DOI: 10.22092/VJ.2022.356975.1915
شماره ۱۳۷ زمستان ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده‌های بیولوژیک

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از موارد ورم پستان گاو

• **آرام شریفی(نویسنده مسئول)**
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، کردستان، ایران
• **کیوان سبحانی**
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، کردستان، ایران
• **امجد فرزین‌پور**
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، کردستان، ایران
• **اسعد وزیری**
گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، کردستان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۶-۰۹-۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: ۰۲-۱۱-۱۴۰۰
Emali: A.sharifi@uok.ac.ir

چکیده

ورم‌پستان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های صنعت دامپروری می‌باشد که عامل ایجاد ضررهای اقتصادی فراوانی است. یکی از عوامل عفونی ایجادکننده ورم‌پستان باکتری استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشد. با توجه به شیوع مقاومت آنتی‌بیوتیکی در جدایه‌های این باکتری، هدف از انجام مطالعه حاضر تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیک استافیلوکوکوس اورئوس‌های اخذ شده از موارد ورم‌پستان گاو می‌باشد. این مطالعه در ۷ گاوداری‌های صنعتی اطراف همدان انجام شد. نمونه‌گیری از شیر دام‌های مبتلا به ورم‌پستان بر اساس وجود علایم بالینی انجام شد. مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه های شیر روی محیط‌های کشت اختصاصی و تفریقی کشت داده شدند و با توجه به ویژگی‌های باکتری استافیلوکوکوس اورئوس روی این محیط‌ها، باکتری جداسازی شد. استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده با تست PCR برای ژن اختصاصی جنس و گونه (femA) تایید شدند. الگوی مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مختلف توسط روش دیسک دیفیوژن بررسی و نتایج بر حسب استاندارد CLSI گزارش گردید. در مطالعه حاضر از مجموع ۲۸۰ نمونه شیر اخذ شده از ۷ گاوداری صنعتی، جمعا ۵۳ (۱۸/۹۲٪) باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شد. بر اساس نتایج به دست آمده بیشترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین (۱۰۰٪ مقاوم) و بیشترین حساسیت نسبت به ونکومایسین (۲ مورد مقاوم (۳/۷ ٪)) گزارش گردید. نتایج این تست نشان داد که از ۵۳ باکتری، ۷ مورد (۱۳/۲۰٪) دارای مقاومت حدواسط نسبت به ونکومایسین بودند. گزارش مقاومت بالا نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های معمول در مطالعه حاضر بسیار حائز اهمیت می‌باشد؛ همچنین مشاهده ۷ مورد مقاومت حدواسط و یک مورد مقاومت کامل نسبت به ونکومایسین، هشدار جدی برای شیوع سویه‌های دامی مقاوم به ونکومایسن است.

کلمات کلیدی: ورم پستان، استافیلوکوکوس اورئوس، مقاومت آنتی‌بیوتیکی

Veterinary Researches & Biological Products No 137 pp: 68-73

Evaluation of antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis

By: Sharifi, A., (Corresponding Author) Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran. Sobhani, K., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran. Farzinpour, A., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran. and Vaziry, A., Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandaj, Kurdistan, Iran.

