

## بررسی تولید آنزیم بتالاکتاماز در باکتریهای جداسازی شده از شیر بزبان مبتلا به ورم پستان

دکتر عبداله حسین خان ناظر<sup>۱</sup> دکتر محسن جعفری<sup>۲</sup>

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۵، شماره ۳، ۱۱-۷، (۱۳۷۹)

استفاده از آنتی بیوتیکها است. گوناگونی آنتی بیوتیکهایی که قادرند به صورت داخل پستانی و یا درمان عمومی در درمان تورم پستان مورد استفاده قرار گیرند در کشورهای مختلف متفاوت است.

متأسفانه استفاده وسیع بخصوص در مواردی که به طور نامناسب مصرف می شود منجر به افزایش سویه های مقاوم باکتری در برابر آنتی بیوتیکها شده است. پنی سیلین ها، سفالوسپورین ها و مونوباکتامها جزء بتالاکتامها هستند که با سه مکانیسم موجب جلوگیری از رشد میکروبی می شوند. اتصال دارو به PBP (Penicillin-Binding-Protein) که به عنوان گیرنده دارو روی باکتری عمل می کند، مهار کردن سنتز دیواره سلولی به وسیله بلوک کردن عمل ترانس پیتیداسیون در پپتیدوگلیکان و فعال کردن آنزیمهای اتولیزکننده در دیواره سلولی که می تواند ضایعاتی در دیواره سلولی ایجاد و مرگ باکتری را سبب شود (۶). مجموع پنی سیلیناز و سفالوسپوریناز تحت عنوان بتالاکتاماز خوانده می شود. بیش از ۵۰ آنزیم بتالاکتاماز از لحاظ شیمیایی شناسایی شده که توسط میکروارگانیسمها تولید می گردند تعداد زیادی از بتالاکتامازهای شناخته شده تحت کنترل پلاسمید می باشند (۱۳).

مهمترین نوع مقاومت در برابر آنتی بیوتیکهای بتالاکتام، غیرفعال شدن این داروهاست که عمدتاً توسط آنزیمهای بتالاکتاماز انجام می شود. این آنزیمها حلقه بتالاکتام آنتی بیوتیکهای پنی سیلین و سفالوسپورینها را می شکافند و پنی سیلوتیک اسید تولید می کنند که مشتقی غیرفعال است. این آنزیم هم در باکتریهای گرم مثبت و هم در باکتریهای گرم منفی وجود دارد ولی از نظر ساختمانی در باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی با هم فرق دارند (۱۴). بنابراین تعیین میزان مقاومت ایجاد شده ناشی از تولید این آنزیم در باکتریهای مولد تورم پستان گام مؤثری در جهت آرایه الگوی مناسبتری جهت استفاده از آنتی بیوتیکهای مختلف برای درمان و کنترل این بیماری خواهد بود. اهداف این تحقیق عبارتند از:

۱. تعیین درصد بزهای مبتلا به ورم پستان به روش C.M.T (California Mastitis Test) در دامداریهای اطراف شیراز.
۲. بررسی میزان مقاومت آنتی بیوتیکی در مجموع باکتریهای جداسازی شده.
۳. تعیین و تشخیص آنزیم بتالاکتاماز در سویه های مقاوم به پنی سیلین، آموکسی سیلین، آمپی سیلین و سفالکسین.

### مواد و روش کار

**نمونه گیری:** بعد از اینکه پستان بزبان شسته و خشک می شد به وسیله پنبه آغشته به الکل، سرپستانک به طور کامل ضد عفونی شده و ابتدا چند دوشش اولیه را دور ریخته و سپس مقدار ۱۰ سی سی شیر در شیشه دربدار استریل جمع آوری و در کنار یخ نمونه ها به دانشکده حمل می شد. روش C.M.T بر روی هر نمونه شیر براساس توصیه دستورالعمل (American Public Health Association 1974) انجام می گرفت (۳).

