود را توضیح دهد. سوزش سرپستانکها در اثر نیش حشرات و آسیب‌های ناشی از سردی هوا، می‌تواند باعث تشویق حیوان به لیسیدن سرپستانک هایش شود. لذا با این کار به راحتی عفونت منتقل می‌شود. این انتقال به تدریج باعث تجمع باکتریها در کانال سرپستانک شده تا اینکه یک ورم پستان بالینی بروز می‌نماید.

بالاخره اینکه باکتری استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه یک عامل معمول و بخشی از مجموعه عوامل ورم

پستان تابستانه (summer mastitis) می‌باشد (بخش ۱۳)، ضمناً این باکتری را می‌توان از مگس‌های ناقل این بیماری مثل مگس سرگوسفند و یا مگس *Hydrotea irritans* جدا کرد.

سویه‌های مایکوپلازما

کلنی‌های مایکوپلازما بسیار آهسته رشد می‌کنند (۱۰ روز) و گفته می‌شود که وقتی بر روی محیط کشت خوندار رشد می‌کنند، شکل آن شبیه تخم مرغ آب پز شده است. برای کشت مایکوپلازما نیاز به امکانات خاص بوده و نمی‌توان اینها را با روشهایی که در ادامه همین بخش شرح داده می‌شود، کشت داد. دو سویه معمول از مایکوپلازما باعث ایجاد ورم پستان در گاو می‌گردد: *Mycoplasma bovis* و *Mycoplasma californicum*. این باکتریها بسیار مسری بوده و می‌توانند به سرعت در یک گله مبتلا پخش گردند. پاسخ آنها به آنتی‌بیوتیک‌ها ضعیف است و زمانی که در گاوی تشخیص داده شد، بایستی گاو مبتلا را در آخر کار دوشید و یا در گروه جداگانه‌ای دوشیده و آنقدر این گاو مبتلا را کنترل و مانیتور کرد تا اینکه این عفونت به طور خودبخودی (selfcure) درمان شود. با این حال اکثر این گاوها بایستی حذف گردند. اگرچه گاوهای مبتلا ممکن است به صورت بالینی بیمار نباشند، ولی عفونت پستانی باعث کاهش قابل ملاحظه تولید در گاوهای مبتلا می‌شود که اغلب به این حالت *agalactia* (به معنی فقدان تولید شیر) اطلاق می‌شود. ممکن است کارتیته‌های مبتلا متورم شوند و ترشحات آن به مقدار کم و به صورت آبکی شنی یا ریگی شکل باشد. به دلیل اینکه این باکتری بسیار واگیردار است، بایستی توجه بسیار جدی به بهداشت شیردوشی گردد. این توجه باید شامل شستشو یا حتی پاستوریزاسیون خرچنگی‌ها در بین دوشش هر گاو بشود (بخش ششم). هم گاوهایی که علائم بالینی دارند و هم گاوهایی که به صورت تحت بالینی و البته ناقل در آمده‌اند، تعداد بسیار زیادی باکتری را از خود دفع می‌کنند. همچنین باکتری مایکوپلازما بویس می‌تواند باعث عفونت‌های مفصلی و سرما خوردگی گوساله‌ها شود.

میکروبهای محیطی

این بخش کلی فرم‌ها از جمله اشیریشیا کولی و همچنین استرپتوکوکوس یوبریس را توصیف می‌نماید. این باکتریها در دوران خشکی نقش بسیار مهمی در اپیدمیولوژی میکروب‌های محیطی که باعث ورم پستان می‌شوند را بازی می‌کند. در ادامه همین بخش، در قسمت عفونت‌های دوران خشکی این باکتریها بیشتر توضیح داده می‌شوند.

کلی فرم‌ها از جمله اشیریشیا کولی (*Escherichia coli*)

اشیریشیا کولی یک باسیل گرم منفی که در محیط خوندار کلنی‌های موکوییدی خاکستری رنگ را ایجاد می‌کند. در این گروه سویه‌های همولیتیک و غیرهمولیتیک وجود دارد. بعد از استرپتوکوکوس یوبریس، باکتری اشیریشیا کولی شایع ترین عامل محیطی مسبب ورم پستان می‌باشد. این باکتری به تعداد بسیار زیاد در مدفوع وجود دارد، بنابراین ابتدا عفونت در گاوهایی که به صورت بسته نگهداری می‌شوند، بخصوص در جایی که محیط خیس و مرطوب است و زمانی که بهداشت دامداریها ضعیف باشد رخ می‌دهد. در مورد فاکتورهای محیطی در بخش هشتم بیشتر بحث می‌شود. اینطور تصور می‌شود که در حین مرحله شیردهی، باکتری اشیریشیا کولی از طریق رانده شدن به کانال سرپستانک وارد می‌شود. لذا به موازات موارد سرپستانک‌های کثیف، کارکرد نامناسب دستگاه شیردوش و یا بد دوشیدن گاوها که منجر به ایجاد حالت ضربات (teat-end impacts) می‌گردد موارد ابتلا به ورم پستان بیشتر رخ می‌دهد. نفوذ باکتری‌ها از طریق کانال باز سرپستانک (بلافاصله بعد از شیردوشی) ممکن است یکی از فاکتورها باشد. همیشه بدنبال نفوذ اشیریشیا کولی به کانال سرپستانک، ورم پستان بالینی ایجاد نخواهد شد. در حقیقت

تعداد زیادی (۸۰ تا ۹۰ درصد) از این عفونتها به طور خودبخود درمان می‌شوند. در بعضی از گاوها تنها تغییر قابل تشخیص، افزایش شمارش سلولی و افزایش بار میکروبی شیر می‌باشد. در گاوهای دیگر، آسیب بسیار جزئی به سلولهای پوششی دیواره سرپستانک وارد می‌شود که منجر به ایجاد مقدار کمی لخته سفید رنگ می‌شود که این لخته‌ها در نوبت بعد شیردوشی ناپدید می‌گردند. علائم مشخص ورم پستان ناشی از اشریشیا کولی، وجود کارتیه متورم، داغ، سفت همراه با ترشحات آبکی است. درصدی از گاوها دچار شوک شدیدی شده و در مدت چند ساعت تلف می‌شوند. اختلاف پاسخ گاوها به تهاجم باکتری اشریشیا کولی و دلایل اختلاف زیاد در علائم بالینی در بخش سوم مورد بحث قرار گرفته است.

برخلاف باکتریهای استافیلوکوکوس اتیروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه، باکتری اشریشیا کولی به لایه پوششی سیستم سرپستانک و سیستم پستان نمی‌چسبد. این امر احتمالاً پاسخ این سوال است که چرا فرم‌های ناقل، مزمن و عود کننده ورم پستان ناشی از باکتری اشریشیا کولی بسیار کم رخ می‌دهد.

سموم باکتری اشریشیا کولی

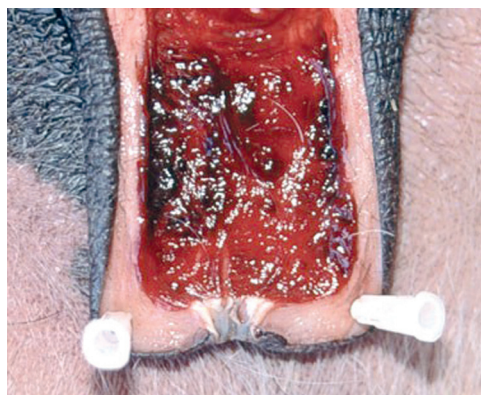
تأثیرات توکسیک ورم پستان اشریشیا کولی به دلیل آزاد سازی یک اندوتوکسین از جنس لیپولی ساکارید (LPS) مشتق شده از دیواره سلولی این باکتری می‌باشد که LPS طی فرایند فاگوسیتوز گلبولهای سفید آزاد می‌گردد (بخش سوم). اینها خودشان باعث آزاد شدن گرانول‌های لیزوزیمی شده که باعث تشدید واکنش شوکهای بعدی می‌گردد.

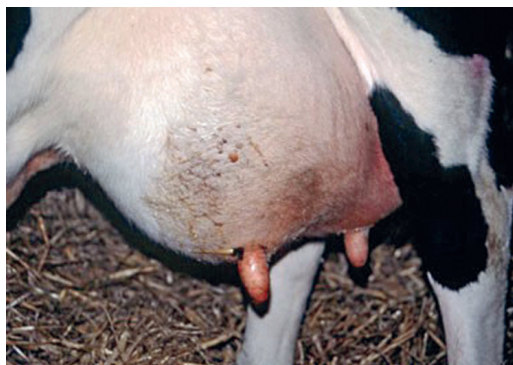
در تصویر ۸-۴ مقطع عرضی سرپستانک طبیعی و دیواره کرم و صورتی رنگ سیستم پستان یک سرپستانک سالم را نشان می‌دهد. در مقابل این وضعیت طبیعی، تصویر ۹-۴ یک سرپستانک گاو تلف شده ناشی از ورم پستان اشریشیا کولی که لایه پوششی دیواره سرپستانک آن بسیار پر خون و یا همراه با خونریزی شدید است را نشان می‌دهد. اگر باکتری اشریشیا کولی به مجاری کوچکتر و سینوس‌های لاکتیفروس غده اصلی پستان برسد، در آنجا به تعداد بسیار زیادی تکثیر کرده، که این امر منجر به پاسخ شدید گاو خواهد شد. گاهی آسیب‌هایی که به عروق خونی وارد می‌شود آنقدر زیاد است که باعث ایجاد ترشح سرم در سطح پوست سرپستانک و خود پستان می‌گردد که با چشم قابل مشاهده است و در تصویر ۱۰-۴ نشان داده شده است. و چنین مواردی می‌تواند منجر به قانقرایای وسیع بافت پستان و در نتیجه افتادن پستان شود که در تصویر ۶-۴ دیده می‌شود.

تصویر ۸-۴ - مقطع عرضی یک سرپستانک طبیعی



تصویر ۹-۴ - یک سرپستانک مبتلا به ورم پستان ناشی از اشریشیا کولی - به خونریزی شدید دیواره سرپستانک توجه نمایید.





تصویر ۱۰-۴- ورم پستان ناشی از باکتری اشیریشیا کولی - صدمات وارده به عروق خونی ممکن است آنقدر شدید باشد که سرم از طریق پوست پستان، در سطح پوست ترشح و تجمع یابد، همانطور که این اتفاق یا ترشح سرم در داخل غده پستان هم رخ می دهد.

عفونت های کلی فرمی دوران خشکی

هرچند لاکتوفرین (lactoferrin) از ایجاد موارد بالینی ورم پستان کلی فرمی در گاوهای خشک جلوگیری می کند، ولی بسیاری از عفونت های جدید تحت بالینی در حین دوران خشکی بخصوص در دو هفته اول و دو هفته آخر دوران خشکی رخ میدهد. این عفونت ها به صورت خاموش در پستان باقی مانده و به طور معمول در ۱۰۰ روز اول دوره شیردهی ایجاد ورم پستان بالینی را می نمایند. ایجاد عفونت های دوران خشکی هم برای باکتری اشیریشیا کولی و هم برای باکتری استرپتوکوکوس یوبریس (*S. uberis*) معمول بوده که بعداً در همین بخش به تفصیل توضیح داده خواهد شد.

اختلافات سویه های اشیریشیا کولی

وقتی در گله ای فرم شدید ورم پستان اشیریشیا کولی ای بروز کرد، بعید به نظر می رسد که در همه گاوهای مبتلا، یک سویه خاص از باکتری اشیریشیا کولی عامل ورم پستان باشد، هرچند که ممکن است تظاهر بالینی آنها مشابه هم باشد. معمولاً تعدادی از سویه های یک باکتری هستند که در چالش و بروز شدید بیماری دخالت دارند. برای مثال در یک بررسی که برای تعیین سویه های دخیل در ۲۹۰ مورد ورم پستان حاد اشیریشیا کولی ای به عمل آمد:

- در ۸۲ درصد از موارد که سویه آنها تعیین شد، ۶۳ نوع سویه مختلف از اشیریشیا کولی تشخیص داده شد.
 - در ۱۸ درصد بقیه هم نتوانستند نوع سویه باکتری را مشخص کنند.
- بنابراین در مورد ورم پستانهای مسری بعید به نظر می رسد انتقال باکتری از گاو به گاو دیگر مهم باشد. معمولاً میزان بالای بروز موارد ورم پستان کلی فرمی در یک زمان، توسط یک چالش محیطی رخ می دهد، مثل ۱- افزایش تماس محیطی ۲- آلودگی زیاد نوک سرپستانک گاوها در دوران خشکی و یا عملکرد بد دستگاه شیردوش ۳- کاهش سیستم ایمنی بدن گاو.