Received: 2021-12-07 **Accepted: 2022-01-22**

Emali: A.sharifi@uok.ac.ir

Mastitis is one of the most important diseases in the livestock industry, which causes many economic losses. Staphylococcus aureus is one of the infectious agents of bovine mastitis. Due to the prevalence of antibiotic resistance in isolates of this bacterium, the aim of this study was to determine the antibiotic resistance pattern of bovine mastitis S. aureus isolates. This study was conducted in 7 industrial farms around Hamedan. The amount of 100 µl milk samples were cultured on the specific and differential culture media and according to the characteristics of S. aureus on these media, the bacteria were isolated. Isolated bacteria were confirmed by PCR test for genus and species specific gene (femA). Then, the antibiotic resistance patterns to different antibiotics were investigated by disk diffusion method and the results were reported according to the CLSI standard. In the present study, from a total of 280 milk samples taken from 7 industrial farms, a total of 53 (18.92%) S. aureus bacteria were isolated. Based on the results, the highest resistance was related to penicillin (100% resistant) and the highest sensitivity was related to the vancomycin (2 cases resistant (3.7%)). The results of this test showed that out of 53 bacteria, 7 (13.20%) had intermediate resistance to vancomycin. The report of high resistance to common antibiotics in this study is very important. Also, the observation of 7 cases of intermediate resistance and one case of complete resistance to vancomycin is a serious warning for the emergence of vancomycin-resistant animal strains.

Keywords: Mastitis, *Staphylococcus aureus,* Antibiotic resistance

مقدمه

ورم‌پستان (Mastitis) به التهاب غده‌ی پستانی گفته می‌شود که می‌تواند بر اثر صدمات فیزیکی مانند ضربه به بافت پستان، تحریک‌های شیمیایی و عفونت ایجاد شود. متداول‌ترین نوع ورم پستان حالت عفونی آن می‌باشد که به وسیله باکتری‌ها ایجاد می‌شود. این بیماری یکی از مهم‌ترین عوامل ضرررسان به صنعت دام می‌باشد. ضررهای اقتصادی ناشی از آن شامل کاهش کمیت و کیفیت شیر تولیدی، هزینه‌های درمان دام مبتلا به ورم پستان و دامپزشک و حتی حذف دام مبتلا می‌باشد (۱).

بر اساس علایم بالینی ورم‌پستان را به دو دسته‌ی عمده تحت بالینی (Subclinical) و بالینی (Clinical) تقسیم کرده‌اند. حالت بالینی با تغییرات غیرطبیعی قابل مشاهده‌ای مانند تورم، قرمزی و گرمی در پستان و نیز حضور لخته و ترشحات غیرمعمول داخل شیر همراه است. برخلاف این نوع ورم پستان در حالت تحت بالینی، بافت پستان و ظاهر شیر طبیعی هستند اما میزان لکوسیت‌های شیر (سلول‌های سوماتیک شیر) افزایش یافته و همچنین عوامل پاتوژن ایجادکننده ورم پستان در شیر حضور دارند. این نوع ورم پستان به وسیله آزمایشاتی که اساس آن‌ها شمارش سلول‌های سوماتیک شیر است را می‌توان تشخیص داد. از جمله مهم‌ترین این آزمایشات می‌توان به تست ورم پستان کالیفورنیایی (California Mastitis Test (CMT)) و تست شمارش سلول‌های سوماتیک (Somatic Cell Count (SCC)) اشاره کرد (۱۱, ۱۵).

ورم پستان عفونی بر اساس عوامل ایجادکننده به دو دسته اصلی واگیردار (Contagious) و محیطی (Environmental) تقسیم می شوند. عوامل ایجادکننده ورم پستان واگیردار مانند استافیلوکوکوس اورئوس و استرپتوکوکوس آگالاکتیه از دام آلوده به راحتی به دام سالم منتقل می‌شوند و منبع این نوع ارگانیسم‌ها خود دام می‌باشد؛ در صورتی که در حالت ورم پستان محیطی (مانند اشریشیا کلی و استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه) انتقال بیماری از یک دام به دام دیگر به ندرت اتفاق افتاده و منبع عفونت محیط می‌باشد (۳, ۱۱).

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از عوامل مهم ایجادکننده ورم پستان واگیردار می‌باشد. ورم پستان ایجاد شده توسط این ارگانیسم می‌تواند در دام‌های مختلف ایجاد گردد. مطالعات قبلی نشان داده‌اند که آلودگی با این باکتری می‌تواند باعث کاهش ۴۵ درصدی شیر تولیدی از کارتیه درگیر شود. استافیلوکوکوس اورئوس می‌تواند انواع مختلف ورم پستان مانند فرم تحت بالینی و انواع مختلف فرم‌های بالینی (حاد، تحت حاد و مزمن) را ایجاد کند. در ورم پستان ایجاد شده توسط عوامل عفونی باکتری می‌تواند از طریق شیر دفع شده و متعاقبا وارد سیستم غذایی

گردد (۹).