در زمانی که هر بز مورد آزمایش C.M.T قرار می گرفت علایم بالینی نظیر قرمزی پوست پستان، سفت بودن نسج پستان و یا دیگر علایم ثبت می گردید. اگر پستان دام گرم، قرمز و دردناک بود ورم پستان بالینی مورد نظر قرار می گرفت. نمونه هایی که براساس آزمایش C.M.T مثبت تشخیص داده می شدند مورد

در این بررسی میزان شیوع بیماری تورم پستان، الگوهای مختلف مقاومتهای آنتی بیوتیکی و نیز تشخیص تولید آنزیم بتالاکتاماز در گونه های مقاوم به آنتی بیوتیکهای پنی سیلین، آمپی سیلین، آموکسی سیلین و سفالکسین در باکتریهای مولد تورم پستان در بزهای شیری انجام گرفت. در انجام این تحقیق تعداد ۲۰۵ رأس بز شیری که بیش از دو هفته از زایمان آنها گذشته بود از بین ۹ گله مختلف اطراف شیراز انتخاب شدند و تعداد ۴۱۰ نمونه شیر تهیه شده به آزمایشگاه آورده شد. میزان شیوع تورم پستان بالینی و تحت بالینی به ترتیب ۲/۴ و ۲۶/۸ درصد بود. از ۹۸ نمونه شیر بزهای مبتلا به تورم پستان (CMT مثبت) ۵۵ باکتری جدا گردید. این موارد شامل ۴۱/۸ درصد استافیلوکوک کوآگولاز مثبت، ۲۹ درصد استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی، ۷/۳ درصد باسیلوس سرئوس، ۷/۳ درصد اشیریشیاکلی، ۳/۶ درصد استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، ۳/۶ درصد میکروکوک، ۱/۸ درصد نیسریا مننگوکوک، ۱/۸ درصد انتروباکتر، ۱/۸ درصد سودوموناس مولتی فیلیا و ۱/۸ درصد پروتئوس بود. در آزمایش حساسیت آنتی بیوتیکی باکتریهای جداسازی شده بین صفر درصد (استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، میکروکوک، نیسریا مننگوکوک و پروتئوس) و ۱۰۰ درصد (اشیریشیاکلی، سودوموناس مولتی فیلیا و انتروباکتر) به یک یا چند آنتی بیوتیک مقاومت نشان دادند. از دو روش کاپلری و اسیدومتری برای آزمایش باکتریهای مقاوم به آنتی بیوتیکهای بتالاکتاماز از نظر تولید آنزیم بتالاکتاماز استفاده شد که روش کاپلری و اسیدومتری به ترتیب قادر به تشخیص تولید آنزیم بتالاکتاماز در ۹۳/۱ و ۶۵/۵ درصد از موارد بودند. واژه های کلیدی: ورم پستان، بز، بتالاکتاماز.

جمعیت جهان روز به روز زیادتر می شود و تأمین غذای این جمعیت رو به تزاید یکی از مسایلی است که محققان را وادار کرده تا به فکر راههای بهتری برای تأمین غذا باشند. یکی از منابع مهم غذایی، پروتئینها هستند. قسمت اعظم پروتئوپلاسم سلولی را پروتئین تشکیل می دهد و از اینجا نقش حیاتی پروتئین از نظر شرکت در ساختمان بدن روشن می شود. به علاوه پروتئین در ترمیم نسوج آسیب دیده بدن و در کنترل و تنظیم اعمال حیاتی بدن (به صورت آنزیمها و هورمونها) نقش بسیار مهمی دارد (۱۰).

پروتئینها از دو منبع تهیه می شوند: گیاهان و جانوران، غذاهایی که به طور روزانه پروتئین مورد نیاز انسان را تأمین می کنند، عبارتند از: گوشت، شیر و تخم مرغ. یکی از حیواناتی که در تأمین شیر و گوشت نقش دارد، بز است و یکی از بیماریهایی که باعث کاهش منابع پروتئینی می شود تورم پستان است. پس مبارزه با تورم پستان بز یکی از راههای مبارزه با کاهش منابع پروتئینی است. صرف نظر از عامل بیماری میزان اشاعه ورم پستان در گاو در اکثر کشورها ارقام مشابهی در حدود ۴۰ درصد را نشان می دهد و اگر میزان آلودگی را برحسب یکی از سرپستانها در نظر بگیرند این رقم به ۲۵ درصد می رسد. این رقم در بز و گاو همیشه که به منظور تهیه شیر نگهداری می شوند نیز همین مقدار است (۷).

