

سَلَامٌ عَلَيْكَ يَا مُحَمَّدٌ



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه دکتری حرفه‌ای رشته‌ی دامپزشکی

تعیین گونه و نوع همولیزین استافیلوکوکوس های جدا شده از شیر
بزان مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در منطقه شهرکرد

استاد راهنما:

دکتر ناصر شمس اسفند آبادی

استاد مشاور:

دکتر عزیزالله ابراهیمی

پژوهشگر:

سمیه شاهرخ شهرکی

خرداد ماه ۱۳۸۹



دانشکده دامپزشکی

پایان نامه خانم سمیه شاهرخ شهرکی جهت اخذ درجه دکتری رشته دامپزشکی با عنوان تعیین گونه و نوع همولیزین استافیلوکوکوس های جدا شده از شیر بزبان مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در منطقه شهرکرد در تاریخ ۱۳۸۹/۰۳/۰۴ با حضور هیأت داوران زیر بررسی و با نمره.....مورد تصویب نهایی قرار گرفت.

۱. استاد راهنمای پایان نامه دکتر ناصر شمس اسفند آبادی با مرتبه علمی دانشیار امضاء
۲. استاد مشاور پایان نامه دکتر عزیزالله ابراهیمی با مرتبه علمی استادیار امضاء
۳. استاد داور داخلی گروه دکتر پژمان میرشکرایی با مرتبه علمی استادیار امضاء
۴. استاد داور خارجی گروه دکتر غلامعلی کجوری با مرتبه علمی دانشیار امضاء

مسئولیت کلیه عقاید و نظراتی که در این پایان نامه آورده شده است به عهده نگارنده بوده و دانشکده دامپزشکی هیچ مسئولیتی را در این زمینه تقبل نمی‌نماید.

دکتر حسین نورانی
رئیس دانشکده دامپزشکی

دکتر سعید حبیبیان دهکردی
معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی
دانشکده دامپزشکی

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات
و نوآوری های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه
متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

باساس از

استاد ارجمند و دلسوزم جناب آقای دکتر شمس که در نهایت صبر و شکیبایی در تمام مراحل این پایان نامه مریاری نمودند.

جناب آقای دکتر ابراهیمی که همیشه راهگشا و راهنمای من بودند و راهنمایی های ارزنده ایشان در انجام این پایان نامه برای من

لطف بزرگی بود.

جناب آقای دکتر کجوری و دکتر میرشکرایی که زحمت داوری این پایان نامه را بر عهده داشته اند.

و همه اساتید بزرگوار دوران تحصیلم.

سرکار خانم لطفعلیان که در انجام این پایان نامه مرا از راهنمایی های ارزنده خود بهره مند نموده اند.

و دوستان خوب دوران تحصیلم.

هرچه را که دیدم، خدا را پیش از آن یافتم.

این بی‌بها تحفه را تقدیم می‌دارم به بزرگی کسانی که آنها را به خلوص و پکی باور کرده‌ام.

دو تکیه‌گاه جاودان زندگی ام، پدر و مادر نام‌نیم.

تقدیم به همسفر همیشه‌یاورم، همسر مهربانم.

تقدیم به برادر و خواهر عزیزم.

چکیده:

ورم پستان با عوامل باکتریایی باعث کاهش تولید شیر و تغییر ترکیبات آن می شود که بسته به شدت و طول دوره عفونت متفاوت است. اهمیت ورم پستان تحت بالینی از لحاظ اقتصادی بیشتر است به طوری که تغییری در شیر دیده نمی شود ولی تولید آن کاهش می یابد در حالی که عوامل پاتوژن در شیر وجود دارد. پاتوژن غالب در ورم پستان های تحت بالینی و مزمن استافیلوکوکوس ها هستند و می توان آن ها را به عنوان پاتوژن عمده ورم پستان در سراسر جهان معرفی نمود. در این بررسی تعداد پانصد و ده بز از میان پنج گله در شهرکرد به طور تصادفی انتخاب شده اند و به روش CMT از لحاظ ابتلا به ورم پستان بررسی شده اند. از این تعداد، یکصد و پانزده مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشاهده شد. از میان ۱۱۵ نمونه شیرهای CMT مثبت ۲۳ نمونه مبتلا به سویه های مختلف استافیلوکوکوس جدا شد، که ۱۴ نمونه (۱۳/۷۷٪) سوش استافیلوکوکوس طلایی و ۹ نمونه (۷/۸۲٪) سوش استافیلوکوکوس اپیدرمیس بوده اند. پس از کشت نمونه های فوق مشاهده شد که از میان ۱۴ نمونه استافیلوکوکوس طلایی ۱۱ نمونه همولیزین ترکیبی $\alpha/\beta/\delta$ و ۲ نمونه همولیزین ترکیبی α/δ و ۱ نمونه همولیزین δ تولید کرده اند. همچنین از میان ۹ نمونه استافیلوکوکوس اپیدرمیس ۶ نمونه همولیزین ترکیبی $\alpha/\beta/\delta$ و ۳ نمونه همولیزین ترکیبی α/δ تولید کرده اند. حساسیت تمامی نمونه ها نسبت به ۱۰ نوع آنتی بیوتیک به روش دیسک دیفیوژن مورد بررسی قرار گرفت ۶ نمونه (۲۶/۰۸٪) نسبت به متی سیلین مقاوم بودند که ۴ نمونه از آن ها از نوع استافیلوکوکوس طلایی و ۲ نمونه از نوع استافیلوکوکوس اپیدرمیس بوده اند. مقاومت در مقابل کلوکساسیلین و کانامایسین در هر دو گونه استافیلوکوکوس طلایی و استافیلوکوکوس اپیدرمیس مشاهده شد. همچنین مقاومت نسبت به پنی سیلین در استافیلوکوکوس طلایی ۱۰۰٪ و در استافیلوکوکوس اپیدرمیس ۳۳/۳۳٪ بوده است.