مطالعات اخیر نشان می‌دهند که استافیلوکوکوس اورئوس‌های جدا شده از انواع ورم‌پستان (بالینی و تحت بالینی) نسبت به بسیاری از آنتی‌بیوتیک‌های معمول مورد استفاده در دامپزشکی مقاومت بالایی کسب کرده‌اند. به عنوان مثال آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین که قبلا به عنوان خط اول درمان ورم پستان مورد استفاده قرار می‌گرفت امروزه به یکی از کم‌اثرترین آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان این بیماری تبدیل شده است؛ چراکه مطالعات زیادی وجود دارد که میزان مقاومت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس را نسبت به پنی‌سیلین بالای ۹۰٪ گزارش کرده‌اند (۵, ۹). از آنجایی که باکتری مولد ورم پستان می‌تواند از طریق شیر و سایر فرآورده‌های لبنی به انسان منتقل شود، مقاومت بالای آنتی‌بیوتیکی در عوامل مسبب ورم پستان می‌تواند برای انسان بسیار خطرناک باشد و باعث ظهور سویه‌های مقاوم به چند دارو (Multiple drug resistance) شود (۱۲).

با توجه به مطالب مذکور و بخصوص اهمیت باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به عنوان عامل ایجادکننده ورم پستان در دام‌ها، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی میزان حضور باکتری استافیلوکوکوس اورئوس در شیر اخذ شده از گاوهای مبتلا به ورم پستان و همچنین بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی این جدایه‌ها می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری و جداسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس

در مطالعه حاضر در مجموع ۲۸۰ نمونه شیر از ۷ گاوداری صنعتی اطراف همدان مورد بررسی قرار گرفت. نمونه‌گیری به مدت یک سال (از بهار ۱۳۹۸ تا زمستان ۱۳۹۸) از گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی انجام شد. تشخیص فرم بالینی ورم پستان بر اساس علایم بالینی مانند تورم و افزایش دمای بافت پستان، تغییر الگوی حرکتی دام ناشی از درد پستان، لاغر و بی‌اشتهایی دام، تغییر محسوس کمیت و کیفیت شیر یا قطع کامل شیر و با تشخیص دامپزشک انجام شد. همچنین گاوهایی مورد درمان آنتی‌بیوتیکی (هم درمان داخل پستانی و هم درمان سیستمیک) قرار گرفته بودند از مطالعه حذف شدند. پس از اخذ شیر از دام‌های مشکوک به ورم پستان بالینی، مقداری از نمونه شیر جهت تست ورم پستان کالیفرنیا (California Mastitis Test (CMT)) مورد استفاده قرار گرفت و نمونه‌های مثبت در تست CMT جهت آزمایشات بیشتر و تست‌های باکتری‌شناسی به آزمایشگاه منتقل شدند.