در صورت وجود تورم پستان در بزها، اغلب حذف آلوده ها یک روش اقتصادی می باشد (۲۱). با توجه به مطالب بالا فراهم آوردن روشهای اقتصادی برای تشخیص و درمان مبتلایان و بازگرداندن آنها به چرخه تولید از مسایلی است که باید مورد توجه قرار گیرد. یکی از راههای مؤثر برای کنترل تورم پستان

۱) گروه آموزشی بهداشت و کنترل مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.  
۲) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.



جدول ۲ - مقاومت دارویی باکتریهای عامل تورم پستان جداد شده از نمونه‌های شیر

نوع باکتری	تورم پستان تحت بالینی		تورم پستان بالینی	
	مقاومت	موارد جداد شده	مقاومت	موارد جداد شده
استافیلوکوک کوآگولاز مثبت	۲۰	۱۷ (۸۵٪)	۳	۳ (۱۰۰٪)
استافیلوکوک کوآگولاز منفی	۱۶	۶ (۳۷٪)	-	-
اشریشیاکلی	-	-	۴	۴ (۱۰۰٪)
نیسریا مننگوکوک	۱	۱ (۱۰۰٪)	-	-
انتروباکتر	۱	۱ (۱۰۰٪)	-	-
پروتئوس	۱	۱ (۱۰۰٪)	-	-
سودوموناس مولتی‌فیلیا	۱	۱ (۱۰۰٪)	-	-
باسیلوس سرئوس	۴	۱ (۲۵٪)	-	-
استرپتوکوکوس آلفاهمولیتیک	۲	۲ (۱۰۰٪)	-	-
میکروکوک	۲	۲ (۱۰۰٪)	-	-
جمع	۴۸	۲۶ (۵۴٪)	۷	۷ (۱۰۰٪)

بر اساس نتایج به دست آمده از کشت باکتریولوژیکی نمونه‌های C.M.T مثبت، از تعداد ۵۵ باکتری جداد شده تعداد ۲۳ سویه (۴۱/۸ درصد) استافیلوکوکهای کوآگولاز مثبت، ۱۶ سویه (۲۹ درصد) استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی، ۴ سویه (۷/۳ درصد) باسیلوس سرئوس، ۲ سویه (۳/۶ درصد) استرپتوکوک آلفا همولیتیک، ۲ سویه (۳/۶ درصد) میکروکوک، ۴ سویه (۷/۳ درصد) اشیریشیاکلی، ۱ سویه (۱/۸ درصد) سودوموناس مولتی‌فیلیا شناسایی گردید (جدول ۲). نتایج حاصل از آزمایش حساسیت نسبت به ۸ آنتی‌بیوتیک در باکتریهای جداد شده از شیر بزهای مبتلا به ورم پستان در جدول ۳ مشاهده می‌شود (جدول ۳).

در این بررسی ۱۹ نوع الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی مختلف به دست آمد (جدول ۴). باکتریهای با الگوی مقاومت سه گانه بیشترین تعداد را به خود اختصاص داده بودند. در مجموع از ۳۳ مورد باکتری مقاوم به آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام ۲۹ مورد (۸۷/۸۸ درصد) قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز بودند که ۲۷ مورد (۹۳/۱ درصد) به روش کاپیلری و ۱۹ مورد (۶۵/۵ درصد) به روش اسیدومتری جواب مثبت دادند (جدول ۵).

### بحث

با توجه به نتایج به دست آمده شیوع تورم پستان در بزهای اطراف شیراز در مقایسه با گوسفند های اطراف شیراز بیشتر و از گاوهای اطراف شیراز کمتر است (۱ و ۱۸). علل پایین بودن تورم پستان بزها در این منطقه را می‌توان به عواملی مثل صنعتی نبودن پرورش بز در منطقه و متراکم نبودن آنها در یک منطقه و عدم استفاده دامداران از ماشینهای شیردوشی نسبت داد.