واژگان کلیدی: ورم پستان، استافیلوکوکوس، همولیزین، بز، ایران

فهرست مطالب

شماره صفحه	عنوان
۴	فصل اول - مقدمه
۶	فصل دوم - کلیات
۶	۱-۲- ساختمان غده پستانی بز
۷	۲-۲- ورم پستان
۷	۱-۲-۲- تقسیم بندی ورم پستان
۷	۱-۱-۲-۲- ورم پستان تحت بالینی
۸	۲-۱-۲-۲- ورم پستان بالینی
۸	۲-۲-۲- معاینه فیزیکی ورم پستان
۹	۳-۲-۲- بررسی اجمالی روشهای موجود در تشخیص ورم پستان
۹	۱-۳-۲-۲- روش کولز
۱۰	۲-۳-۲-۲- روش براملی
۱۰	۳-۳-۲-۲- روش چائوهان
۱۰	۴-۲-۲- عوامل ایجاد کننده ورم پستان
۱۱	۱-۴-۲-۲- عوامل ایجاد کننده ورم پستان واگیردار
۱۱	۲-۴-۲-۲- عوامل ایجاد کننده ورم پستان محیطی
۱۱	۵-۲-۲- ورم پستان در بز
۱۲	۱-۵-۲-۲- ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس
۱۵	۲-۵-۲-۲- ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس های کوآگولاز منفی
۱۶	۳-۵-۲-۲- ورم پستان ناشی از استرپتوکوکوس
۱۸	۴-۵-۲-۲- ورم پستان ناشی از گونه های میکوپلاسما
۱۹	۵-۵-۲-۲- ورم پستان ناشی از زودوموناس
۱۹	۶-۵-۲-۲- ورم پستان تابستانه
۱۹	۶-۲-۲- درمان ورم پستان
۱۹	۳-۲- استافیلوکوکوس ها
۱۹	۱-۳-۲- خصوصیات مورفولوژی و بیوشیمیایی استافیلوکوکوس ها
۲۰	۱-۱-۳-۲- خصوصیات ظاهری
۲۰	۲-۱-۳-۲- خصوصیات کشت و واکنش بیوشیمیایی
۲۱	۳-۱-۳-۲- مقاومت در برابر حرارت و ضد عفونی کننده ها
۲۱	۴-۱-۳-۲- تشخیص آزمایشگاهی استافیلوکوکوس ها
۲۲	۵-۱-۳-۲- محیط های کشت تشخیصی و جداسازی استافیلوکوکوس
۲۲	۶-۱-۳-۲- تستهای تشخیصی استافیلوکوکوس بیماری زا

۲۲	۲-۳-۲- عوامل مهم بیماری زای استافیلوکوکوس ها
۲۲	۱-۲-۳-۲- پادگن های استافیلوکوکوس ها
۲۳	۲-۲-۳-۲- عامل جمع کنندگی
۲۳	۳-۲-۳-۲- توکسینها
۲۵	۴-۲-۳-۲- آنزیم های مترشحه از استافیلوکوکوس ها
۲۷	فصل سوم- مواد و روش کار
۲۷	۱-۳- جمع آوری نمونه
۲۷	۱-۱-۳- انجام آزمایش CMT
۲۸	۲-۳- جدا سازی گونه ها
۲۸	۱-۲-۳- انجام آزمایش کاتالاز
۲۸	۲-۲-۳- شناسایی گونه های استافیلوکوکوس
۲۹	۱-۲-۲-۳- آزمایش کوآگولاز
۲۹	۲-۲-۲-۳- تعیین فعالیت همولیتیک
۳۰	۳-۲-۲-۳- سنجش آزمایشگاهی حساسیت باکتری ها نسبت به آنتی بیوتیکها
۳۰	۴-۲-۲-۳- آنالیز آماری
۳۱	فصل چهارم- نتایج
۳۴	فصل پنجم- بحث
۳۸	فصل ششم- منابع

فهرست جدول‌ها

شماره صفحه	عنوان
۸	جدول ۱-۲
۲۱	جدول ۲-۲
۲۳	جدول ۳-۲
۳۱	جدول ۱-۴
۳۲	جدول ۲-۴

فصل اول

مقدمه:

ورم پستان یکی از پیچیده‌ترین و پر هزینه‌ترین بیماری‌های غده پستان در دام محسوب می‌شود [۳۴]. ورم پستان از بیماری‌هایی است که می‌تواند عوامل مختلفی داشته باشد و به وسیله باکتری‌های مختلفی به وجود آید. ورم پستان با عوامل باکتریایی باعث کاهش تولید شیر و تغییر ترکیبات آن می‌شود که بسته به شدت و طول دوره عفونت متفاوت است [۳۱، ۳۴، ۴۵، ۵۸]. اهمیت ورم پستان تحت بالینی از لحاظ اقتصادی بیشتر است بطوری که تغییری در شیر دیده نمی‌شود ولی تولید آن کاهش می‌یابد در حالی که عوامل پاتوژن در شیر وجود دارد [۳۴، ۴۵، ۴۹]. پاتوژن غالب در ورم پستان‌های تحت کلینیکی و مزمن استافیلوکوکوس‌ها هستند و می‌توان آن‌ها را به عنوان پاتوژن عمده ورم پستان در سراسر جهان معرفی نمود. در این میان گونه استافیلوکوکوس اورئوس (*Staphylococcus aureus*) از بقیه معمول‌تر است [۴۸]. رایج‌ترین میکروارگانیسم شناخته شده در ایجاد عفونت‌های داخل پستانی (Intra Mammary Infection) در بز نیز استافیلوکوکوس‌ها می‌باشند. سایر عوامل پاتوژن از قبیل استرپتوکوکوس (*Streptococcus*)، انتروباکتریاسه (*Enterobacteriaceae*)، زودوموناس ائروژیناس (*Pseudomonas aeruginosa*)، منهمیا همولیتیکا (*Mannheimia haemolytica*)، کورینه‌باکتریا (*Corynebacteria*) و عوامل قارچی می‌تواند باعث ایجاد عفونت‌های داخل پستانی در نشخوارکنندگان کوچک شوند [۳۱]. در سال‌های اخیر استافیلوکوکوس‌های کواگولاز منفی در ایجاد ورم پستان اهمیت بیشتری داشته‌اند. این باکتری‌ها چندین توکسین و آنزیم تولید می‌کنند که در ایجاد حدت موثرند از قبیل همولیزین، لوکوسیدین، لیپاز، پروتئاز [۴۸]. از موضوعاتی که بیشتر مورد بررسی قرار گرفته، تولید انواع همولیزین توسط استافیلوکوکوس‌ها است. استافیلوکوکوس اورئوس ممکن است سه نوع همولیزین تولید کند که شامل آلفا، بتا و گاما می‌شود. چهارمین نوع همولیزین در سال ۱۹۳۸ توسط Price & Smith کشف شد [۴۰]. سؤالی که مطرح است این است که آیا استافیلوکوکوس‌های جدا شده از موارد ورم پستان تحت بالینی بز از نظر تولید انواع همولیزین تفاوتی دارند و

این تفاوت چه اثری دارد؟ هدف این مطالعه تعیین گونه و نوع همولیزین استافیلوکوکوس‌های جدا شده از شیر بزبان مبتلا به ورم پستان تحت بالینی می باشد.

فصل دوم

کلیات

۲-۱- ساختمان غده پستانی بز

غده پستانی، ساختارهای غده‌ای زیر جلدی تغییر یافته ای هستند که به عنوان اندامی مهم در نظر گرفته می‌شوند و عمل آن‌ها ترشح شیر است. غدد پستانی در نشخوارکنندگان کوچک در ناحیه پیش عانه ای (Inguinal Area) قرار دارد و شامل دو غده است که هر غده دارای یک سرپستانک (Teat) و یک مجرای خروجی است. شکل ظاهری غده پستانی در بز در ارتباط با سایز بدنی است و تقریباً بزرگ، کمی عمیق و مخروطی است، اما در گوسفند کروی و کوچکتر می‌باشد [۱۷]. شکل سرپستانک‌ها کمی متفاوت است، سرپستانک بز در قسمت پایه پهن‌تر است و ظاهری شبیه قیف دارد. سرپستانک در جوانترها سیلندری شکل است اما در مسن‌ترها که تولید شیر بالاتری دارند کروی است. در بز پوست روی غده پستانی کمی پوشیده از موهای نازک است و دارای رنگ‌دانه می‌باشد [۱۷]. سیستم خونی و لنفی در بز مشابه گاو است. منشا غده پستانی از اکتودرم است و اکثر تکامل بافت پستان در دوره جنینی در نیمه اول آبستنی رخ می‌دهد. بعد از شروع بلوغ، پستان بعد از هر سیکل فحلی، رشد و تکامل بیشتری می‌یابد. تکامل سیستم مجرای پستان در ابتدا ناشی از استروژن است، پروژسترون محرک بافت اصلی برای تکامل بافت ترشچی است، با این وجود نه استروژن و نه پروژسترون به تنهایی و یا به همراه هم قادر به ایجاد رشد و تکامل بهینه پستان نیستند. انسولین، کورتیزول، تیروکسین، پرولاکتین و هورمون رشد برای تکامل و رشد پستان ضروری است. در طی آبستنی، پستان تحت کنترل هورمون‌های مترشحه از هیپوفیز، تخمدان و غده فوق کلیوی به حداکثر رشد و تکامل خود می‌رسد. در طی زایمان روندی از رخدادهای وابسته نورواندوکرینی باعث شروع ترشح شیر یا لاکتوژن می‌شود. ترشح شیر و خروج آن از پستان بستگی به مقادیر کافی از هورمون‌هایی که در بالا ذکر شد و بویژه پرولاکتین و اکسی‌توسین دارد. عوارضی که علائم خود را از طریق تغییر در پستان و تولید شیر نشان می‌دهد مثل ورم پستان کاملاً در نشخوارکنندگان رایج است [۱۳].