از نمونه‌های مورد بررسی جمعا ۵۳ باکتری استافیلوکوکوس اورئوس جداسازی شد. جهت جداسازی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس از نمونه‌های شیر، پس از هم زدن شیر، میزان ۱۰۰ میکرولیتر از نمونه‌های شیر بر روی محیط کشت بلاد آگار تلقیح گردید؛ سپس نمونه شیر تلقیح شده به صورت کشت چهار منطقه‌ای بر روی محیط پخش شد. محیط‌های کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند. سپس بر اساس مورفولوژی کلنی و همچنین الگوی همولیز باکتری‌های مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس بر روی محیط جدید به صورت خالص تجدید کشت داده شدند. بعد از رشد کلنی‌های مشکوک جهت تست‌های بعدی انتخاب شدند. از جمله تست‌های مورد استفاده جهت تشخیص اولیه باکتری رنگ‌آمیزی گرم، تست کاتالاز و اکسیداز و کواگولاز بود. باکتری‌های کوکسی گرم مثبت که کاتالاز قوی و کواگولاز مثبت و اکسیداز منفی بودند روی محیط کشت مانیتول سالت آگار (MSA) و DNase Agar انتقال داده شدند. تشخیص بیوشیمیایی باکتری با کشت روی این دو محیط افتراقی انجام گرفت (۱۱). باکتری‌هایی که به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس شناسایی شدند برای تایید نهایی برای تست PCR آماده شدند.

جدایه مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس با تست‌های فنوتیپی (کشت و روش‌های بیوشیمیایی)، به وسیله تعیین حضور ژن femA با تکنیک PCR تایید شدند. پرایمرها به صورت '۵-AACTTAGGATTTGAACATACTGGA-۳' و '۵-GACGTTTACCTTCTTCAATCTT-۳' و سیکل‌هایی دمایی مورد استفاده جهت PCR به این صورت بود: واسرشت اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه و سپس ۳۰ سیکل حرارتی (واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، اتصال در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه) انجام شد (۱۰).

جدایه‌های تایید شده جهت ذخیره‌سازی در محیط TSB کشت داده شدند. سپس از محیط کشت TSB حاوی باکتری با گلیسرول استریل به نسبت ۷۰ به ۳۰ (حجمی- حجمی) مخلوط شده و در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سویه‌های کنترل مثبت و کنترل منفی جهت تست‌های انجام شده از مرکز کلکسیون میکروارگانیسم‌های صنعتی ایران (PTCC) تهیه گردید.

تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس

بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی با روش آگار دیسک دیفیوژن (Kirby-Bauer) روی محیط مولر هینتون آگار (Merck, Germany) طبق دستورالعمل انستیتوی استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)) انجام شد. آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی شامل پنی‌سیلین، اکسی‌تتراسایکلین، انروفلوکساسین، سیپروفلوکساسین، آزیترومایسین، فورازولیدون، کلیندامایسن، ونکومایسین و متی‌سیلین بودند. از آنجایی که امکان انتقال عوامل باکتریایی ورم پستان گاوی از طریق شیر و فرآورده‌های لبنی به انسان هم وجود دارد؛ لذا بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی این عوامل به آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده در طب انسانی هم بسیار حائز اهمیت می‌باشد؛ بر همین اساس تعدادی از آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی در مطالعه حاضر جزء آنتی‌بیوتیک‌های انسانی بودند.

برای انجام آزمایش ابتدا تک کلنی خالص رشد یافته روی محیط TSA به محیط کشت TSB منتقل شده و پس از انکوباسیون ۲۴ ساعته، با PBS استریل کدورت محیط کشت معادل نیم مکفارلند شد. سپس از این رقت، با سواپ استریل به صورت چمنی روی محیط مولر هینتون آگار کشت انجام شد. در ادامه، دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی با فاصله روی محیط قرار داده شدند. پلیت‌های محیط کشت به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شدند و سپس هاله عدم رشد بر حسب میلی‌متر گزارش گردید. سپس مطابق جدول گزارش شده توسط CLSI برای باکتری

استافیلوکوکوس اورئوس، جدایه‌ها بر حسب هر کدام از آنتی بیوتیک‌های بررسی شده، به سه گروه حساس، نیمه حساس و مقاوم تقسیم‌بندی شدند (۴).

نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که در مجموع از ۲۸۰ نمونه شیر مورد بررسی اخذ شده از گاوهای مبتلا به ورم پستان، ۱۰۵ (۳۷/۵٪) نمونه واجد باکتری گرم مثبت بودند. از بین باکتری‌های گرم مثبت، بیشترین موارد مربوط به کوکسی‌های گرم مثبت (مشکوک به استافیلوکوکوس و استرپتوکوکوس) بود. همچنین ۴۴ نمونه واجد باکتری گرم منفی بودند که ۳۷ مورد آن‌ها باکتری اشریشیا کلی بودند. از آنجایی که هدف مطالعه حاضر بررسی مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتری استافیلوکوکوس اورئوس بود، بقیه مراحل کار شامل جداسازی جنس و گونه و تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی فقط برای باکتری‌های استافیلوکوکوس اورئوس انجام شد.

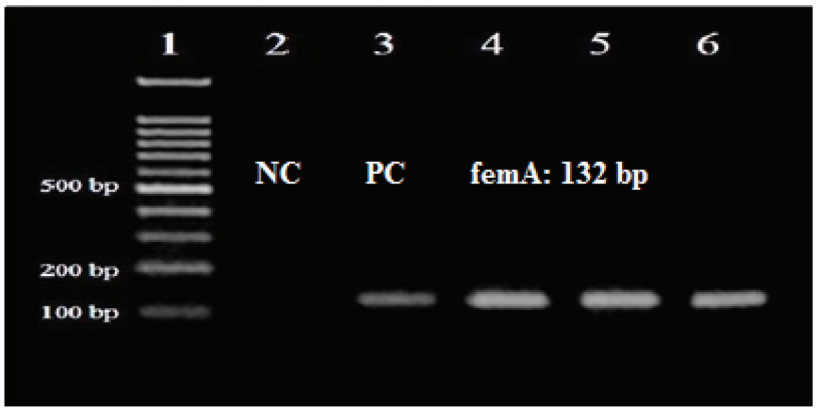
در مورد تعداد باکتری جدا شده به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس، نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بر اساس تست‌های کشت و بیوشیمیایی ۵۸ جدایه به عنوان استافیلوکوکوس اورئوس تشخیص داده شدند که از این تعداد ۵۳ مورد در تست PCR تایید شدند (شکل ۱). در جدول ۱ نتایج مربوط به تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی نشان داده شده است. همان طور که قابل مشاهده است بیشتری مقاومت مربوط به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین (۱۰۰٪) و کمترین مقاومت مربوط به ونکومایسین (۳/۷۷٪) می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

استافیلوکوکوس اورئوس یکی از بیشترین باکتری‌های موجود روی پوست و غشاهای مخاطی می‌باشد. این باکتری فراوان‌ترین عامل ایجاد ورم‌پستان بالینی و تحت بالینی می‌باشد و طی شیردهی می‌تواند از طریق شیر دفع شود. بنابراین شیر و همچنین سایر محصولات لبنی می‌توانند به عنوان عامل انتقال باکتری استافیلوکوکوس اورئوس به انسان عمل کنند (۹).

جهت جداسازی این باکتری از شیر دام مبتلا به ورم پستان از محیط‌های کشت اختصاصی و افتراقی مانند مانیتول سالت آگار، برد پارکر آگار، DNase Agar و محیط O-F استفاده می‌شود. اما متاسفانه دقت تشخیص وابسته به این محیط‌ها خیلی بالا نبوده و گاها محقق را با خطا مواجه می‌سازد. بر این اساس برای تفریق جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس از سایر کوکسی‌های گرم مثبت، از جمله میکروکوکوس‌ها و استرپتوکوکوس‌ها و همچنین استافیلوکوکوس‌های غیراورئوس (مانند استافیوکوکوس‌های کواگولاز منفی یا coagulase-negative staphylococci) از تکنیک‌های مولکولی مانند PCR اختصاصی برای جنس و گونه استفاده می‌شود. یکی از ژن‌های مورد استفاده جهت تشخیص جنس و گونه استافیلوکوکوس اورئوس، ژن nuc می‌باشد که جزء ژن‌های خانه‌دار(Housekeeping genes) بوده و مسئول کد کردن نوکلئاز باکتریایی است (۲). ژن دیگری که در مطالعات علمی به عنوان ژن اختصاصی جنس و گونه مورد استفاده قرار می‌گیرد ژن femA می‌باشد که مسئول کد کردن یک پروتئین ۴۸ کیلودالتونی است که در متابولسیم باکتری، سنتز دیواره سلولی و رشد باکتری در محیط کشت نقش دارد (۸). همچنین مشخص شده است که موتاسیون و یا غیرفعال‌سازی این ژن باعث کاهش مقاومت به آنتی بیوتیک متی‌سیلین می‌شود؛ بنابراین femA به عنوان یک عامل مقاومت به متی‌سیلین نیز شناخته شده است (۷).