واکسیناسیون بر علیه باکتری اشیریشیا کولی

اثرات توکسیک اندوتوکسینی که باکتری اشیریشیا کولی تولید می کند، از دیواره سلولی باکتری مشتق می شود که از نظر شیمیایی یک لیپوپلی ساکارید (LPS) است. هر زمانی که یک باکتری اشیریشیا کولی به دو عدد تقسیم می شود (هر ۲۰ دقیقه یک بار در شرایط مناسبی مثل شیر گرم داخل پستان این اتفاق می افتد)، مقدار مشخصی از لیپوپلی ساکارید (LPS) آزاد می شود. علاوه وقتی که باکتری اشیریشیا کولی می میرد، دوباره مقادیری از لیپوپلی ساکارید آزاد می گردد. هرچند که لیپوپلی ساکاریدهایی که بوسیله سویه های مختلف اشیریشیا کولی تولید می شود، با هم خیلی متفاوت است. ولی یک سویه از این باکتری به عنوان سویه "موتاسیون یافته

سخت (rough mutant)“ شناخته شده است که لیوپولی ساکاریدی را تولید می کند که یک قطعه از آن در بین تمام ساختمان لیوپولی ساکاریدهایی که توسط همه سویه های باکتری اشیریشیا کولی تولید می شود، مشترک است. این سویه از باکتری اشیریشیا کولی به عنوان اساس و پایه واکسنی که J۵ نام دارد، قرار گرفته است. سازندگان واکسن ادعا می کنند که با تزریق سه نوبت از این واکسن روغنی به صورت زیر جلدی (دو نوبت در زمان خشکی با فاصله ۲۸ روز و یک نوبت هم در ۱۵ روز بعد از زایمان)، ۸۰ درصد بر علیه این باکتری ایمنی ایجاد می شود. نتایج یک بررسی از استفاده این واکسن در چند گاوداری (با مصرف این واکسن در نصف هر گله و اینکه نصف دیگر گله به عنوان شاهد و کنترل بودند) در جدول ۸-۴ نشان داده شده است. این واکسن بر کاهش موارد عفونت های جدید تاثیری نداشت. ولی باعث کاهش موارد بالینی و بخصوص کاهش مشخص موارد ورم پستان حاد و توکسیک گردید، به طوری که این موارد واقعا در گاوداری نایاب شدند. با این حال جالب است که این واکسن اثر محافظتی بر روی عفونت های تجربی اشیریشیا کولی ندارد و تلاش های خوبی برای توضیح این اختلاف صورت گرفته است. یک توضیح منطقی این است که واکسن توانسته به طرق خاصی، راه ورود اشیریشیا کولی به کانال سرپستانک و یا روش تثبیت در داخل پستان را تغییر دهد. البته برای روشن شدن مطلب هنوز راه زیادی در پیش است.

جدول ۸-۴ - پاسخ به واکسن اشیریشیا کولی نوع J۵

تعداد گاوها	موارد ورم پستان های کلی فرمی	درصد عفونت
۲۳۳	۶	۲٫۶
۲۲۷	۲۹	۱۲٫۸

عفونت های مزمن عود کننده کلی فرمی

در اکثر گله ها، پاسخ به عفونت اشیریشیا کولی بسیار سریع بوده و میکروب به سرعت با پاسخ طبیعی خود گاو در مدت ۱۲ تا ۳۶ ساعت حذف می گردد. این گاوها دارای یک کارتیبه سفت و متورم همراه با ترشحات آبکی قهوه ای رنگ هستند، اما اغلب در زمان نمونه برداری برای آزمایش، هیچ باکتری در کارتیبه های آنها موجود نیست. گاوهایی که دارای پاسخ التهابی ضعیفی هستند (بخش سوم)، شدیداً بیمار می شوند و باکتری اشیریشیا کولی برای مدت ۱۰ الی ۱۴ روز علی رغم استفاده از آنتی بیوتیک، در داخل پستانشان باقی می ماند. این حضور دائمی باکتری اشیریشیا کولی در داخل پستان، می تواند به عنوان محرک مزمن عمل نماید و منجر به ایجاد هیپرپلازی (رشد غیر طبیعی سلول ها) و کراتینه شدن غده پستان و سپس خشک شدن پستان گردد. البته بسیاری از این کارتیبه های خشک شده، در دوره شیردهی بعدی دوباره فعال شده و شیر تولید می کنند.

در یک بررسی در هلند مشخص شد که ۵ درصد از همه عفونت های بالینی کلی فرمی منجر به ورم پستان مزمن عود کننده می شود. ولی در صورتی که در ابتدای شروع عفونت تعداد باکتری های اشیریشیا کولی زیاد باشند و یا در زمانی که آنتی بیوتیکی برای درمان استفاده نشود، این میزان (درصد) بیشتر خواهد بود. در طی یک بررسی در انگلیس مشخص شد که ۳۵ درصد موارد عفونت های کلی فرمی (۲۰ مورد عفونت در ۱۳ کارتیبه) که از دوره خشکی منشاء می گیرند و ۱۷ درصد (۱۸ مورد عفونت در ۱۵ کارتیبه) از عفونت هایی که از دوره شیردهی منشاء می گیرند، عود می کنند. بنابراین ظاهراً عفونت های مزمن، بیشتر از دوره خشکی ناشی می شوند.

دیگر کلی فرمها

میکروبهای دیگری علاوه بر اشیریشیا کولی هستند که به طور کلی در گروه عوامل ورم پستان کلی فرمی قرار می گیرند و ممکن است هر مدت یک بار از نمونه های شیر جدا شوند. اینها عبارتند از:

Enterobacter aerogenes.

Citrobacter.

Klebsiella pneumoniae.

ممکن است باکتری آخر در خاک اره‌های مرطوب ذخیره شده (که از چوب‌های تازه بریده شده تهیه می‌شوند) یافت شود. اگر خاک اره و یا خرده نجاری به عنوان بستر در خوابگاه گاوها در سیستم فری استال مورد استفاده قرار گیرد، این باکتری می‌تواند ورم پستان حاد و توکسیک را ایجاد نماید.

پزودوموناس آئروگینوزا (*Pseudomonas aeruginosa*)

مشخصاً منشأ باکتری پزودوموناس از آب آلوده است. برای مثال زمانی که برای شستشوی پستان از تانک‌هایی استفاده می‌شود که این تانک‌ها فاقد درب هستند و در ارتفاع پایینی تعبیه شده باشند و یا ماده ضد عفونی به آنها اضافه نگردد، پزودوموناس (این باکتری) دیده می‌شود. پزودوموناسها ممکن است همچنین در گودال‌های آب هم وجود داشته باشند. علائم بالینی ورم پستان ناشی از این باکتری بسیار متفاوت است، از ورم پستان حاد توکسیک تا موارد مزمن عود کننده (recurrent). پاسخ به درمان آنها هم به دلیل اینکه این باکتری می‌تواند در درون سلولها زندگی کند و از دسترس آنتی‌بیوتیک‌ها در امان باشد (احتمالاً)، ضعیف است. بنابراین گاوهایی دارای عفونت مزمن ناشی از این باکتری که شمارش سلولی بالایی دارند بایستی حذف شوند. چون این گاوها به عنوان مخزن عفونت برای دیگر گاوها عمل می‌کنند (از آنجائیکه تعداد باکتریهای دفع شده از پستان در عفونت‌های ناشی از این باکتری زیاد نیست شاید خیلی جدی نباشند).

کلی فرم‌هایی که لاکتوز را تخمیر نمی‌کنند (Non-lactose-fermenting coliforms) و اغلب به اسم NLFs نامیده می‌شوند به عنوان یک عامل معمول ورم پستان بالینی که در حال افزایش است، تبدیل شده‌اند. بسیاری از اینها عوامل محیطی هستند مثل سویه‌های پزودوموناس‌های غیر روده ای.

استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus uberis*)

استرپتوکوکوس یوبریس یک باکتری گرم مثبت غیر همولیتیک که بر روی محیط ادورادز (Edwards) کلنی‌های قهوه‌ای رنگ را به دلیل تجزیه اسکولین (aesculin) تولید می‌کند. بعضی محققین همه استرپتوکوک‌های تجزیه کننده اسکولین را به عنوان استرپتوکوکوس یوبریس طبقه بندی می‌کنند. ولی این طبقه بندی درست نیست، مثل بسیاری از سویه‌های استرپتوکوک مانند استرپتوکوکوس فاسیوم (*Streptococcus faecium*) و استرپتوکوکوس بویس (*Streptococcus bovis*).

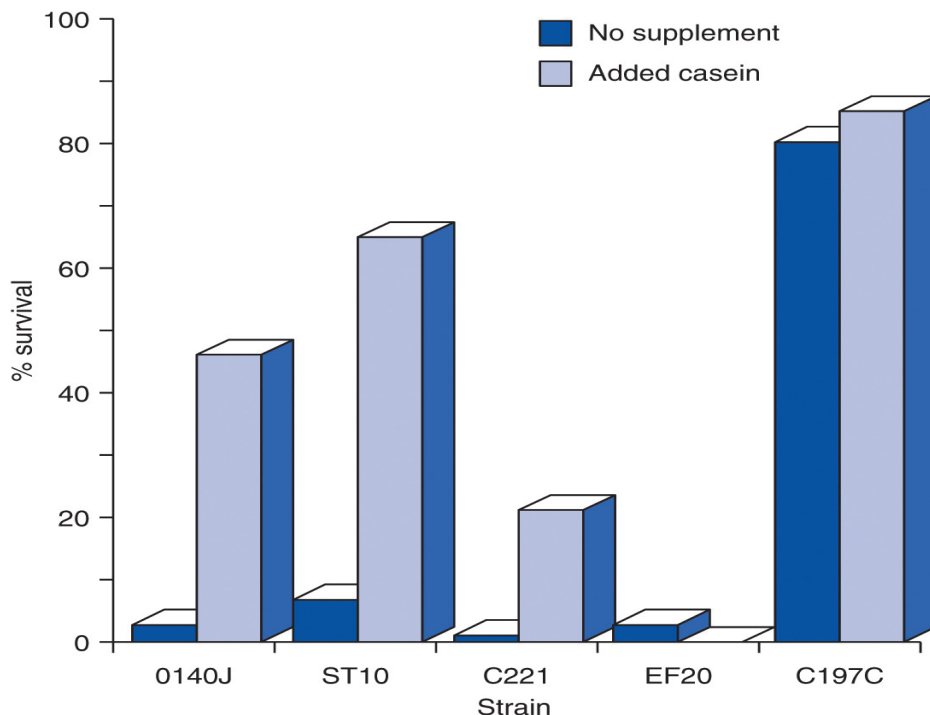
یک ورم پستان تیپیک استرپتوکوکوس یوبریس، اغلب به طور ناگهانی شروع می‌شود، کارتی‌ها سفت و متورم می‌شوند و شیر تولیدی حاوی مقدار زیادی لخته سفید رنگ می‌باشد. گاهی اوقات درجه حرارت بدن گاو هم بسیار بالا می‌رود.