هر یک از دو کارتیبه پستان بز به عنوان یک غده مستقل عمل می‌کند و بافت‌های تولید کننده شیر مربوط به خود را دارد. بافت اسفنجی (Parenchym) که نقش ترشح را ایفا می‌کند، از میلیون‌ها ساختار حبابچه مانند (Alveous) تشکیل شده است که توسط مجرای به فضای جمع آوری کننده شیر (Cistern) تخلیه می‌شوند. سطح داخلی آلوئول توسط یک لایه از یاخته‌های اپی‌تلیال ترشحی پوشیده شده است. پیش‌سازهای اجرایی تشکیل دهنده شیر از مویرگهای مجاور توسط این سلول‌های اپی‌تلیال به آلوئول‌ها جذب می‌شود و به پروتئین شیر، لاکتوز، چربی و سایر ترکیبات تبدیل می‌شود که در فاصله بین دو دوشش داخل حفره یا آلوئول‌های داخلی آزاد شده و ذخیره می‌شود. شبکه ای از سلول‌های ماهیچه ای تحت عنوان میوایپ‌تلیال (Myoepithelial) یا سلول‌های سبدي هر آلوئول را می‌پوشاند. انقباض این سلول‌ها منجر به خروج شیر از آلوئول‌ها از میان مجاری ترشحی می‌شود [۷، ۴۴].

۲-۲- ورم پستان

ورم پستان التهاب غده پستانی بدون در نظر گرفتن عامل مولد است که به وسیله تغییرات فیزیولوژیکی، شیمیایی و عموماً باکتریایی در شیر و همچنین تغییرات پاتولوژیک در بافت غده ای پستان مشخص می‌شود [۶۰، ۱۶] که مهمترین این تغییرات عبارتند از تغییر رنگ، حضور لخته در شیر، وجود تعداد زیادی از لوکوسیت‌ها، تورم، درد، ادم و گرما. از آنجایی که شمار زیادی از ورم پستان‌ها با ملامسه دستی یا با مشاهده شیر هنگام دوشش قابل شناسایی نیست، پس می‌توان گفت تعداد زیادی از رخدادهای ورم پستان به صورت تحت بالینی می‌باشد، پس تشخیص ورم پستان به طور عمده وابسته به تست‌های غیر مستقیم نظیر شمار سلول‌های سوماتیک یا *SCC* (*somatic cell concentration*) و سنجش غلظت الکترولیت‌های موجود در شیر (سدیم یا کلر) می‌باشد. به نظر می‌رسد که کاربردی‌تر و متداول‌ترین روش برای تشخیص ورم پستان به عنوان یک بیماری، افزایش مشخص *SCC* در شیر غده مبتلا می‌باشد که تقریباً در همه موارد افزایش *SCC* در شیر ناشی از افزایش غلظت نوتروفیل‌ها در پاسخ به آسیب به بافت غده ای پستان است و ادامه این روند منجر به تغییرات ظاهری در شیر می‌شود.

۲-۲-۱- تقسیم بندی ورم پستان

ورم پستان از نظر وجود یا عدم وجود علائم بالینی به ۲ گروه ورم پستان تحت بالینی و ورم پستان بالینی تقسیم می‌شود.

۲-۲-۱-۱- ورم پستان تحت بالینی

در شیر کارتیبه مبتلا به ورم پستان تحت بالینی عوامل بیماری‌زا و سلول‌های آماسی حضور دارند، اما هیچگونه تغییر ظاهری در شیر مشاهده نمی‌شود و کارتیبه در مشاهده و ملامسه قوام طبیعی دارد و حیوان نیز سالم است و از این رو بیشتر خسارت‌های ناشی از ورم پستان به ورم پستان‌های تحت بالینی نسبت داده می‌شود [۳۴].

اغلب موارد ورم پستان تحت بالینی به وسیله ارگانیزم‌های واگیردار نظیر استرپتوکوکوس آگالاکتیه (*Streptococcus agalactiae*) و استافیلوکوکوس اورئوس یا به وسیله ارگانیزم‌های محیطی از قبیل استرپتوکوکوس یوبریس (*Streptococcus uberis*) و استرپتوکوکوس دیس‌گالاکتیه (*Sterptococcus*)

dysgalactiae) ایجاد می‌شود. تست‌های تشخیصی این نوع ورم پستان تست ورم پستان کالیفرنیا یا CMT (California Mastitis Test)، شمارش سلول‌های سوماتیک و کشت میکروبی شیر می‌باشد.

۲-۱-۲-۲- ورم پستان بالینی

ورم پستان بالینی را بر اساس وضعیت دام مبتلا به ورم پستان سه دسته تقسیم می‌کنند.

الف- درجه ۱: در این فرم بیماری شیر طبیعی است مگر در ابتدای دوشش که لخته دیده می‌شود، به علاوه تعدادی نوتروفیل و پاتوژن در شیر وجود دارد اما در هر حال کارتیبه طبیعی احساس می‌شود و دام مریض نیست.

ب- درجه ۲: تغییراتی در شیر و کارتیبه دیده می‌شود اما دام مریض نیست. اگر کارتیبه متورم، گرم، دردناک و گاهی اوقات تغییر رنگ دهد، به این نوع ورم پستان درجه ۲، ورم پستان حاد گویند و اگر کارتیبه سفت و توده ای و بدون درد گردد، به این نوع ورم پستان درجه ۲، ورم پستان مزمن گویند [۴۰].

ج- درجه ۳: علایم ظاهری کارتیبه مانند درجه ۲ حاد است به طوریکه شیر و کارتیبه هر دو تغییر ماهیت داده ولی دام مریض می‌باشد [۴۰].