در این بررسی از تعداد ۹۸ نمونه شیر بزهای مبتلا به تورم پستان (C.M.T مثبت) ۵۵ باکتری جدا شد که شامل ۲۳ سویه (۴۱/۸ درصد) استافیلوکوک کوآگولاز مثبت، ۱۶ سویه (۲۹ درصد) استافیلوکوکهای کوآگولاز منفی، ۴ سویه (۷/۳ درصد) باسیلوس سرئوس، ۲ سویه (۳/۶ درصد) استرپتوکوک آلفاهمولیتیک، ۲ سویه (۳/۶ درصد) میکروکوک، ۴ سویه (۷/۳ درصد) اشیریشیاکلی، ۱ سویه (۱/۸ درصد) نیسریا مننگوکوک، ۱ سویه (۱/۸ درصد) انتروباکتر، ۱ سویه (۱/۸ درصد) پروتئوس و ۱ سویه (۱/۸ درصد) سودوموناس مولتی‌فیلیا بود (جدول ۲).

میشرا (Mishra) و همکاران در سال ۱۹۹۶ در هند نشان دادند که ۳۴/۱ درصد از باکتریهای جداد شده از تورم پستان، استافیلوکوک بودند که ۲۲/۷ درصد کوآگولاز مثبت و ۱۱/۳۶ درصد کوآگولاز منفی بودند (۱۶). در یک بررسی در سال ۱۹۹۵، لیما جونیور و همکاران درصد استافیلوکوکهای جداد شده را ۸۲/۴۷ درصد از باکتریهای جداد شده از بزها ذکر کردند (۱۵). آنها متذکر شدند در

آزمایش باکتریولوژی قرار می‌گرفتند. جداسازی و تشخیص گونه‌های مختلف باکتریها بر طبق روشهای Edwards & Ewing, Cowan & Steel (1974) و (1972) و Baron & Finegold (1990) انجام پذیرفت (۱۱، ۱۲، ۴).

آزمایش آنتی‌بیوگرام: جهت آزمایش حساسیت ابتدا گونه‌های باکتریهای مختلف جداد شده در محیط آبگوشت (Tryptone Soya Broth Oxoid CM 129) T.S.B کشت داده و پس از ۶ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد بر روی محیط آگار (Diagnostic Sensitivity Test Agar Oxoid CM 261) D.S.T گسترده و سپس بر روی هر محیط از دیسکهای آنتی‌بیوتیکی ذیل قرار داده می‌شد: Penicillin (P. 10i.u), Ampicillin (Am. 25ug), Amoxicillin (Amx. 25 ug) Tetracycline (Te. 50 ug), Streptomycin (St. 25 ug), Cephalexin (Ce. 30 ug), Gentamycin (G. 10 ug), Chloramphenicol (Chl. 50 ug) روش تشخیص تولید آنزیم بتالاکتاماز: آنزیم بتالاکتاماز در گونه‌های باکتریهای مقاوم به آنتی‌بیوتیکهای بتالاکتام به دو روش کاپیلری (Rosen) و همکاران، (۱۹۷۲) و اسیدومتری (Sng و همکاران، ۱۹۸۰) انجام پذیرفت (۱۹) و (۲۲). وقتی بتالاکتاماز، بنزیل پنی‌سیلین را هیدرولیز می‌کند، پنی‌سیلوئیک اسید (Penicilloic acid) تولید می‌شود که می‌توان با استفاده از یک رنگ مشخص کننده و با اندازه‌گیری تغییرات pH و یا با اندازه‌گیری مقدار ید تولید شده و همچنین تغییر رنگ آبی به وجود آمده در اثر ترکیب با نشاسته، وجود آنزیم را تأیید نمود. روش دیگر این است که وقتی آنزیم حلقه بتالاکتام یک سفالوسپورین رنگزا مانند نیتروسفین (Nitrocefin) را هیدرولیز می‌کند، وجود آن را بر حسب تغییر رنگ از زرد به قرمز تأیید نمود. آزمایش تشخیص تولید آنزیم بتالاکتاماز، بر روی گونه‌های مقاوم نسبت به آمپی‌سیلین و به دو روش بالا صورت گرفت.