اختلاف در سویه‌های استرپتوکوکوس یوبریس

با مطالعه قطعات DNA این باکتری مشخص شد که باکتری استرپتوکوکوس یوبریس یک باکتری منفرد نیست بلکه گروهی (range) از باکتری‌ها را شامل می‌شود. بعضی از سویه‌های استرپتوکوکوس یوبریس به opsonization (پوشیده شدن باکتری با آنتی بادی) بسیار مقاومتر هستند، لذا امکان فاگوسیتوز آنها و تخریب این سویه‌های باکتری با کمک گلبول‌های سفید نیز ضعیف است (به بخش سوم مراجعه شود). این حالت بخصوص با وجود پروتئین کارژین شیر بیشتر صدق می‌کند (نمودار ۱-۴). اگرچه استرپتوکوکوس یوبریس در ابتدا به عنوان یک میکروب محیطی در نظر گرفته می‌شد، ولی هم اکنون بعضی از سویه‌های آن به عنوان عواملی که می‌توانند ورم پستان‌های تحت بالینی مزمن و عود کننده را ایجاد نمایند، شناخته می‌شوند که پاسخ آنها به

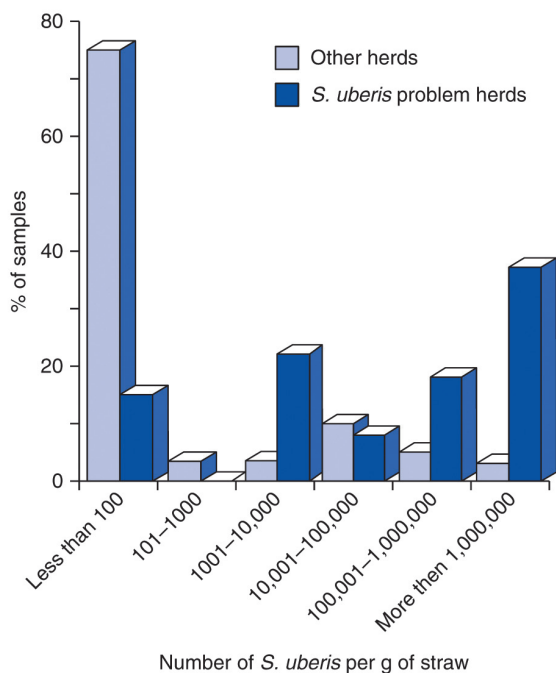
آنتی‌بیوتیک‌ها هم ضعیف است. بنابراین درمان سریع آنتی‌بیوتیکی برای این گروه بسیار مهم است، اگرچه به دلایلی که بعداً ذکر می‌شود، پاسخ به آنتی‌بیوتیک در آنها اغلب ضعیف است. نتیجه این امر ایجاد موارد عفونتهای تحت بالینی در گله است که در حین کار شیردوشی از یک گاو به گاو دیگر گسترش می‌یابد.

نمودار ۱-۴- مقایسه مقاومت فاگوسیتوزی باکتری استرپتوکوکوس یوبریس کشت داده شده در زمان حضور و عدم حضور کازنین. اکثر سویه‌های این باکتری در حضور کازنین از عمل فاگوسیتوز محافظت می‌شوند.



منابع عفونت

در حال حاضر باکتری استرپتوکوکوس یوبریس، معمولی‌ترین میکروب محیطی ایجاد ورم پستان در انگلیس است. این باکتری بخصوص با محوطه‌هایی که از کاه و کلش پوشانده شده است مرتبط است، جایی که ممکن است میزان عفونت بالا باشد. تعداد این باکتری تا ۱,۰۰۰,۰۰۰ میکروب در هر یک گرم کاه بستر گزارش شده است. نمودار ۲-۴ ارتباط بین میزان استرپتوکوکوس یوبریس در هر گرم کاه بستر و میزان شیوع ورم پستان ناشی از آن را در گله‌هایی که بررسی در آنها انجام شده است، نشان می‌دهد. توجه کنید که اکثر گله‌های مشکل دار با میزان بالای استرپتوکوکوس یوبریس در بستر آنها، مرتبط هستند. این قضیه باعث شده است که گاوها را از کاه جدا (بخصوص از محیطی که از بستر کاه پوشیده شده) و به محیط خوابگاه (فری استال) که بستر آن ریگ است، منتقل کنند. محیطی که دارای ریگ تمیز است، فقط اجازه می‌دهد میزان کمی از باکتری‌های استرپتوکوکوس یوبریس و اشیریشیا کولی در آن بماند و اگر بتوانیم PH بستر آن را بالا نگهداریم، مثلاً از آهک و یا از خاکستر باقیمانده از نیروگاه‌ها استفاده کنیم، این خود باعث کاهش رشد باکتری‌ها هم می‌شود. البته ریگ آلوده مثلاً آلوده به شیر، ادرار و یا مدفوع می‌تواند به رشد باکتری‌ها کمک کند.



نمودار ۲-۴- میزان باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در گاه بستر گله‌هایی که مشکل استرپتوکوکوس یوبریس داشتند در مقایسه با دیگر گله‌ها.

علاوه بر اینکه باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در محیط هست، این باکتری در مناطق مختلفی از بدن دام مثل دهان، فرج، کمر (groin) و یا زیر بغل (axilla) گاو نیز وجود دارد (جدول ۹-۴). علی‌رغم اینکه باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در مدفوع گاو وجود دارد، ولی میزان آن در مدفوع خیلی زیاد نیست و از این لحاظ باکتری استرپتوکوکوس یوبریس با باکتری اشریشیا کولی متفاوت است.

جدول ۹-۴ - جدا سازی باکتری استرپتوکوکوس یوبریس از ۵۳ راس تلیسه آبستنی که در مرتع در شرایط خشک و آفتابی نگه داری می‌شدند.

محل معاینه شده	تعداد مثبت‌ها	درصد مثبت‌ها
Escutcheon	۴۸	۹۰
پاها	۴۶	۸۶
سرستانکهای عقبی	۴۹	۹۲
لب‌ها	۱۲	۲۲
جمع کل	۱۵۵	۷۳

Escutcheon: منطقه صاف پوشیده از مو بین فرج و بالای پستان گاو

گسترش عفونت در داخل گله

منشاء اولیه عفونت ممکن است از محیط و یا از یک گاو مبتلای خریداری شده باشد. اما باکتری استرپتوکوکوس یوبریس می‌تواند به سرعت در داخل گله پخش شود. عقیده بر این است که بدن‌بال رخداد عفونت، باکتری استرپتوکوکوس یوبریس به مدت بسیار طولانی در داخل پستان گاوها بصورت بسیار مقاوم باقی

خواهد ماند. در یک مطالعه متوسط طول این دوره زمانی یک و نیم ماه بعد از رخداد عفونت و درمان گزارش شده است. پاسخ ضعیف بدن گاو به درمان و مقاومت طولانی مدت باکتری در داخل پستان را به فاکتورهای زیر مرتبط می‌دانند:

- ۱- مقاومت باکتری به عمل فاگوسیتوز به دلیل opsonization (نشان دار شدن باکتری) ضعیف.
 - ۲- این باکتری می‌تواند به سلول‌ها وارد شده و در آنجا از دسترس بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌ها در امان بماند.
 - ۳- این باکتری می‌تواند وارد غدد لنفاوی پستان شده و در آنجا به عنوان یک مخزن عفونت باقی بماند.
- در یک عفونت که به طور تجربی ایجاد شده بود، باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در کمتر از ۶ روز بعد از تلقیح باکتری، خود را به غده لنفاوی می‌رساند. بنابراین در داخل گله‌هایی که باکتری استرپتوکوکوس یوبریس یک مشکل محسوب می‌شود، درمان موارد بالینی بایستی طولانی مدت و خیلی تهاجمی (aggressive) باشد، تا از ایجاد حالت کاریر جلوگیری گردد.

چند گاو که به طور تجربی به باکتری استرپتوکوکوس یوبریس عفونی شده بودند، فقط با درمان طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک‌ها (مثلاً ۵ تا ۷ روز تزریق آنتی‌بیوتیک به همراه استفاده از پماد پستانی) از این عفونت بهبود یافتند. این موارد عفونی قطعاً ناشی از سویه‌های ایجاد کننده ورم پستان مزمن هستند و این سویه‌ها بیشتر به پاتوژنهای مسری مشابهت دارند تا اینکه به پاتوژنهای محیطی مرتبط باشند.

با بدست آمدن شواهد بیشتر از خصوصیات مسری بودن باکتری استرپتوکوکوس یوبریس، مشخص گردید که بروز کارتی‌های عفونی (ناشی از این باکتری) در یک گله، نشانه خوبی از شیوع موارد جدید این عفونت است. بنابراین اگر میزان کارتی‌های عفونی با باکتری استرپتوکوکوس یوبریس کم بود، می‌توان نتیجه گرفت که شیوع موارد بالینی هم در آینده کم خواهد بود. به عبارت دیگر اگر تعداد کارتی‌های عفونی بالا باشد (احتمالاً از محیط و یا در زمان خشکی منشاء گرفته باشد)، در آینده تعداد موارد بالینی زیاد خواهد بود. این حالت در عمل به طور معمول دیده می‌شود. به این صورت که اگر در ابتدا مواردی از بیماری را داشته باشیم و منبع این بروز بیماری تشخیص داده شده و اصلاح گردد، باز هم موارد بالینی این ورم پستان برای چندین ماه (به دلیل چرخش سیکل عفونت در گله) ادامه می‌یابد. در این موارد اغلب حذف گاوهای کاریر (به عنوان مخزن عفونت) تنها راه حل کنترل بیماری می‌باشد. چون این باکتری هم خواص پاتوژنهای مسری و هم خواص پاتوژنهای محیطی را دارد، لذا برای کنترل آن، هم ضد عفونی قبل از دوشش (predip) و هم ضد عفونی بعد از دوشش (postdip) بایستی انجام شود.

اگرچه هم اکنون اغلب گله‌ها با انواع مختلف سویه‌های باکتری استرپتوکوکوس یوبریس درگیر هستند، ولی ورود یک سویه جدید دیگر از این باکتری می‌تواند دوباره باعث بروز موارد شدیدی از بیماری در گله شود. این قضیه پیشنهاد می‌کند که محافظت و ایمنی متقاطع در بین سویه‌های این باکتری بسیار کم است و لذا اهمیت بیوسکیوریتی (امنیت زیستی) برای کنترل این عفونت مشخص می‌شود. میزان باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در تانک شیر یک مشخصه بسیار خوب و قابل قبولی برای ارزیابی وضعیت گله است. چون به طور کلی سویه‌های موجود این باکتری در پستان همان سویه‌هایی است که در تانک شیر وجود دارند. همچنین این باکتری از پستان سرچشمه می‌گیرند، نه اینکه از محیط بیایند.

باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در دوران خشکی

باکتری استرپتوکوکوس یوبریس شایعترین عامل عفونت جدید در دوران خشکی، بخصوص در دو هفته اول و دو هفته آخر دوران خشکی است. این عفونت‌ها به صورت خاموش در پستان باقی می‌مانند تا یک ورم پستان بالینی را در ابتدای دوره شیردهی ایجاد نمایند. بنابراین استفاده از پماد حاوی آنتی‌بیوتیک در زمان خشک کردن الاوها (Dry cow therapy)، و رعایت بهداشت محیط برای کنترل آنها بسیار اهمیت دارد. یک بررسی (Wil-*et al.*, 1995) نشان داد که ۱۲٫۳ درصد از گاوهای شاهد (عدم استفاده از پماد حاوی آنتی‌بیوتیک برای آنها) در زمان زایمان به استرپتوکوکوس یوبریس عفونی شده بودند، در حالی که برای گاوهایی که پماد

حاوی آنتی بیوتیک در زمان خشک کردن آنها استفاده شده بود، فقط ۱,۲ درصد از کارته‌های آنها عفونی بودند. در مورد عفونتهای دوران خشکی در ادامه همین بخش به طور مفصل بحث می‌گردد.

موارد وقوع بیماری در مرتع

گاهی اوقات ورم پستانهای ناشی از باکتری استرپتوکوکوس یوبریس در مرتع بخصوص در تابستان رخ می‌دهد. محتملترین دلیل آن، بخصوص در تابستان این است که شب هنگام گاوها اغلب همانجایی می‌خوابند که روز می‌خوابند، لذا این عفونتها می‌توانند ایجاد گردند. به همین دلیل بسیار منطقی است که برای جلوگیری از ایجاد عفونت، هر دوهفته یکبار گاوها را جابجا نماییم و به آنها اجازه ندهیم که حداقل برای مدت دو هفته و ترجیحا چهار هفته، به آن قسمتی که قبلا چرا می‌کردند، برگردند. دیگر عواملی که باعث می‌شوند این عفونت در مرتع رخ بدهد، انتقال سویه‌های مزمن ('chronic' strains) باکتری در بین گاوها است. چون گاوها برای دفع حشرات اقدام به لیسیدن سرپستانک خود می‌کنند و با این کار عفونتهای دهانی به سرپستانک گاوها منتقل می‌شود.