جدول شماره ۲-۱: تقسیم بندی ورم پستان

تعداد پاتوژن‌ها	تعداد سلول‌ها	وضعیت شیر	وضعیت پستان	وضعیت دام	
-	-	-	-	-	طبیعی
+	+	-	-	-	فرم تحت بالینی
+	+	+	-	-	درجه ۱
+	+	+	+	-	درجه ۲
+	+	+	+	+	درجه ۳

- طبیعی
+ غیر طبیعی

۲-۲-۲- معاینه فیزیکی پستان

غیر عادی بودن اندازه و قوام هر یک از کارتیبه‌ها را می‌توان با معاینه فیزیکی پستان بررسی کرد. ملامسه پستان زمانی حداکثر ارزش را دارد که بلافاصله بعد از شیردوشی کامل پستان که پستان خالی از شیر است انجام شود. البته مشاهده پستان در پر یا خالی بودن هر دو مفید است. پستان را باید از عقب مورد توجه قرارداد و کارتیبه‌ها را با هم مقایسه نمود. ملامسه و مقایسه قسمت‌های مجاور هم در پستان لازم است و تمام کارتیبه‌ها باید لمس شوند، سر پستانک‌ها و غدد لنفاوی فوق پستانی نیز باید لمس شوند. ملامسه و بازرسی پستان در جهت شناسایی وجود فیبروز، تورم التهابی و آتروفی بافت پستان باید دنبال شود. بافت فیبروزه در اثر ازدیاد بافت همبند ایجاد شده و لذا قسمت مبتلا سخت تر از قسمت مقابل می‌گردد و در ملامسه سطح آن دارای گره‌های بیشتری است. تورم التهابی حاد همواره به صورت یک نواخت دیده می‌شود و با گرما، درد و

غیر طبیعی بودن ترشح همراه است. اگر پستان در معاینه فیزیکی سفت، متورم و گرم باشد نشانه ورم پستان حاد بوده و اگر تغییر شکل یافته یا آتروفی و چروکیده باشد، نشانگر آسیب طولانی مدت است [۶۰]. روش‌هایی که جهت تشخیص ورم پستان به کار می‌روند در منابع گوناگون به صورت زیر تقسیم بندی شده‌اند.

۲-۲-۳- بررسی اجمالی روش‌های موجود در تشخیص ورم پستان

ورم پستان بالینی به دلیل وجود علائم بالینی خارجی (متورم شدن غده پستان، غیر طبیعی بودن شیر و یا بروز علائم عمومی) به راحتی قابل تشخیص است. اما اغلب اوقات بیماری در شکل تحت بالینی بروز می‌کند که در این حالت ظاهر شیر و پستان سالم است.

۲-۳-۱- روش کولز (Coles)

کولز تست‌های آزمایشگاهی تشخیص ورم پستان را به چند دسته تقسیم می‌کند.

الف - روش‌های شیمیایی (Chemical methods)

ب - روش‌های میکروسکوپی (Microscopic methods)

ج - کشت دادن (Culture)

روش‌های شیمیایی به عنوان تست‌های غیر مستقیم مطرح‌اند و شامل: تعیین PH ، تست برموتیمول آبی (Bromothymol Blue)، تست برم کرزول ارغوانی (B.Purple)، تست کلراید (Chloride test)، تست وایت ساید (White side test) و تست ورم پستان کالیفرنیا می‌باشد. روش‌های میکروسکوپی شامل شمارش مستقیم لوکوسیت‌ها می‌باشد. روش کشت دادن نمونه شیر بر روی محیط‌های مختلفی می‌باشد.

• نحوه انجام و تفسیر آزمایش CMT

اساس آزمایش CMT بر پایه شمارش لوکوسیت‌ها است. به این ترتیب که در موقع ورم پستان، تعداد این سلول‌ها افزایش می‌یابد. این تغییر در شیر به علت وجود آگزوداهای التهابی در آلئول‌های پستان و مخلوط شدن با شیر و در نتیجه قلیایی شدن شیر رخ می‌دهد. این آزمایش روش ساده‌ای است که برای مشخص کردن ورم پستان تحت بالینی بر اساس تخمین تعداد سلول‌های شیر استفاده می‌شود. آزمایش CMT تعداد سلول‌ها را مشخص نمی‌کند و تنها بالا بودن یا پایین بودن سلول‌های شیر را نشان می‌دهد. برای انجام آزمایش، شیر اولیه هر کارتیه را دور ریخته و ۲-۳ میلی لیتر شیر به درون فنجانک مخصوص ریخته و سپس هم حجم آن، معرف CMT اضافه می‌شود و در ادامه معرف و شیر را با حرکت چرخشی در سطح افق مخلوط می‌نمایند. حداکثر تا ۲۰ ثانیه باید نتیجه را قرائت کرد و بر مبنای وضعیت ژل تشکیل شده درجه بندی صورت می‌گیرد.

ماده معرف به کار رفته در محلول CMT یک دترژنت آنیونیک است به نام آلکیل آریل سولفونات ۳٪، که سلول‌های موجود در شیر را لیز کرده و با DNA موجود در هسته سلول‌های سوماتیک ترکیب شده و به دنبال واکنش انجام شده، رسوب یا ژلی تولید می‌گردد که بر اساس وضعیت ژل تشکیل شده نتیجه آزمایش CMT به شرح زیر تفسیر می‌شود:

اگر رسوب ناچیزی تشکیل شود و سریعاً محو شود حالت خنثی یا Trace ایجاد شده است که در اثر وجود ۴۰۰۰۰۰ سلول به وجود می‌آید.