در مطالعه حاضر از مجموع ۵۸ جدایه مشکوک به استافیلوکوکوس اورئوس در تست‌های فنوتیپی و بیوشیمیایی ۵۳ مورد در تست PCR تایید شدند و مشخص گردید که ۵ مورد از این جدایه‌ها، باکتری دیگری غیر از استافیلوکوکوس اورئوس می‌باشند. بنابراین پیشنهاد می‌شود که محققیق جهت تایید نتایج جداسازی باکتریایی، از تست PCR با پرایمرهای اختصاصی جنس و گونه استفاده نمایند. در مطالعه مشابهی که در ایران انجام شد مقاومت ۱۰۰ درصدی جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اخذ شده از موارد ورم پستان گاو نسبت به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین گزارش گردید (۱۳). مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین در مطالعه حاضر و سایر مطالعات اخیر در ایران بسیار نگران‌کننده بوده و نشان‌دهنده استفاده ناصحیح و غیر اصولی از این آنتی‌بیوتیک در



شکل ۱- ژل الکتروفورز ژن femA؛ ستون ۱: نردبان ژنی ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۲: کنترل منفی، ستون ۳: کنترل مثبت، ستون‌های ۴ تا ۶: نمونه‌های مثبت برای ژن femA.

صنعت دامپروری می‌باشد. دومین مطلب مورد بررسی، وجود مقاومت نسبت به آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین می‌باشد. بر اساس نتایج به دست آمده از ۵۳ باکتری، ۱۱ مورد مقاومت (۲۰/۷۵٪) نسبت به متی‌سیلین گزارش گردید. ظهور سویه‌های استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین (Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA)) در عفونت‌های انسانی و اخیرا عفونت‌های دامی بسیار حائز اهمیت می‌باشد زیرا که بعد از مقاومت نسبت به پنی‌سیلین‌ها، آنتی‌بیوتیک متی‌سیلین به عنوان داروی انتخابی برای درمان عفونت‌های استافیلوکوکوی معرفی شد (۱۴). بنابراین ظهور این سویه‌های مقاوم می‌تواند به عنوان هشداری جدی برای سلامت جامعه مطرح باشد. لذا توصیه می‌شود که مصرف این دارو بسیار با احتیاط انجام شود و در صورت استفاده حتما دز درمان کامل گردد.

نتیجه دیگر مطالعه حاضر که حائز اهمیت است میزان مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک انروفلوکساسین ۴۴ مورد (۸۳/۰۱٪) می باشد؛ این آنتی‌بیوتیک به صورت فراوان جهت درمان عفونت‌های دامی و ورم پستان استفاده می‌شود. بررسی مطالعات پیشین انجام شده در ایران نشان می‌دهد ظهور مقاومت نسبت به این آنتی‌بیوتیک با سرعت بالایی اتفاق افتاده است. برای مثال در مطالعه شماخی و همکاران (۱۳۹۱)، همه جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از موارد ورم پستان بالینی گاو نسبت به انروفلوکساسین حساس بودند (۱۵). در مطالعه مشابه دیگری که توسط بهرامی و همکاران (۱۳۹۵)، انجام شد، میزان مقاومت جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس جدا شده از شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان ۹ درصد گزاش شد (۱۶). نتایج این مقالعات نشان می‌دهد که میزان مقاومت استافیلوکوکوس اورئوس‌های مسبب ورم پستان گاو به این آنتی‌بیوتیک در سال‌های اخیر در ایران افزایش چشم‌گیری داشته است.