واکسیناسیون بر علیه باکتری استرپتوکوکوس یوبریس

به دلیل اینکه سویه‌های متنوعی از باکتری استرپتوکوکوس یوبریس وجود دارد، لذا بسیار مهم است که ما بتوانیم یک آنتی ژنی را پیدا کنیم که در همه سویه‌ها وجود داشته باشد. آقای Leigh در سال ۲۰۰۰ توانست اکثر سویه‌هایی که آنزیم PauA را تولید می‌کنند، بیابد. این آنزیم می‌تواند ماده پلاسمینوژن را فعال سازد. لذا با انجام این کار، کارژین و دیگر مواد مغذی از شیر آزاد می‌گردند، این مواد رشد باکتری را امکان پذیر می‌کنند. به طور تجربی یک واکسن بر علیه آنزیم PauA تولید شده است که بر چندین سویه از این باکتری تاثیر داشته است، بدون اینکه باعث افزایش گلبولهای سفید (PMNs) در داخل پستان شود. البته تا این تاریخ هیچ واکسن تجاری در دسترس نیست.

عفونتهای دوران خشکی

عفونتهای دوران خشکی در اپیدمیولوژی پاتوژنهای محیطی مثل اشریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس بسیار مهم است. این عفونتها در طول دوران خشکی اغلب به صورت خاموش باقی می‌مانند (به صورت تحت بالینی)، اما آنها از مهمترین عوامل ایجاد ورم پستان بالینی در چند ماه اول دوره شیردهی بعدی می‌باشند. برای درک کامل این فرایند لازم است که ریز اتفاقاتی که در دوران خشکی رخ می‌دهد را بدانیم. در قسمتهای بعدی این بخش تغییراتی که در دوره خشکی در پستان رخ می‌دهد، زمانی که عفونت رخ می‌دهد، فاکتورهای محیطی و یا دیگر فاکتورهایی که منجر به افزایش میزان عفونتهای جدید می‌گردد و پاسخ سیستم ایمنی و راههایی که گاو برای غلبه بر عفونتهای جدید به کار می‌برد، توضیح داده شده است.

فازهای دوره خشکی

سه فاز مختلف در دوره خشکی وجود دارد:

۱- دو هفته اول: کانال سرپستانک به تدریج بسته می‌شود و یک پلمپ از جنس کراتین و چربی در داخل فضای کانال تشکیل می‌شود که پلمپ سرپستانک (teat seal) را تشکیل می‌دهد. آلودگیهای پستان (بافت ترشح کننده شیر) هم به تدریج کوچک (regress) می‌شود.

۲- فاز استراحت و یا مدت زمان میانی دوره خشکی: در این مرحله بافت ترشحي پستان در حالت خاموش (dormant) به سر می‌برد و یک سری مواد مهار کننده طبیعی مثل لاکتوفرین (lactoferrin)، نوتروفیلها (neutrophils)، آنزیم N-acetylglucosaminidase (NAGase) و البته آنتی بادیها و یا ایمونوگلوبولینها

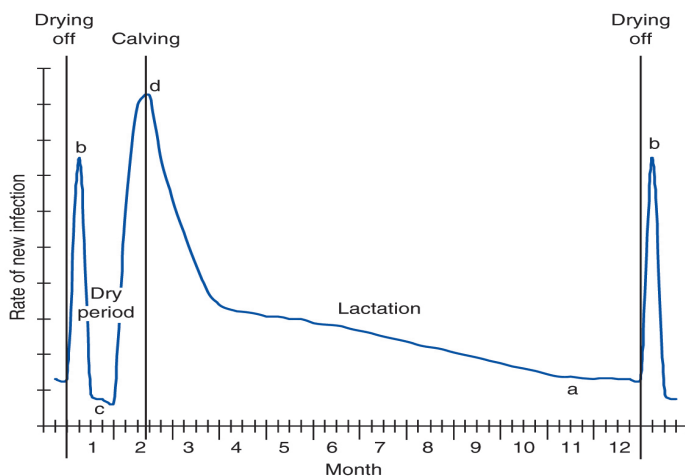
به خصوص در پایان مرحله استراحت، ساخته می‌شوند.

۳- دو هفته آخر دوره خشکی قبل از زایمان: بافت‌های جدید ترش‌چی (آلوتولهای جدید در پستان) تشکیل می‌شوند و پلمپ کراتینی (keratin plug) به تدریج تحلیل می‌رود و پستان برای شروع دوره شیردهی آماده می‌گردد.

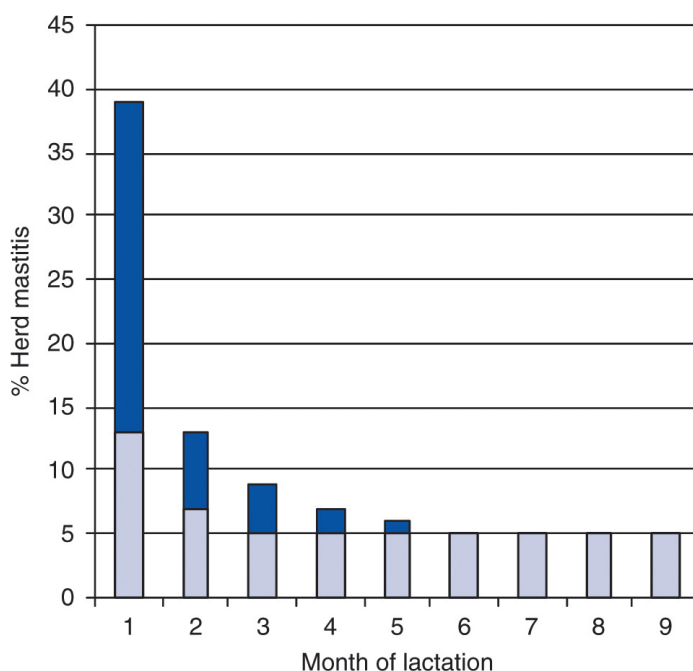
در دو هفته اول و دو هفته آخر خشکی، وقتی که پلمپ کراتینی (keratin plug) کانال سرپستانک در حال تشکیل شدن و بعداً در حال تحلیل رفتن است، گاو به عفونت‌های جدید پستانی بسیار حساس می‌باشد. این قضیه در نمودار شماره ۳-۴ نشان داده شده است. این نمودار نشان می‌دهد گاوهایی که در اواخر دوره شیردهی می‌باشند (a)، فقط به میزان کمی به عفونت‌های جدید مبتلا می‌شوند. اما بلافاصله بعد از خشک کردن گاو، عفونت‌های جدید به میزان بسیار زیاد افزایش می‌یابد (b). هرچند که در این مرحله، عفونت‌های جدید به موارد بالینی تبدیل نمی‌شوند. در دوره میانی خشکی (c)، میزان عفونت‌های جدید بسیار کم است و بسیاری از عفونت‌هایی که از قبل وجود داشته است در این مرحله حذف می‌گردند. حداکثر میزان عفونت‌های جدید درست قبل و بعد از زایمان در مرحله (d) رخ می‌دهد. درست در زمانی که پلمپ کراتینی داخل کانال سرپستانک در حال تحلیل رفتن است و شیر در داخل پستان شروع به ترشح و جمع شدن می‌کند. بنابراین دوره زمانی قبل و بعد از زایمان، زمانی است که ریسک بسیار زیادی برای ابتلا به عفونت‌های جدید دوره خشکی وجود دارد و مدیریت گاو در این زمانی بایستی در بالاترین حد خود باشد.

همانطور که در بالا هم ذکر شد، این عفونت‌های جدید در دوره خشکی به بیماری (ورم پستان بالینی) تبدیل نمی‌شوند. اکثر این عفونت‌ها در پستان به صورت خاموش باقی می‌مانند و تا ابتدای دوره شیردهی، به شکل بیماری بالینی بروز نمی‌نمایند. در نمودار ۴-۴ می‌توان دید که اکثر موارد جدید ورم پستان در ۴ هفته اول دوره شیردهی ایجاد می‌شود و ۶۰ درصد این موارد بالینی از عفونت‌هایی که در دوره خشکی ایجاد شده است، ناشی می‌شوند. این مهم علی‌رغم استفاده از پمادهای حاوی آنتی‌بیوتیک در زمان خشکی، رخ داده است. بایستی یادآور شد که عفونت‌های دوره خشکی آنقدر ادامه می‌یابند که می‌توانند تا ماه پنجم بعد از زایمان هم باعث بروز ورم پستان‌های بالینی گردند.

نمودار ۳-۴- این نمودار شیوع عفونت‌های جدید داخل پستانی را در طول یک دوره شیردهی نشان می‌دهد. در اواخر دوره شیردهی میزان این عفونت‌ها کم است. درست بعد از شروع دوره خشکی، میزان این عفونت‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش یافته و دوباره در اواسط دوره خشکی این میزان کاهش می‌یابد و دوباره در حول و حوش زایمان به اوج خود می‌رسد (Green *et al.*, 2002).



نمودار شماره ۴-۴ - عفونتهای جدیدی که گاوها در دوره خشکی به آن مبتلا شده‌اند، در نهایت در ۴ ماه اول بعد از زایمان به ورم پستانهای بالینی منجر می‌شود. ستونهای آبی روشن نشان دهنده ورم پستانهای بالینی ناشی شده از عفونتهای دوره شیردهی (lactation) و ستونهای آبی تیره نشان دهنده ورم پستانهایی است که از عفونتهای دوره خشکی ناشی شده است (Green *et al.*, 2002).



مرحله‌ای که پلمپ کراتینی در داخل کانال سرپستانک در دو هفته اول خشک کردن گاو تشکیل می‌شود در بالا توضیح داده شد. متأسفانه بسیاری از گاوها پلمپ کراتینی خوبی را در کانال سرپستانک تشکیل نمی‌دهند و در این گاوها، ریسک ابتلا به عفونتهای جدید بیشتر است. آقای Woolford در سال ۱۹۹۸ در نیوزیلند نشان داد که ۹۷ درصد عفونتهای ورم پستان دوره خشکی در کارتیلهایی تشکیل شده است که باز بوده‌اند (کارتیلهایی که نتوانستند پلمپ سرپستانک خوبی را تشکیل دهند). تشکیل تدریجی و آهسته پلمپ سرپستانک در نمودار ۴-۵ نشان داده شده است. حتی ۴۵ روز بعد از خشک کردن گاوها هنوز ۲۵ درصد سرپستانکها یک پلمپ موثر و خوبی را تشکیل نداده‌اند، لذا هنوز آنها باز بوده‌اند.

تأثیر عملی پلمپ سرپستانک متغیر بوده و به فاکتورهای زیر بستگی دارد:

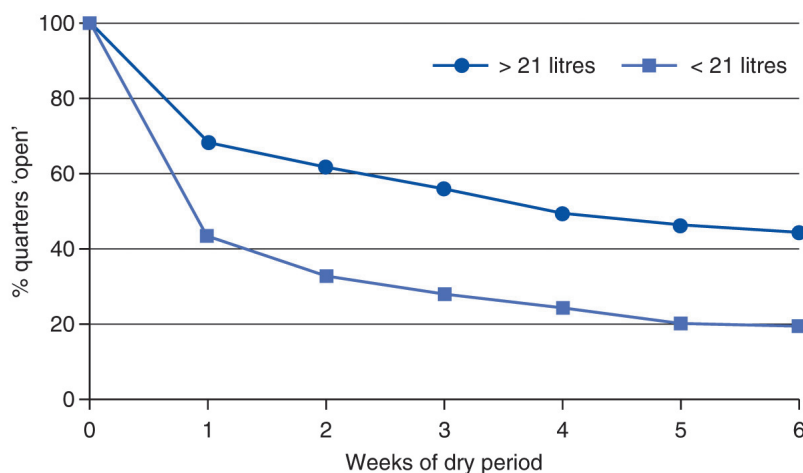
۱- میزان تولید کلی گاوها: گاوهایی که دارای تولید شیر بالاتری هستند، پلمپ تشکیل شده توسط آنها کمتر موثر واقع می‌شود.

۲- میزان جریان شیر و یا سرعت خروج شیر از پستان: گاوهایی که شیر خود را سریع خالی می‌کنند (Fast milkers)، پلمپ تشکیل شده توسط آنها کمتر موثر واقع می‌شود و اینها بیشتر نشتی شیر دارند. برای مثال در یک بررسی که در هلند در سال ۱۹۹۳ توسط آقای Schukken انجام شد، نشان داده شد گاوهایی که دارای نشتی شیر هستند، در دوران خشکی چهار برابر بیشتر به ورم پستان مبتلا می‌شوند.