اگر ژل لزجی تشکیل شود، حالت ۱+ ایجاد شده است که در اثر وجود ۱،۰۰۰،۰۰۰-۵۰۰،۰۰۰ سلول به وجود می‌آید.

اگر ژل غلیظ تشکیل شود، حالت ۲+ ایجاد شده است که در اثر وجود ۲،۰۰۰،۰۰۰-۱،۰۰۰،۰۰۰ سلول به وجود می‌آید.

اگر ژل چسبناک و نخی شکل باشد، حالت ۳+ ایجاد شده است که در اثر وجود ۴،۰۰۰،۰۰۰-۲،۰۰۰،۰۰۰ سلول به وجود می‌آید.

که به صورت منفی (N)، جزئی (T)، ۱+، ۲+، ۳+ درجه بندی می‌گردد [۱۴، ۱۵، ۱۶].

برای انجام آزمایش احتیاج به یک پاروی پلاستیکی که دارای ۴ قسمت (گوده) است یا یک پتری دیش ساده می‌باشد. معرف آزمایش را در یک بطری پلاستیکی ریخته و بر روی درب آن آبپاش ظرفی را قرار می‌دهند، تا در اثر فشار بطری معرف به صورت فوران روی گوده های حاوی شیر پاشیده شود [۱۴، ۱۶]. ابتدا مستقیماً شیر در گوده های پارویی پلاستیکی ریخته می‌شود. از بطری پلاستیکی مقداری معرف به مقدار مساوی با شیر بر روی گوده های حاوی شیر اسپری کرده، با حرکت دادن پارو شیر را با معرف مخلوط می‌کنند. واکنش‌ها به طور سریع انجام می‌شود. در موارد مثبت که PH شیر قلیایی است یک رنگ آبی متمایل به سبز به وجود می‌آید. معرف اولیه که به وسیله شالم و نورلاندر فرموله شده است، شامل سولفات‌های آلکیلاریل و سولفات‌های سدیم یا پتاسیم است که تهیه آن مشکل می‌باشد، به همین دلیل به عنوان جایگزین آن، پاک کننده تیپول تهیه شده که همان نتایج مطلوب را دارد و به شکل زیر ساخته می‌شود:

۱/۵ گرم هیدروکسید، ۰/۵ میلی گرم تیپول، ۰/۰۱ گرم آبی برم تیمول را با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر می‌رسانیم، در موارد مثبت آزمایش CMT حالت رسوب و لخته ایجاد می‌شود [۱۴، ۱۶].

۲-۲-۳-۲- روش براملی (Bramley)

براملی استفاده از ردیاب‌های ورم پستان را که در طول لوله های شیردوشی قرار می‌گیرند و نیز استفاده از تجهیزات شیردوشی مجهز به سنسور را در جهت تشخیص ورم پستان‌های بالینی توصیه می‌کند و روش‌های تشخیص فرم تحت بالینی را به صورت زیر می‌داند [۲۳].

الف : تست‌های باکتریولوژیکی

ب : تست‌های سیتولوژیکی

ج : تست‌های بیوشیمیایی

۲-۳-۳-۲- روش چائوهان (Chauhan)

چائوهان آزمایشات قابل انجام روی شیر را به صورت زیر بیان می‌کند:

الف- تست‌های فیزیکی شامل بررسی رنگ، بو، PH ، قوام، وزن مخصوص، استریپ کاپ (Strip cup)

ب- تست‌های شیمیایی شامل برموتیمول آبی، تست کلراید، WMT ، CMT و هاتیس (Hotis)

ج- تست‌های سیتولوژیکی که شمارش میکروسکوپی سلول‌های شیر است.

د- تست‌های باکتریولوژیکی که شامل آزمایش مستقیم میکروسکوپی و آزمایش کشت نمونه است [۱۴].

۲-۲-۴- عوامل ایجاد کننده ورم پستان

در منابع مختلف حدود دویست عامل ایجاد کننده ورم پستان ثبت شده است [۲۱]. که بر اساس اپیدمیولوژی به دو دسته واگیردار و محیطی تقسیم می‌شوند.

۲-۴-۱- عوامل ایجاد کننده ورم پستان واگیردار

مخزن اصلی این عوامل کارتیه‌های آلوده می‌باشند و عفونت‌های حاصل از این باکتری‌ها در حین شیر دوشی و از طریق وسایل شیر دوشی، دستهای فرد شیردوش و بره‌های شیرخوار از کارتیه‌های آلوده به کارتیه‌های سالم و از حیوانی به حیوان دیگر انتقال می‌یابند. از پاتوژن‌های عمده این گروه می‌توان استافیلوکوکوس اورئوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (*Streptococcus agalactiae*) و مایکوپلاسما را نام برد که باعث ایجاد ورم پستان واگیردار می‌شوند [۶۰ و ۳۲].

۲-۴-۲- عوامل ایجاد کننده ورم پستان محیطی

منشا عوامل محیطی، محیط اطراف دام از قبیل بستر، کود، آب آلوده و مگسها می‌باشند، این عوامل بیشتر در فواصل بین دو شیردوشی از محیط وارد سر پستانک‌ها و غدد پستانی شده و ایجاد عفونت می‌کنند، از پاتوژن‌های عمده این گروه می‌توان استرپتوکوکوس یوبریس، اشرشیاکلی، کلبسیلا و پاستورلا را نام برد [۶۰، ۳۲].