آخرین و مهم‌ترین موضوع در ارتباط با مقاومت آنتی‌بیوتیکی گزارش شده در مطالعه حاضر وجود ۷ جدایه (۱۳/۲۰٪) دارای مقاومت حد واسط به ونکومایسین (Vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus (VISA)) و همچنین ۲ جدایه (۳/۷۷٪) دارای مقاومت کامل به آنتی‌بیوتیک ونکومایسین (Vancomycin-resistant Staphylococcus aureus (VRSA)) بود. نتایج مطالعات قبلی صورت گرفته در ایران نشان می‌دهد جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اخذ شده از موارد ورم پستان دامی حساسیت کامل (۱۰۰٪) نسبت به ونکومایسین داشتند (۶). اما مطالعه حاضر نشاندهنده وجود سویه‌های VISA و VRSA بود. لازم به ذکر است که آنتی‌بیوتیک ونکومایسین به عنوان آخرین خط دفاعی علیه باکتری استافیلوکوکوس اورئوس شناخته شده است بنابراین وجود جدایه‌های VISA و VRSA بسیار مهم و نگران‌کننده می‌باشد.

نتیجه‌گیری

میزان بالای مقاومت به پنی‌سیلین در جدایه‌های استافیلوکوکوس اورئوس اخذ شده از موارد ورم پستان استان همدان نشان می‌دهد که آنتی‌بیوتیک پنی‌سیلین نباید به عنوان آنتی‌بیوتیک انتخابی جهت درمان گاوهای مبتلا به ورم‌پستان بالینی استفاده شود. همچنین با توجه به امکان انتقال عوامل مسبب ورم پستان به انسان از طریق شیر، حضور جدایه‌های دارای مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های انسانی از جمله، آزیترومایسین، متیسیلین و ونکومایسین بسیار حائز اهمیت بوده و نیازمند توجه جدی می‌باشد.

منابع مورد استفاده

1- Bradley, A. J. 2002. Bovine mastitis: an evolving disease. *The Veterinary Journal* 164: 116-128.

جدول ۱-بررسی الگوی مقاومت میکروبی

آنتی‌بیوتیک	تعداد جدایه حساس (٪)	تعداد جدایه نیمه¬حساس (٪)	تعداد جدایه مقاوم (٪)
پنی‌سیلین	۰	۰	۵۳ (٪۱۰۰)
اکسی-تتراسایکلین	۲۰ (٪۳۷/۷۳)	۲ (٪۳/۷۷)	۳۱ (٪۵۸/۴۹)
انروفلوکساسین	۴۴ (٪۸۳/۰۱)	۵ (٪۹/۴۳)	۴ (٪۷/۵۴)
سیپروفلوکساسین	۴۰ (٪۷۵/۴۷)	۴ (٪۷/۵۴)	۹ (٪۱۶/۹۸)
آزیترومایسین	۲۸ (٪۵۲/۸۳)	۲ (٪۳/۷۷)	۲۳ (٪۴۳/۳۹)
فورازولیدون	۳۷ (٪۶۹/۸۱)	۳ (٪۵/۶۶)	۱۳ (٪۲۴/۵۲)
کلیندامایسن	۳۹ (٪۷۳/۵۸)	۱ (٪۱/۸۸)	۱۳ (٪۲۴/۵۲)
ونکومایسین	۴۴ (٪۸۳/۰۱)	۷ (٪۱۳/۲۰)	۲ (٪۳/۷۷)
متی‌سیلین	۳۷ (٪۶۹/۸۱)	۵ (٪۹/۴۳)	۱۱ (٪۲۰/۷۵)

2- Brakstad, O. G., K. Aasbakk and J. A. Maeland. 1992. Detection of Staphylococcus aureus by polymerase chain reaction amplification of the nuc gene. *Journal of Clinical Microbiology* 30: 1654-1660.