۳- میزان تولید شیر در زمان خشک کردن گاو: گاوهایی که در زمان خشک کردن شیر زیادتری تولید می‌کنند، ریسک تشکیل پلمپ کراتینی غیر موثر توسط آنها بیشتر است. آقای Dingwell در سال ۲۰۰۴ در

آمریکا نشان داد که عفونتهای جدید تشکیل شده در گاوهایی که در زمان خشک کردن آنها بیش از ۲۱ کیلو گرم شیر تولید می کردند ۲۶ درصد بوده است. اما گاوهایی که در زمان خشک کردن مقدار شیر آنها کمتر از ۱۳ کیلوگرم بوده، میزان عفونتهای جدید تشکیل شده در آنها فقط ۱۶ درصد بوده است. در سال ۱۹۹۸ آقایان Bradley و Green نشان دادند که به ازای هر یک لیتر شیر اضافی که گاوها در زمان خشک کردن تولید می نمایند، ریسک عفونتهای جدید دوران خشکی در آنها ۶ درصد افزایش می یابد. بنابراین حتما لازم است قبل از خشک کردن گاوها، میزان تولید شیر گاوها کاهش یابد. این کار با اعمال مدیریت صحیح و تغذیه درست امکان پذیر است. اما این کار نبایستی با یک بار دوشیدن گاو در روز و یا یک روز در میان دوشیدن انجام شود.

نمودار ۴-۵- تشکیل پلمپ کراتینی، اگر چه پلمپ کراتینی یک مکانیسم بسیار موثر در بسته شدن سرپستانک است، متأسفانه بسیاری از گاوها یک پلمپ موثر را تشکیل نمی دهند. این حالت بخصوص در گاوهای پر تولید و گاوهایی که نوک سرپستانک آنها آسیب دیده و گاوهایی که در زمان خشکی هنوز تولید شیر زیادی دارند دیده می شود (Dingwell *et al.*, 2002).



۴- آسیب به نوک سرپستانک: در سال ۲۰۰۴ آقای Dingwell نشان داد گاوهایی که دارای آسیب قابل توجهی در نوک سرپستانک خود هستند، ۱٫۷ برابر بیشتر به عفونت جدید دوره خشکی مبتلا می شوند. بنابراین آسیب نوک سرپستانکها یک ریسک فاکتور برای مبتلا شدن گاوها به ورم پستان هم در دوره خشکی و هم در دوره شیردهی می باشد.

۵- درمان گاوهای خشک (Dry cow therapy): در سال ۱۹۹۸ آقای Woolford نشان داد گاوهایی که در زمان خشکی دو بار درمان شده اند (DCT)، پلمپ کراتینی خوبی را تشکیل داده اند. احتمالاً دلیل آن این است که میکروبیهای موجود در کانال سرپستانک باعث تجزیه کراتین می شوند و با انجام درمان گاوهای خشک این میکروبها از بین می روند و پلمپ موثرتری تشکیل می گردد.

روش صحیح خشک کردن گاوها در بخش ۱۲ بحث شده است. علاوه بر فاکتورهای فوق، فاکتورهای مهم دیگری برای کاهش عفونتهای دوره خشکی وجود دارد که عبارتند از: ۱- استفاده از آنتی بیوتیک برای درمان عفونتها در زمان خشکی ۲- استفاده از پلمپ سنتزی داخلی و خارجی سرپستانک (internal and external synthetic teat sealants) ۳- مدیریت محیط. این موضوعات با تفصیل بیشتر در بخشهای ۸ و ۱۲ مورد بحث قرار گرفته است.

پاسخ سیستم ایمنی میزبان

برای درک این موضوع یک بررسی توسط Green و Bradley در سال ۱۹۹۸ انجام شد. از ۱۲۰۰ کارتیه‌ای که در دوره خشکی بودند، نمونه‌گیری شد. ۱۵۴ کارتیه خشک به عفونت کلی فرمی مبتلا بودند و ۱۳ عدد (۸,۴ درصد) از این کارتیه‌های مبتلا، شکل بالینی ورم پستان (ناشی از همان میکروب) را در دوره شیردهی بعدی خود نشان دادند. در مقابل، از ۱۰۴۳ کارتیه که در دوران خشکی عفونی نبودند، فقط ۱۵ کارتیه (۱,۴ درصد) شکل بالینی ورم پستان کلی فرمی را در دوره شیردهی بعدی نشان دادند.

بنابراین کارتیه‌هایی که در دوران خشکی به فرم تحت بالینی و یا نهفته عفونت کلی فرمی مبتلا هستند، شش برابر بیشتر از کارتیه‌های سالم، می‌توانند فرم بالینی ورم پستان کلی فرمی را باعث گردند. با مطالعه DNA باکتری‌ها مشخص شد همان میکروب‌هایی که مسبب ورم پستان زمان خشکی بودند، به دوره شیردهی بعدی هم منتقل شده‌اند. در حقیقت بیش از ۵۰ درصد موارد بالینی ورم پستان‌های کلی فرمی که در اوایل دوره شیردهی دیده می‌شود، ناشی از عفونت‌های دوران خشکی می‌باشد. بنابراین در زمان بررسی دلایل ورم پستان در گله بایستی به محیط زندگی گاوهای خشک، مدیریت و شرایط بهداشتی تجویز پمادهای حاوی آنتی‌بیوتیک در زمان خشک کردن گاوها دقت زیادی شود. کاملاً منطقی به نظر می‌رسد که بایستی از آنتی‌بیوتیکی استفاده نمود که بر علیه کلی فرمها کاملاً موثر باشد و شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد آنتی‌بیوتیک فرامایستین (framycetin) تاثیر بیشتری داشته است.

هرچند که شاید یکی از جالب‌ترین مشخصات عفونت‌های زمان خشکی، تعداد موارد ورم پستان‌های بالینی منشاء گرفته از دوران خشکی نباشد، بلکه تعداد عفونت‌های جدیدی باشد که به طور خودبخودی بهبود یافته‌اند. بر همین اساس می‌توان مشاهده کرد که فقط ۸,۴ درصد از کارتیه‌های عفونی در دوران خشکی، فرم ورم پستان بالینی را در دوره شیردهی بعدی نشان داده‌اند و بیش از ۹۰ درصد از آنها بهبود یافته‌اند. فاکتور مهم این است که گاوداران گاو شیریری متوجه شوند که چه عواملی بر سیستم ایمنی تاثیر گذار بوده که باعث شده است ۹۱,۶ درصد گاوهای مبتلا بهبود یابند. شکی وجود ندارد که مدیریت و استرس بخشی از این فاکتور هستند. در یک بررسی که در سال ۲۰۰۳ در هلند بر روی موارد ورم پستان‌های توکسیک (toxic mastitis) توسط Menzies انجام شد، مشخص شد که گاوهای مبتلا به تب شیر، ۲۳ برابر بیشتر به ورم پستان توکسیک مبتلا می‌شوند. ضمناً گاوهایی که در زمان زایمان به آنها کمک می‌شود (دچار سخت زایی بوده‌اند) نیز ۱۱ برابر بیشتر به ورم پستان توکسیک مبتلا می‌شوند. کاملاً مشخص شده است که سیستم ایمنی همه گاوها در دو هفته قبل از زایمان و دو هفته بعد از زایمان، سرکوب شده و حساسیت بسیار بیشتری به بیماریها دارند. میزان سرکوب سیستم ایمنی را می‌توان با اندازه‌گیری سرعت پاسخ نوتروفیل‌ها به تهاجم باکتریها تخمین زد و راندمان سیستم ایمنی را از طریق نوتروفیل‌های انتخاب شده که از دیواره مویرگ در پاسخ به التهاب خارج شده‌اند را حدس زد (شکل ۴-۳). دلایل فرضی که برای این کاهش پاسخ سیستم ایمنی ارائه شده است عبارتند از:

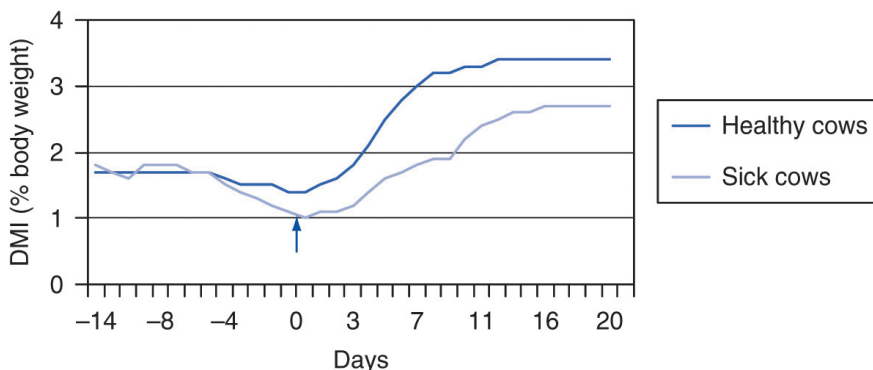
- ۱- چون جنین از نظر آنتی ژنی با مادر خود متفاوت است، این احتمال وجود دارد که نشستی مایعات جنینی به داخل جریان خون مادر منجر به واکنش ازدیاد حساسیت (hypersensitivity reaction) شود. لذا کاهش سیستم ایمنی احتمال این واکنش ازدیاد حساسیت و بروز مشکل را کم می‌کند.
- ۲- به دلیل ایجاد صدمه و آسیب به کانال زایمان گاو در حین زایمان، واکنش ایمنی می‌تواند مشکل‌زا باشد که کاهش سیستم ایمنی این مشکل را کاهش می‌دهد.
- ۳- انتقال آنتی بادیها به آغوز ممکن است باعث کاهش آنتی بادیهای موجود در جریان خون مادر شده باشد. این کار باعث کاهش سیستم ایمنی بدن گاو می‌شود.

تاثیر میزان مواد خشک دریافتی از طریق غذا

همه گاوداران به خوبی به اهمیت میزان غذایی که یک گاو بعد از زایمان دریافت می‌کند، واقف هستند و می‌دانند

که یکی از مهمترین فاکتورهایی که بر روی وضعیت سیستم ایمنی گاو موثر است، میزان غذایی است که گاو در این مرحله (بعد از زایمان) دریافت می کند. تقریباً دو هفته قبل از زایمان، میزان ماده خشک دریافتی (DMI) گاوها شروع به کاهش می کند. به طوریکه میزان ماده خشک دریافتی از حدود $2/5$ درصد وزن بدن گاو به کمتر از 2 درصد وزن بدن او می رسد، یعنی یک گاو 600 کیلوپی روزانه فقط می تواند 10 تا 12 کیلوگرم غذا بخورد. (نمودار ۴-۶).

نمودار ۴-۶ - کاهش دریافت غذا در زمان زایمان. همه گاوها یک کاهش دریافت ماده خشک (DMI) را در حول و حوش زمان زایمان تجربه می کنند (↑). گاوهایی که دارای افت بیشتری در دریافت ماده خشک غذایی هستند و آنهایی که در اوایل شیردهی، دیرتر به دریافت غذای کافی برمی گردند، ابتدا به اختلالات متابولیکی مثل تب شیر، جفت ماندگی، کتوز، جابجایی شیردان و ورم پستان را بیشتر تجربه می کنند.



در روز زایمان نیز میزان نشخوار گاو کم شده و یا کلاً متوقف می گردد که این کار مجدداً خود منجر به کاهش دریافت غذا می گردد. وجود مقادیر زیاد قطعات بزرگ فیبر در جیره غذایی باعث شروع مجدد فعالیت شکمبه و بالتبع دریافت بیشتر غذا می گردد. گاوهایی که همچنان از قبل به دریافت میزان کافی غذا ادامه می دهند و همچنین گاوهایی که به سرعت بعد از زایمان، دریافت غذا را مجدداً شروع می کنند، ظاهراً کمتر به اختلالات متابولیکی مانند تب شیر، متريت، کتوز، جابجایی شیردان، کیستهای تخمدانی و البته ورم پستان مبتلا می شوند. گاوهایی که خیلی چاق هستند، میزان ماده خشک دریافتی (DMI) آنها کمتر است و لذا آنها به اختلالات متابولیکی و ورم پستان بیشتر مبتلا می شوند. با این تعریف، می توان ورم پستان را حتی یک بیماری متابولیکی در نظر گرفت، چون تعداد بسیار زیادی از گاوها با پاتوژنهای ورم پستان عفونی می شوند اما فقط تعداد کمی از آنها مبتلا شده و شکل بالینی ورم پستان را نشان می دهند.