۲-۵- ورم پستان در بز

بز نسبت به گاو اغلب کمتر به ورم پستان واگیردار مبتلا می‌شود. در بسیاری از بیماری‌های عفونی مثل عفونت‌های وابسته به مایکوپلاسما، ورم پستان یکی از علایم مهم این نوع عفونت‌ها است [۶۰]. در بعضی از انواع ورم پستان باکتری فقط به طور متناوب دفع می‌شود از قبیل ورم پستان‌های ناشی از گونه‌های زودوموناس و گونه‌های استافیلوکوکوس اورئوس. شایع ترین ارگانیس‌های جدا شده از نمونه شیرهای مبتلا به ورم پستان، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز منفی می‌باشند [۶۰ و ۱۶]. معمول ترین عامل ورم پستان تحت بالینی بز، استافیلوکوکوس‌های کوآگولاز مثبت می‌باشند که از مهم ترین آن‌ها می‌توان به استافیلوکوکوس اورئوس اشاره کرد. از جمله عوامل بیماری‌زای دیگر می‌توان به استرپتوکوکوس، انتروباکتریاسه، زودوموناس، منهمیا همولیتیکا، کورینه باکتریم و عوامل قارچی اشاره کرد.

ورم پستان ایجاد شده توسط عوامل بیماری‌زا در بز را می‌توان بر اساس علایم بالینی تقسیم‌بندی کرد. معمولاً به علت آلودگی با استافیلوکوکوس اورئوس متعاقب یک جراحی ساده در سرپستانک در هر مرحله از دوره شیردهی و ندرتاً آلودگی با اشرشیاکلی (*Escherchia coli*) یک نوع ورم پستان بالینی از نوع درجه ۳ اتفاق می‌افتد که علایم درمانگاهی آن شامل تب مشخص در مراحل اولیه و اغلب منجر به توکسمی شده و حیوان با دمای پایین‌تر از حد طبیعی تلف می‌شود. در این نوع ورم پستان، پستان سفت، گرم، متورم و دردناک است و مایع سرورزی خون‌آلودی با رقت کم از سرپستانک خارج می‌شود. علایم درد از قبیل دندان قروچه و نبض سریع نیز وجود دارد.

پیشگویی بیماری با قید احتیاط صورت می‌گیرد اگر حیوان زنده بماند نیمه مبتلای پستان قانقاریایی، سرد و مرطوب شده و رنگ آن از آبی متمایل به ارغوانی تا سیاه تغییر کرده و در نهایت بافت قانقاریایی از جا کنده می‌شود.

درمان از نظر اقتصادی فاقد ارزش است، درمان در بزهای دست آموز و یا در مواردی که برای مقاصد تولید مثلی نگهداری می‌شوند انجام می‌گیرد. آنتی‌بیوتیک درمانی شدید داخل وریدی (آمپی‌سیلین، تتراسیکلین) فلونکسین‌مگلوپین و درمان کمکی با مایعات و مراقبت کامل ضروری است. متعاقب تشکیل بافت‌های مرده در پستان و از بین رفتن پستانک‌ها ممکن است تولید شیر در قسمت‌های پشتی پستان هنوز ادامه داشته باشد که در این صورت برداشتن پستان ضروری است.

برخی باکتری‌ها باعث ایجاد ورم پستان بالینی درجه ۲ حاد می‌شوند که علایم آن شامل تب، بی‌اشتهایی، بی‌حالی، پستان سفت، متورم و دردناک می‌باشد، این نوع ورم پستان با کاهش تولید شیر، تغییر قوام شیر همراه است. بهبودی کلینیکی ممکن است منجر به بیماری تحت‌کلینیکی یا فیبروز و آتروفی یک نیمه پستان شود. برای درمان استفاده از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف به روش تزریقی یا داخل پستانی تا مشخص شدن نتیجه تست آزمایشگاهی صورت می‌گیرد. همچنین ورم پستان بالینی درجه ۱ می‌تواند با علایمی خفیف و غیرسیستمیک توسط عوامل بیماری‌زا در بز دیده شود. در این نوع ورم پستان واکنش موضعی پستان که احتمالاً به صورت تورم خفیف یک نیمه پستان، وجود لخته کوچک چرک در شیر، رقیق‌تر شدن شیر می‌باشد، دیده می‌شود. اغلب نمونه‌های شیری که برای انجام آزمایش فرستاده می‌شود از بزهایی هستند که از نظر درمانگاهی مریض نبوده ولی مقادیر اندکی لخته یا کریستال در شیر آن‌ها دیده می‌شود. کیفیت شیر از لحاظ نگهداری پایین است و به هنگام جوشاندن دلمه می‌بندد.

در ورم پستان تحت بالینی وضعیت پستان و ترشح شیر از نظر کلینیکی طبیعی است اگرچه ممکن است که فیبروز و آتروفی حاصل از عفونت کلینیکی قبلی وجود داشته باشد. معمولاً مقداری کاهش تولید شیر وجود دارد. که ممکن است از نظر اقتصادی قابل توجه باشد. همچنین ممکن است کاهش در میزان چربی کره و مواد جامد غیر چربی شیر و کاهش در قابلیت نگهداری شیر دیده شود [۱۶].