3- Cheng, W. N. and S. G. Han. 2020. Bovine mastitis: risk factors, therapeutic strategies, and alternative treatments—A review. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences* 33: 1699.

4- Cockerill, F. R. and M. Wikler. 2012. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: twentysecond informational supplement;[provides updated tables for M02-A11 and M07-A9].

5- De Oliveira, A., J. Watts, S. Salmon and F. M. Aarestrup. 2000. Antimicrobial susceptibility of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis in Europe and the United States. *Journal of Dairy Science* 83: 855-862.

6- Hosseinpour Feizi, M. A., G. Zarrini and M. Tahmasebi. 2013. Evaluation of Protein A Gene Tandem Repeat Polymorphism of Staphylococcus aureus Isolated From Bovine Mastitis in Tabriz. *Jundishapur Journal of Microbiology* 6.

7- Khodadadi, P., M. Bizhanzadeh, A. Najafi, V. Zarinpour, A. Moshfe and H. Ansari. 2016. Antibiotic Resistance and Detection of femA Gene in Staphylococcus Aureus Isolates from Raw Milk. *Medical Laboratory Journal* 10: 40-45.

8- Kobayashi, N., H. Wu, K. Kojima, K. Taniguchi, S. Urasawa, N. Uehara, Y. Omizu, Y. Kishi, A. Yagihashi and I. Kurokawa. 1994. Detection of mecA, femA, and femB genes in clinical strains of staphylococci using polymerase chain reaction. *Epidemiology & Infection* 113: 259-266.

9- Li, T., H. Lu, X. Wang, Q. Gao, Y. Dai, J. Shang and M. Li. 2017. Molecular characteristics of Staphylococcus aureus causing bovine mastitis between 2014 and 2015. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology* 7: 127.

10- Li, X., Y. Xiong, X. Fan, P. Feng, H. Tang and T. Zhou. 2012. The role of femA regulating gene on methicillin-resistant Staphylococcus aureus clinical isolates. *Medecine et Maladies Infectieuses* 42: 218-225.

11- Quinn, P. J., B. K. Markey, F. C. Leonard, P. Hartigan, S. Fanning and E. Fitzpatrick. 2011. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. John Wiley & Sons.

12- Schmidt, T., M. M. Kock and M. M. Ehlers. 2017. Molecular characterization of Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis and close human contacts in South African dairy herds: genetic diversity and inter-species host transmission. *Frontiers in Microbiology* 8: 511.

13- Shamakhi, M., F. Mousakhani, M. Arjomandzadegan and S. Dezfouli. 2013. Study on antibiotic resistance and frequency of some genes of biofilm production in staphylococcus aureus isolated from mastitis of cow. *Journal of Veterinary Clinical Research* 3: 225-234.

14- Weese, J. S. 2010. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus in animals. *ILAR journal* 51: 233-244.

15- Shamakhi, M., F. Mousakhani, M. Arjomandzadegan, and S. Dezfouli. 2013. Study on antibiotic resistance and frequency of some genes of biofilm production in staphylococcus aureus isolated from mastitis of cow. *Journal of Veterinary Clinical Research* 225-234.

16- Bahrami, A., Shamsi, M., BAHRAMI, A., Soltani, S., Shokri, A., Ahmadi, M., Talebimaymand, F. and Abasian, L., 2016. Staphylococcus aureus isolated from bovine mastitis milk livestock and the study of antibiotic resistance. *Journal of Ilam University of Medical Sciences* 24: 18-26.