کوتاه بودن مدت زمان خشکی گاو

همه گاوداران می دانند که اگر گاوی به مدت خیلی طولانی خشک باشد، بعد از زایمان ریسک بالایی به گرفتن ورم پستان و دیگر بیماریهای متابولیکی دارد. قبلاً مدت ۸ هفته را یک زمان ایده آل برای زمان خشکی در نظر می گرفتند، اما اخیراً بررسی ها نشان داده است که اگر این زمان به ۵ تا ۶ هفته و یا کمتر کاهش یابد بسیار مفیدتر است. منظور از مدت زمان کوتاه تر این است که این گاو می تواند ۲ تا ۳ هفته بیشتر شیر بدهد و همین امر سبب می گردد که این گاو به همان میزان کمتر به مشکلات متابولیکی (metabolic shutdown) دچار گردد. شواهدی وجود دارد که نشان می دهد هر دو گروه گاوهایی که طول دوره خشکی طولانی مدت و یا کوتاه مدت داشته اند، در دوره شیر دهی بعدی دارای شمارش سلولی بیشتری بوده اند. اما گروهی که طول دوره خشکی آنها کوتاه مدت بوده است، دارای ریسک کمتری در ابتلا به ورم پستان بالینی هستند.

عوامل ایجاد کننده ورم پستان که کمتر متداول هستند

۱- سویه‌های مختلف جنس باسیلوس (*Bacillus species*)

منظور از سویه‌های مختلف جنس باسیلوس، باسیل‌های گرم مثبتی هستند که بعضی از آنها قدرت همولیز گلبول قرمز را دارند (haemolytic) و بعضی این قدرت را ندارند (non-haemolytic) و بر روی محیط کشت خوندار (blood agar) پراکنه‌های بزرگ، خشن (rough) و خشک (flaky) را ایجاد می‌کنند.

دو سویه معمول از جنس باسیلوس که ایجاد ورم پستان می‌کنند، عبارتند از: ۱- باسیلوس سرئوس ۲- باسیلوس لیچنی فورمیس. برای کشت این باکتریها، در زمان نمونه‌گیری بایستی بسیار دقت کرد. چون سویه‌های مختلف جنس باسیلوس می‌توانند از طریق آلودگی کانال سرپستانک وارد نمونه شوند که هیچ ارتباطی با ورم پستان ندارند. حتما ضروری است که ۴ تا ۶ دوشش اول پستان، قبل از نمونه‌گیری دور ریخته شود.

باسیلوس سرئوس (*Bacillus cereus*)

به طور کلاسیک این باکتری با پس مانده‌های آلوده غلات مورد استفاده برای آبجو سازی مرتبط است و می‌تواند ورم پستان حاد قانقرايایی را ایجاد نماید (تصاویر ۳-۴ تا ۶-۴). همچنین عفونت ناشی از آنها می‌تواند در اثر آلودگی پمادهای مورد استفاده در زمان خشک کردن گاوها که قبل از استفاده در ظرف آب گرم قرار داده می‌شود (تا برای تزریق راحت‌تر باشد) ایجاد گردد. باکتریهای (از جمله پزودوموناس‌ها) که در این مرحله وارد پستان می‌شوند، ممکن است آنقدر در پستان باقی بمانند تا اینکه بعد از خشک کردن گاو و یا گاهی اوقات در زایمان بعدی ایجاد ورم پستان نمایند.

باسیلوس لیچنی فورمیس (*Bacillus licheniformis*)

این باکتری یک میکروب محیطی بوده و اگر گاوها (خصوصا گاوهای حساس) روی سیلوهای فاسدی که کنار آخور ریخته می‌شوند بخوابند، دچار ورم پستان می‌شوند. این حالت بخصوص در مورد سیلوی ذرت صادق است، چونکه تخمیر ثانویه سریعتری نسبت به انواع دیگر سیلوها در آن رخ می‌دهد، لذا می‌تواند یک بستر گرمی را برای گاوها فراهم نماید. عدم راحتی کافی در داخل خوابگاه، باعث می‌شود گاوهایی بیشتری در محیط بیرون خوابگاه بخوابند، لذا ممکن است درگیر عفونت ورم پستان شوند. همچنین عفونتهای بالا رونده باسیلوس لیچنی فورمیس در داخل واژن (آلودگی ناشی از محیط بیرون) ممکن است منجر به افزایش آندومتريت (گاوهای سفید) شود که خود باعث کاهش میزان گیرایی و بعدا باعث سقط جنین در گاوها گردد.

از نظر بالینی ورم پستان‌های ناشی از سویه‌های جنس باسیلوس، اغلب کارتی‌های سفت همراه با لخته‌های سفید را ایجاد می‌کند. بعلاوه علی‌رغم اینکه در اغلب تستهای حساسیت (آنتی بیوگرام)، تعداد زیادی از آنتی‌بیوتیک‌ها را مشخص می‌کند که بایستی بر باکتری اثر نماید، ولی اغلب در عمل، پاسخ دارویی ناامید کننده‌ای دارند.

مخمرها، قارچها و کپکها

مخمرها، قارچها و کپکها دارای رشد آهسته‌ای بر روی محیط خوندار هستند ولی بر روی محیط کشت سابوراد (Sabouraud's) به بهترین شکل رشد می‌کنند. کاندیدا (Candida) و پروتوتیکا (Prototheca) نمونه‌هایی از مخمرها بوده و اسپریلوس (Aspergillus) نمونه متداول عفونت قارچی است. در گسترش تهنیه شده از مخمرها در زیر میکروسکوپ، آنها به شکل میکروب گرم مثبت بطری شکل دیده می‌شوند.

مخمرها و کپکها میکروبهای متداول محیطی هستند. اگر کلش مورد استفاده برای بستر و یا دیگر بسترهای مورد استفاده خیس و کپک زده باشد و یا در محیط بیرون انبار شده باشد، ممکن است عامل ایجاد کننده ورم پستان شوند. ورم پستانهای ناشی از مخمرها ممکن است به دلیل: ۱- خوابیدن تعداد زیادی گاو در محیط بیرون خوابگاه ۲- اتصال دستگاه شیردوش به پستان بدون خشک کردن سرپستانک گاوها بعد از شستن، ایجاد شود. این حالت بخصوص در مواردی که آب آلوده و غیر بهداشتی باشد، صادق است. در گاوداریهایی که سرپستانک خیس یک مشکل می‌باشد، آلودگی زیاد سرپستانکها منجر به آلودگی تانک شیر می‌گردد.

ممکن است میکروبهای (سویه‌های مختلف کاندیدا *Candida*) از گروه مخمرها، (آسپرژیلوس فومیگاتوس *Aspergillus fumigatus*) از گروه قارچها و یا (پروتوتیکا زوفی *Prototheca zopfii*) از گروه جلبکها از کشت تانک شیر و یا کشت نمونه‌های موارد ورم پستان بالینی بدست بیاید.

از نظر بالینی این نوع ورم پستان به صورت کارتیه متورم، سفت و داغ همراه با لخته‌های بزرگ شیر و سفید رنگ دیده می‌شود. ممکن است گاو تب دار باشد (بخصوص ورم پستان‌های ناشی از مخمری مثل کاندیدا). به طور کلی درمان این نوع ورم پستان با آنتی‌بیوتیک بی تاثیر است، چون قارچها و مخمرها به آنتی‌بیوتیکها پاسخ نمی‌دهند. گزارش شده است که پاسخ خوبی با تزریق روزانه داخل پستانی ۶۰ تا ۱۰۰ میلی لیتر از یک ترکیب به مدت ۲ تا ۳ روز بدست آمده است. این ترکیب شامل ۱٫۸ گرم کریستال ید (iodine crystals) است که در ۲ لیتر پارافین حل شده و به این محلول ۲۳ میلی لیتر اتر هم اضافه شده است. ولی بعد از گذشت ۶ تا ۸ ساعت از هر بار تزریق، بایستی مواد تزریق شده به داخل پستان را با دوشیدن خالی کرد، وگرنه خود ید می‌تواند تحریک خیلی زیادی را در پستان ایجاد کرده و خودش عامل یک التهاب گردد. همراه با انجام درمان فوق، گاهی اوقات تزریق وریدی یدور سدیم و یا تجویز خوراکی یدور پتاسیم پاسخ به درمان را بهبود می‌بخشد. البته چون این محلول، فاقد مجوز استفاده می‌باشد (چون این روش درمانی به عنوان درمان غیر مجاز و یا off label محسوب می‌گردد)، بایستی مدت زمان مشخصی به صورت استاندارد شیر دوشیده شده را دور ریخت.

عوامل نسبتاً نادر ایجاد کننده ورم پستان

لیست زیر شامل میکروبهای کم اهمیت ایجاد کننده ورم پستان هستند:
Arcanobacterium pyogenes: این میکروب در بخش ۱۳ تحت عنوان ورم پستان تابستانه مورد بحث قرار می‌گیرد.

Corynebacterium bovis: این میکروب می‌تواند ایجاد ورم پستان تحت بالینی کرده و شمارش سلولی شیر را افزایش دهد. این میکروب را با ضد عفونی بد و یا دیر هنگام سرپستانک در بعد از دوشش مرتبط می‌دانند. حتی ممکن است این میکروب از کانال سرپستانک جدا شود، در حالی که با ورم پستان ایجاد شده مرتبط نیست. *Streptococcus faecalis*: این باکتری در مدفوع گاو وجود داشته و یک باکتری معمول آلوده کننده نمونه‌ها محسوب می‌گردد. ولی می‌تواند عامل ورم پستان باشد به شرطی که فقط این باکتری در کشت نمونه به صورت کشت خالص جدا شده باشد.

Leptospira hardjo: این باکتری را همراه با سقط جنین و کاهش تولید شیر به عنوان بخشی از مشکلات ناشی از کمپلکس لپتوسپیروز می‌دانند. کشت این باکتری بسیار مشکل است.
Nocardia asteroides: از مشخصات عفونت ناشی از آن، ایجاد کارتیه‌های خیلی سخت و پاسخ ضعیف به آنتی‌بیوتیک می‌باشد.

Streptococcus zooepidemicus.

سویه‌های *Pasteurella/Mannheimia*: اینها میکروبهای محیطی هستند. ایجاد ورم پستان ناشی از این میکروب‌ها را با گذاشتن پمادهای حاوی آنتی‌بیوتیک مورد استفاده برای خشک کردن گاوها در سطل آب گرم آلوده جهت گرم شدن پمادها، برای تزریق داخل پستان مرتبط می‌دانند.
سویه‌های *Serratia*: آنها می‌توانند هم در گاوهای خشک و هم در گاوهای دوشا ایجاد ورم پستان نمایند. چندین سویه از آن وجود دارد، ولی سویه *S. Marcescens* از همه شایعتر است. تصور می‌شود سویه‌هایی که فاقد رنگدانه هستند از سویه‌های دارای رنگدانه، بیماریزاتر باشند.

Salmonella: ممکن است از نظر بهداشت انسانی مشکل ساز باشد.
Corynebacterium ulcerans: ممکن است از نظر بهداشت انسانی مانند گلو درد مشکل ساز شود.
Listeria monocytogenes: ممکن است از نظر بهداشت انسانی مشکل ساز باشد و با ساخت پنی‌های

نرم مرتبط است (باعث نرم شدن پنیر می شود).

Mycobacterium smegmatis

Yersinia pseudotuberculosis: عامل عفونت معمول پرندگان وحشی بخصوص سارها می باشد.

Haemophilus somnus

برای کسب اطلاعات بیشتر در مورد این میکروبها، بایستی متون تخصصی را مورد مطالعه قرار داد (به بخش برای مطالعه بیشتر و یا Further Reading در آخر کتاب مراجعه شود).

کشت شیر برای تشخیص باکتری

برای تشخیص پاتوژن ایجاد کننده ورم پستان، به عنوان یک روش استاندارد بایستی قبل از هرگونه اقدام درمانی، شیر ورم پستانی را کشت داد. مهمترین دلایل انجام این کار عبارتند از:

۱- کاملاً واضح و مبرهن است که قبل از کنترل و رفع مشکل ورم پستان، شما بایستی بدانید با چه میکروبی روبرو هستید. این موضوع به دلیل اختلافات اپیدمیولوژی میکروبهای ایجاد کننده ورم پستان و بالتبع اجرای روشهای کنترلی متفاوت برای ورم پستانهای محیطی و مسری می باشد.