نوکاردا یا آسترویدوس (*Nocardia asteroides*) باعث یک واکنش سیستمیک و یک زخم گرانولوماتوس (Granulomatous) در پستان و پاها می‌شود، شیوع عفونت در محدوده ۱۰ تا ۳۰ درصد است [۶۰]. ورم پستان محیطی ایجاد شده به وسیله ارگانیس‌هایی از قبیل اشرشیاکلی، گونه‌های زودوموناس و گونه‌های کلبسیلا به ندرت رخ می‌دهد و در اغلب موارد به صورت اورام پستان تحت بالینی دیده می‌شود.

۲-۲-۵-۱- ورم پستان استافیلوکوکوس

این باکتری معمول‌ترین و رایج‌ترین عامل ورم پستان در بز است. نتایج تحقیقات نشان می‌دهد که بیماری‌های تولیدی بز وابسته به استافیلوکوکوس اورئوس است، که بیماری‌زایی آن شباهت زیادی به موارد مشابه در گاو دارد و استافیلوکوکوس تمایل زیادی برای مقاومت و تهاجم در بافت درگیر دارد. استافیلوکوکوس‌ها در شیر بز همانند گاو آنروتوکسین تولید می‌کنند و باعث ایجاد سندرم توکسین که معمولاً شبیه یک مسمومیت غذایی در انسان است، می‌شود.

ورم پستان حاصل از استافیلوکوکوس طلایی در گاو، گوسفند، بز و خوک رخ می‌دهد و اهمیت آن در گاو روز به روز افزایش می‌یابد. در این بیماری نیز مانند سایر اشکال ورم پستان کاهش تولید مهم‌ترین زیان اقتصادی آن می‌باشد ولی در بعضی گله‌ها ممکن است تلفاتی نیز در نتیجه این نوع ورم پستان ایجاد شود.

• اپیدمیولوژی

در بیشتر بررسی ها ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس در گاو با ورم پستان حاصل از استرپتوکوکوس آگالاکتیه و سایر استرپتوکوکوس ها اهمیت یکسانی داشته است. وجود این بیماری تلفات نسبتاً زیادی در بعضی گله ها ایجاد می کند، پاسخ به درمان در این بیماری نسبتاً ضعیف است و روش های مناسب جهت ریشه کنی ورم پستان ناشی از استافیلوکوکوس در گله آلوده هنوز مطرح نشده است. وجود استافیلوکوکوس طلائی در شیرهایی که جهت فروش عرضه می شوند ممکن است برای مصرف کنندگان خطرناک باشد، بیماری به طور کلی در هر جا که پرورش دام شیری رایج است تقریباً به یک اندازه دیده می شود [۵۵].

• عامل بیماری

عامل معمولی این بیماری استافیلوکوکوس اورئوس همولیتیک و کوآگولاز مثبت می باشد که در مورد خصوصیات کشت، خواص بیوشیمیایی و شکل و خصوصیات رنگ پذیری آن در آخر همین فصل بیان شده است.

• دامهای حساس

استافیلوکوکوس طلائی در گاو، گوسفند، بز و خوک ایجاد ورم پستان می کند.

• انتقال بیماری

در این نوع ورم پستان، عمده ترین منشا عفونت، کارتیلهایی است که با این میکروب آلوده گردیده اند و وسیله انتقال، دست افراد و یا ماشین های شیر دوشی آلوده می باشد. اگرچه استافیلوکوکوس ها می توانند در سطح پوست رشد نمایند و منبع عفونتی برای پستان باشند، عقاید متفاوتی درباره تاثیر سن در حساسیت نسبت به این بیماری وجود دارد ولی به نظر نمی رسد که در این شکل ورم پستان حساسیت دام مانند موارد استرپتوکوکوسی در اثر ازدیاد سن افزایش یابد و بیماری اغلب در دامهای جوان به حداکثر اشاعه خود می رسد.

• طرز ایجاد بیماری

گرچه می توان به وسیله تزریق استافیلوکوکوس طلائی بیماری را به طور تجربی در گاو و گوسفند ایجاد کرد، اختلافات زیادی در شدت ورم پستان ایجاد شده وجود دارد و این اختلاف ایجاد شده به اختلاف حدت میکروب ربطی ندارد بلکه بیشتر به مقدار میکروب مصرف شده و به احتمال بیشتر به وضع شیرواری پستان در هنگام عفونت مربوط می باشد، گرچه اختلاف حدت در سوبه ها نیز دیده می شود. اگر عفونت در اوایل دوره شیرواری صورت گیرد به شکل فوق حاد بروز می کند و در اثر توکسین آلفا، نکروز گانگرن ایجاد می شود. در مراحل بعدی شیرواری و یا در هنگام خشک شدن پستان عفونت جدید معمولاً با واکنش عمومی همراه نیست بلکه ایجاد اشکال مزمن و یا حاد می نماید.

طرز ایجاد شکل حاد و مزمن ورم پستان استافیلوکوکوسی یکسان است و اختلاف آن به میزان ابتلای بافت پستان مربوط می شود، در شکل مزمن تعداد کانون های التهابی کمتر و واکنش خفیف تر است. در هر دو نوع شکل حاد و مزمن، هر کانون التهابی با یک مرحله حاد آغاز می گردد که از مشخصات آن ازدیاد میکروب در مجرای جمع کننده شیر و به میزان کمتر در حبابچه ها می باشد. در تورم حاد مجاری کوچک به زودی در اثر