۲- همچنین اطلاع از نوع میکروب می تواند در زمان تصمیم گیری و تعیین استراتژی های درمانی به شما کمک کند. برای مثال در زمان وجود عفونت خیلی زیاد استرپتوکوکوس آگالاکتیه در گله، ممکن است روش درمانی بلیتز (blitz) برای کنترل ورم پستان در نظر گرفته شود و یا در زمان عفونت مزمن استافیلوکوکوس آئوروس، حذف گاوها راه حل کنترل بیماری باشد. این موضوع به تفصیل در قسمت درمان در بخش ۱۲ مورد بحث قرار گرفته است.

۳- همچنین دانستن نوع میکروب درگیر به شما در تشخیص اینکه آیا عامل ایجاد کننده ورم پستان باعث مشکلات بار میکروبی حال حاضر گله (زمان نمونه برداری) است و یا نیست، کمک می کند.

روش نمونه برداری از شیر

چگونگی نتایج (و بالتبع ارزش هزینه های انجام شده) نمونه های که به آزمایشگاه تحویل داده می شود، به میزان بسیار زیاد بستگی به کیفیت نمونه اخذ شده اولیه از پستان دارد. اغلب نوک سرپستانک به انواع میکروب های محیطی به شدت آلوده است و انواع میکروب های همزیست به طور طبیعی در نوک سرپستانک زندگی می کنند. البته این میکروبها، ضرورتاً عامل ایجاد کننده ورم پستان نیستند. حتی ممکن است بعضی از آنها به سطوح خارجی کانال سرپستانک هم نفوذ کنند. برای تشخیص اینکه کدام باکتری عامل ایجاد ورم پستان بوده است، نمونه ها بایستی با دقت بسیار زیاد اخذ شوند. اگر نمونه گیری مطابق روش زیر انجام شود، نتایج خوبی را می توان بدست آورد.

۱- از تمیز بودن دست فرد نمونه بردار مطمئن شوید. در صورت نیاز دستها را شسته و خشک کنید و یا دستکش تمیز بپوشید.

۲- اگر ظاهر سرپستانک کثیف است، آنرا شسته و به طور کامل خشک کنید.

۳- چهار تا شش دوشش اول سرپستانک را بدوشید و به دور بریزید، این کار باعث شستشوی کانال سرپستانک از باکتری هایی که عامل ورم پستان نیستند می شود.

۴- ضد عفونی قبل از دوشش را انجام داده و سرپستانک را خشک کنید.

۵- با استفاده از یک پنبه آغشته به الکل طبی (surgical spirit) و یا مواد مشابه، به طور کامل نوک سرپستانک را تمیز و ضد عفونی نمایید. این کار را آنقدر ادامه دهید که پنبه الکل مورد استفاده برای ضد عفونی سرپستانک، دیگر کثیف نشود. در این مرحله فقط درب ظرف نمونه برداری (لوله آزمایش) را بردارید.

۶- ظرف نمونه برداری را با زاویه ۴۵ درجه و یا کمتر در دست بگیرید و یک بار سرپستانک را به طور مورب

به داخل ظرف بدوشید. اگر ظرف به طور عمودی گرفته شود، ریسک زیادی وجود دارد که گرد و غبار و یا ذراتی که از پستان در حین دوشیدن، می افتد وارد ظرف نمونه شود. یک دوشش خوب برای نمونه کافی است. لازم نیست که ظرف نمونه برداری پر شود.

۷- درب ظرف را بسته و بر روی آن برچسب بزنید و اطلاعاتی را مثل شماره گاو، کارتیه مبتلا، تاریخ و نام گاوداری را روی برچسب یادداشت کنید.

۸- تا زمان انتقال نمونه به آزمایشگاه آن را در یخچال (4°C) نگهداری کنید. ایده آل این است که نمونه ها را در کمتر از ۶۰ تا ۹۰ دقیقه بعد از نمونه برداری کشت داد، با این کار بهترین نتیجه حاصل می شود. نگهداری نمونه ها تا ۷۲ ساعت در دمای یخچال 4°C قابل قبول است. منجمد کردن نمونه ها باعث کاهش تعداد بعضی از میکروبها (به خصوص کلی فرمها) می شود، اما باز هم می توان نتایج مفیدی بدست آورد. در صورت امکان نمونه ها را در کنار یخ به آزمایشگاه حمل کنید.

کشت نمونه ها در آزمایشگاه و انکوباسیون آنها

نمونه های شیر را بر روی محیط های کشت، کشت دهید. این محیط های کشت حاوی مواد خاصی (مثل خون) هستند که غذای لازم برای رشد باکتریها را فراهم می نمایند.

روش ها و تکنیکهای مختلفی برای کشت باکتریها وجود دارد که بر حسب نیازهای مختلف از انواع آنها استفاده می شود. روش و پروتوکل که در ادامه توضیح داده خواهد شد، توسط مولفین به طور رایج مورد استفاده قرار می گیرد. چون نیازهای کاری و عملی دامپزشکان را بر طرف می کند. اگرچه این روش و پروتوکل ارزانترین روش نیست، ولی با سرعت نسبتاً خوبی امکان تشخیص گروه های (میکروبهای) اصلی عوامل ورم پستان را فراهم می نماید.

۱- نمونه ها را حداقل تا درجه حرارت اتاق گرم کنید تا گلبول های چربی تجزیه شوند، لذا باکتریهای به دام افتاده توسط این مولکولها آزاد می شوند.

۲- با استفاده از یک سواب استریل پنبه ای شیر را بر روی محیط کشت اولیه کشت دهید. یک لوپ استاندارد ۷ میلی متری مخصوص کشت باکتریولوژی، فقط می تواند حاوی ۰.۰۵ میلی لیتر شیر باشد و این میزان شیر آنقدر کم است که می تواند باعث گم شدن و از دست دادن میکروبهای عامل ورم پستان در نمونه هایی که حاوی تعداد بسیار کمی باکتری هستند، گردد (مثلاً نمونه های شیری که کمتر از ۲۰ عدد باکتری در هر میلی لیتر آنها وجود دارد).

۳- نمونه های شیر را بر روی محیط های کشت زیر کشت دهید:

الف - آگار خوندار گوسفندی (Sheep blood agar)،

ب - آگار مک کانکی (MacConkey)،

ج - آگار ادواردز (Edwards)،

د - آگار سابوراد (Sabouraud)، اگر به عوامل قارچی و یا به مخمر و یا کپک مشکوک هستید، شیر را بر روی این محیط هم کشت دهید (هرچند که این میکروبها بر روی محیط خوندار هم به آهستگی رشد می کنند).

۴- پلیت های کشت داده شده را در انکوباتور 37°C قرار دهید و بعد از ۲۴ ساعت و دوباره ۴۸ ساعت بعد گذاشتن پلیت ها در انکوباتور، آنها را بازدید کنید.

۵- با انجام رنگ آمیزی گرم از پرگنه ها و یا کلنی ها، شکل میکروبها و اینکه گرم - مثبت و یا گرم - منفی هستند را مشخص کنید.

باکتریها به روشهای مختلف تقسیم بندی و یا تفریق می شوند، از نظر ظاهر پرگنه (کلنی) آنها بر روی محیط کشت، اندازه آنها، شکل آنها و رنگ گرفتن آنها در یک رنگ آمیزی، مثل رنگ گرم. برای مثال:

بر اساس شکل:

الف - اکثر باکتری‌هایی که به شکل کروی (cocci) هستند، یا استافیلوکوکوس و یا استرپتوکوکوس هستند. ب- بعضی به شکل میله‌ای کوتاه (rods یا bacilli) هستند مثل باسیلوس سرئوس.

بر اساس رنگ گرم باکتری‌ها:

الف - گرم مثبت هستند، به رنگ بنفش تیره مثل استافیلوکوکوس و یا استرپتوکوکوس. ب - گرم منفی هستند، به رنگ صورتی مثل اش‌ریشیا کولی، پاستورلا و یا یزدوموناسها. باسیلها اغلب گرم منفی هستند (ولی نه همیشه، سوبه‌های جنس باسیلوس (*Bacillus species*) گرم مثبت است) و باکتری‌های کروی شکل اغلب گرم مثبت هستند. زمانی که می‌خواهیم میکروبهای مختلف را از نظر حساسیت به آنتی‌بیوتیک مقایسه کنیم، تفریق و تقسیم بندی بین باکتری‌های گرم - مثبت و گرم - منفی بسیار اهمیت دارد.

بر اساس همولیز (Haemolysis):

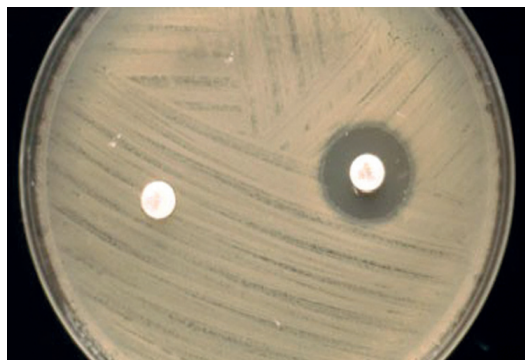
بعضی از باکتری‌ها خون را تجزیه کرده و یک حلقه همولیز و یا ناحیه شفاف در خون اطراف پرگنه‌های (کلنی) رشد کرده خود بر روی محیط کشت ایجاد می‌کنند (تصویر ۱-۴).

۶- تست‌های تشخیص تفریقی مفید باکتریولوژی دیگری را نیز انجام دهید مثل تست‌های: کوآگولاز (Coagulase)، اکسیداز (Oxidase)، کاتالاز (Catalase).

تست تعیین حساسیت به آنتی‌بیوتیک (آنتی بیوگرام)

یک پرگنه (کلنی) را از محیط کشت اصلی انتخاب کنید و آنرا به یک ظرف حاوی محیط کشت مایع (آبگوشت) اضافه کنید، آنرا برای مدت ۴ تا ۶ ساعت در انکوباتور قرار دهید تا تعداد باکتری‌های داخل آن افزایش یابد. سپس این را به روی سطح یک محیط کشت (آگار) دوم بریزید. باکتری‌ها باید به طور یکنواخت بر روی سطح محیط کشت دوم هم رشد کنند.

دیسک‌های کوچک کاغذی که هر کدام دارای یک آنتی‌بیوتیک خاص هستند، بر روی سطح محیط کشت دوم قرار دهید و پتری دیش‌ها را برای مدت ۲۴ ساعت دیگر در انکوباتور قرار دهید. اگر باکتری تا لبه دیسک رشد کرده باشد (همانند آنتی‌بیوتیک سمت چپ تصویر ۱۱-۴)، به این معنی است که این آنتی‌بیوتیک برای درمان این باکتری موثر نخواهد بود. در سمت راست تصویر، آنتی‌بیوتیک از دیسک در محیط اطراف دیسک در محیط کشت (آگار) نفوذ کرده است. بنابراین یک منطقه شفاف در اثر عدم رشد باکتری‌ها و یا مهار باکتری‌ها (growth inhibition) در اطراف این دیسک ایجاد گردیده است. اندازه این منطقه (zone) مهار رشد باکتری‌ها، نشان دهنده میزان کارایی و موثر بودن این آنتی‌بیوتیک در بدن خود گاو نیست، اما می‌تواند نشان دهنده غلظت آنتی‌بیوتیک در دیسک و راحتی نفوذ آن در داخل محیط کشت و یا آگار باشد. فاکتورهای دیگری که به کارایی و راندمان آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط می‌باشد در بخش ۱۲ مورد بحث قرار گرفته است.



تصویر ۱۱-۴ - پتری دیش تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیک: فقط آنتی‌بیوتیکی که یک منطقه مهار (zone) و یا عدم رشد باکتری را در اطراف دیسک (سمت راست) ایجاد نموده است، در درمان این عفونت موثر خواهد بود.

تفسیر نتایج

حتی زمانی که باکتری رشد کرده و تشخیص داده شده است، اغلب یک مخلوطی از چند باکتری بدست آمده است و ممکن است هنوز مشکلات زیادی در تعیین باکتری اصلی (عامل عفونت) وجود داشته باشد. راهنمای کلی به ترتیب زیر است:

۱- یک کشت خالص (pure culture) از هر پاتوژن عامل ورم پستان آمده باشد، به احتمال بسیار قوی این باکتری همان عامل اصلی ورم پستان است.

۲- یک کشت مخلوط (mixed culture)، برای مثال الف - ترکیبی از استافیلوکوکوس آئوروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه به اضافه باکتریهای دیگری مثل استرپتوکوکوس فیکالیس و یاب - ترکیبی از اشیریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس به اضافه میکروبهای دیگری بدست آمده باشد.

در مثالهای فوق (از کشت‌های مخلوط) ترکیبی از استافیلوکوکوس آئوروس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه و یا ترکیب اشیریشیا کولی و استرپتوکوکوس یوبریس به احتمال بسیار زیاد عوامل اصلی ورم پستان هستند و میکروبهای دیگر آلودگی محسوب می‌گردند. در هر نمونه‌ای که میزان زیادی استافیلوکوکوس آئوروس و یا استرپتوکوکوس آگالاکتیه وجود داشته باشد، بایستی این میکروبها را به عنوان عوامل اصلی ورم پستان در نظر گرفت.

۳- یک کشت ناشی از آلودگی (contaminant)، حاوی باکتریهای مثل اشیریشیا کولی، سویه‌های جنس باسیلوس، پروتئوس و استرپتوکوکوس فیکالیس بدست آمده باشد. همه اینها باکتریهای محیطی هستند. باکتریهای بسیار زیادی در نمونه‌های اخذ شده شیر وجود دارد که به وضوح نشان دهنده آلودگی شدید زمان نمونه‌برداری است و هیچ اطلاعات مفیدی را نمی‌توان از آنها بدست آورد.

۴- هیچ میکروبی رشد نکرده باشد. در هر آزمایشگاهی ممکن است انتظار این باشد که در کشت ۲۵ تا ۳۵ درصد از نمونه‌های شیر هیچ میکروبی رشد نکند، و یا میکروب مهمی رشد نکند. این نتیجه اغلب برای دامدار خیلی نا امید کننده است، چون ممکن است او نمونه را با دقت بسیار زیاد از گاوی که کاملاً دارای ورم پستان بالینی بوده است، (مثلاً دارای یک کارتیبه سفت و متورم بوده است و یا مرتب این گاو دارای شیر حاوی لخته بوده است) اخذ کرده باشد. دلایل احتمالی عدم رشد باکتری عبارتند از:

الف - عفونت کلی فرمی و یا ناشی از اشیریشیا کولی، پاسخ میزبان بر علیه این باکتریها آنقدر موثر است که همه باکتریها در طی زمانی که پستان تغییرات قابل مشاهده‌ای داشته است (ناشی از عفونت)، از بین رفته‌اند (بخش سوم). مشخص شده است که متداول‌ترین دلیل عدم رشد، این موضوع باشد.

ب - دفع متناوب، مثلاً در عفونتهای مزمن استافیلوکوکی و یا عفونت ناشی از استرپتوکوکوس یوبریس، تعداد باکتری موجود در نمونه شیر در زمانهای مختلف عفونت، بسیار متغیر است. لذا ممکن است در زمان نمونه‌گیری، تعداد میکروبهای موجود در نمونه شیر بسیار کم باشد و یا تعداد آنها قابل تشخیص نباشد (جدول ۴-۵).

ج - هنوز بقایای آنتی‌بیوتیکی از زمان درمان قبلی موجود است که از رشد باکتریها در آزمایشگاه جلوگیری می‌کند.

د - تاخیر و فاصله زمانی خیلی زیاد بین زمان نمونه‌گیری و زمان کشت نمونه ها.

ه - داغ بودن خیلی زیاد لوپ (وسیله کشت باکتریها).

و - حجم نمونه خیلی کم بوده باشد (لذا توصیه می‌شود از سواب استفاده ننماید).

ز - وجود میکروبهای غیر معمول در شیر که با روشهای معمول و استاندارد غیر قابل تشخیص هستند مانند مایکوپلاسما و لپتوسپیروز.

ح - ورم پستان ناشی از ضربه و یا ناشی از ازدیاد حساسیت که هیچ عامل عفونی باعث آن نشده باشد، این حالت احتمالاً نادر است.

شمارش کلی باکتریها (Total Bacterial Count)، شمارش و یا تعداد باکتریها بعد از پاستوریزاسیون شیر در آزمایشگاه و شمارش کلی فرمها

بعید به نظر می‌رسد که دامداران با خواندن این کتاب، بخواهند کارهای باکتریولوژی خود را خود انجام بدهند. هرچند برای کسانی که با کارهای تحقیقاتی ورم پستان و آزمایشگاهی سر و کار دارند، توانایی انجام کارهای باکتریولوژی و شمارش باکتریها بعد از پاستوریزاسیون و شمارش کلی فرمها کار با ارزشی نیست. جزئیات مربوط به تفسیر نتایج در بخش دهم (در قسمت شمارش کلی باکتریها و باکتریواسکن) ارائه شده است.

شمارش کلی باکتریها (TBC) و یا بار میکروبی شیر

این شمارش به معنی تعداد و یا شمارش کلی باکتریهای زنده موجود در یک میلی لیتر شیر است، که گاهی اوقات به آن تعداد و یا شمارش کل باکتریهای زنده (TVC یا total viable count) هم گفته می‌شود. در حال حاضر بعضی از شرکت‌های لبنی انگلیسی فقط شیرهایی را قبول می‌کنند که شمارش باکتریواسکن آنها کمتر از ۳۰,۰۰۰ باکتری در هر میلی لیتر شیر باشد، و گرنه برای شیرهایی که میکروب بیشتری دارند، جرایمی را اعمال می‌کنند. شمارش کلی باکتریها (TBC) در شیر شامل باکتریهای گرما دوست (thermodurics)، کلی فرمها و بسیاری از دیگر باکتریها می‌شود. دلایل بالا بودن شمارش کلی باکتریها (TBCs) در شیر و میکروبهای درگیر به تفصیل در بخش دهم بحث شده است.

شمارش باکتریها بعد از عمل پاستوریزاسیون در آزمایشگاه (LPC)

همچنین به آن شمارش باکتریهای گرمادوست (TD) هم گفته می‌شود. این فاکتور به تعداد و یا شمارش باکتریهای زنده موجود در شیر، بعد از حرارت دادن نمونه شیر اطلاق می‌شود. بالا بودن شمارش و یا تعداد باکتریهای گرمادوست نمونه شیر، نشان دهنده شستشوی بد و ضعیف دستگاه شیردوش است.

شمارش کلی فرمها (CC)

به تعداد کلی فرمها در هر میلی لیتر شیر گفته می‌شود. بالا بودن شمارش کلی فرمها معمولاً با کثیف بودن سرپستانکها (آلودگی به مدفوع) ارتباط دارد. این تعداد (CC)، زمانی که شرایط نگهداری و جایگاه گاوها مناسب نباشد و یا آماده سازی و شستشوی سرپستانکها قبل از شیردوشی مناسب نباشد، افزایش می‌یابد.

شمارش پزودوموناسها (Pseudomonad count)

سویه‌های مختلف پزودوموناسها، کلی فرمهای محیطی هستند که بعضی اوقات به آن کلی فرمهای غیر تخمیر کننده لاکتوز و یا NLFs هم گفته می‌شود. این میکروبها، به عنوان شاخص آلودگی محیطی مثلاً آلودگی با مدفوع به حساب می‌آید.

شمارش و یا تعداد باکتری استرپتوکوکوس یوبریس (Streptococcus uberis count)

بالا بودن میزان باکتری استرپتوکوکوس یوبریس می‌تواند به دلیل آلودگی محیطی و یا به احتمال قویتر به دلیل وارد شدن شیر ورم پستانی به تانک شیر باشد. مورد آخر ممکن است به دلیل عفونتهای تحت بالینی و یا تشخیص ضعیف موارد ورم پستان بالینی در گله باشد.

شمارش کل استافیلوکوکها و شمارش استافیلوکوکوس ائوروس (Staphylococcus aureus)

میزان بالای استافیلوکوکها ممکن است به دلیل عفونت مزمن، ضد عفونی ضعیف و بد سرپستانکها بعد از دوشش و یا وضعیت بد پوست سرپستانک باشد.

تعداد و یا شمارش تفریقی (Differential count)

این یک شاخص نیمه کمی برای ارزیابی نسبت انواع مختلف باکتریهای مولد ورم پستان در نمونه شیر می‌باشد. این شاخص می‌تواند هم به بررسی عوامل ورم پستان و هم به شناسایی مشکلات شمارش کلی باکتریها (TBC) کمک کند. برای مثال اگر باکتری استرپتوکوکوس آگلالاتیه در تانک شیر وجود داشته باشد، این می‌تواند هم باعث افزایش شمارش کلی باکتریها (TBC) و هم بالا رفتن شمارش سلولهای سوماتیک شیر شود. اگرچه این جمله را باید به خاطر داشت که عدم وجود باکتری استرپتوکوکوس آگلالاتیه (و یا دیگر

میکروبهایی ایجاد کننده ورم پستان) در تانک شیر به معنی عدم وجود آنها در گله نیست. این فقط به این معنی است که این میکروبها از کشت این مرتبه نمونه شیر جدا نشده است.

روش کار

این بسیار حیاتی است که نمونه‌ها در حین انتقال به آزمایشگاه، در شرایط یخچال قرار داشته باشند. در غیر اینصورت شمارش کلی باکتریها (TBCs) و دیگر شمارش‌ها به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش می‌یابد. به منظور بدست آوردن نتایج خوب بایستی روشهای زیر اجرا گردد:

شمارش کلی باکتریها (Total bacterial count)

ابتدا نمونه شیر را به نسبت یک به هزار رقیق کنید (با اضافه کردن ۰.۰۱ میلی لیتر شیر در ۱۰ میلی لیتر محلول رینگر)، سپس یک سی سی از این محلول را با پیپت در یک پتری دیش بریزید. بعد ۲۰ میلی لیتر از آگار شیر (milk agar) به آن اضافه کنید. سپس آنرا تا دمای ۴۵ درجه سانتیگراد سرد نمایید. اجازه بدهید که این محیط منجمد شود و بعد آنرا در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت انکوباسیون نمایید. تعداد پرگنه‌های (کلنی‌ها) تشکیل شده را بشمارید. شمارش کلی باکتریها (TBC) با ضرب کردن تعداد کلنی‌ها در عدد ۱۰۰۰ به دست می‌آید.

شمارش باکتریهای گرمادوست (Thermotolerant count)

۱۰ میلی لیتر شیر را برای مدت ۳۵ دقیقه در دمای $64 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ گرم کنید. بعد آنرا سرد کرده و با محلول رینگر (Ringer's solution) به نسبت ۱ به ۱۰ رقیق نمایید. یک میلی لیتر از شیر رقیق شده را با پیپت به یک پتری دیش منتقل نمایید و ۲۰ میلی لیتر آگار شیر را به آن اضافه کرده و سپس پتری دیش را تا دمای ۴۵ درجه سانتیگراد سرد نمایید. بعد آنرا به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوباسیون نموده و تعداد کلنی‌ها را همانند بالا بشمارید. تعداد باکتریهای گرمادوست برابر است با تعداد کلنی‌های تشکیل شده ضربدر ۱۰. اگر تعداد این باکتریها از ۲۰۰ عدد در هر میلی لیتر شیر بیشتر بود، به این معنی است که یک مشکلی در شستشو (پستان و یا دستگاه) وجود دارد.

شمارش کلی فرمها (Coliform count)

با پیپت یک میلی لیتر شیر رقیق نشده را در داخل دو پتری دیش بریزید. بعد ۲۰ میلی لیتر از آگار (محیط کشت) صفرای قرمز ویوله که تا ۴۵ درجه سرد شده است را به هر کدام از پتری دیشها اضافه نمایید. آنها را در دمای ۳۷ درجه انکوباسیون نموده و تعداد کلنی‌های تشکیل شده را بعد از ۲۴ و ۴۸ ساعت بشمارید. به طور ایده‌آل این است که شمارش کلی فرمها باید کمتر از ۱۰ کلنی در هر میلی لیتر شیر باشد، هرچند که تا تعداد ۲۰ کلنی در هر میلی لیتر شیر هم قابل قبول است.