### نتایج

در این تحقیق مجموعاً تعداد ۲۰۵ رأس بز شیری که بیش از دو هفته از زایمان آنها گذشته بود به روش C.M.T آزمایش شدند. از تعداد کل ۲۰۵ رأس بز شیری ۵۵ رأس (۲۶/۸ درصد) مبتلا به فرم تحت‌بالینی تورم پستان و ۵ رأس (۲/۴ درصد) مبتلا به فرم بالینی تورم پستان و ۱۴۵ رأس (۷۰/۷ درصد) غیرمبتلا بودند (جدول ۱). در این بررسی شیر پستانهایی که از نظر C.M.T مثبت بودند از نظر باکتریولوژی نیز مورد بررسی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که نمونه‌هایی که از نظر C.M.T سالم تشخیص داده شده بودند نیز آزمایش شدند که از نمونه‌های ۱۴۵ رأس بز سالم، نمونه‌های پستان ۳ بز دارای باکتری بود که از یکی، دو باکتری باسیلوس سرئوس و استافیلوکوک کوآگولاز منفی، از دومی استافیلوکوک کوآگولاز مثبت و از سومی استافیلوکوک کوآگولاز منفی جدا شد.

جدول ۱ - میزان شیوع تورم پستان بالینی و تحت‌بالینی در بزها

کله	محل دامداری	تورم پستان تحت‌بالینی			
		بزه‌ها	بزه‌ها	تعداد بزهای مبتلا به تورم پستان بالینی	تعداد بزهای مبتلا به تورم پستان بالینی
		CMT(+)	آزمایش شده	CMT(+)	آزمایش شده
۱	ترک‌آباد	۷	۴۶	۱۳	۴۶
۲	ترک‌آباد	۱۴	۸۶	۲۱	۸۶
۳	باجگاه	-	۱۰	-	۱۰
۴	تخت جمشید	۲	۳۲	۲	۳۲
۵	درمانگاه دانشکده	۸	۳۰	۹	۳۰
۶	تخت جمشید	۲	۲۴	۳	۲۴
۷	دودج	۵	۶۲	۱۰	۶۲
۸	دودج	۷	۷۴	۱۴	۷۴
۹	لوی	۱۰	۴۶	۲۰	۴۶
جمع		۵۵ (۲۶/۸)	۴۱۰	۹۲ (۲۲)	۴۱۰





به آمپی‌سیلین جدا شده از گوسفندان ۱۱۲ مورد (۸۵/۵ درصد) قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز بودند که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد (۲). این محققین همچنین نشان دادند که از ۱۱۰ سویه انتروباکتریاسه مقاوم به آمپی‌سیلین جدا شده از گاو و گوساله، ۹۳ سویه (۸۴/۵۴ درصد) قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز بودند که با نتایج این تحقیق نیز مطابقت دارد (۱۸).

ساندرز در سال ۱۹۹۲ افزایش بتالاکتامازهای القاء‌پذیر را به‌عنوان عامل مقاومت‌های چندگانه نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام در باکتریهای انتروباکتریاسه و سودوموناس می‌داند (۲۰).

در مقایسه دو روش اسیدومتری و کاپیلری، مشخص شد که اگرچه اسیدومتری ساده‌تر، آسانتر و سریعتر است، اما روش کاپیلری از دقت و حساسیت بیشتری برخوردار است. در این تحقیق ۹۳/۱ درصد از باکتریهای مولد آنزیم بتالاکتاماز، با روش کاپیلری نتیجه مثبت را نشان دادند، در حالی که این میزان در روش اسیدومتری ۶۵/۵ درصد بود.

ناظر و همکاران در سال ۱۳۷۵ نشان دادند که ۸۵/۱ درصد از باکتریهای مولد آنزیم بتالاکتاماز جدا شده از گوسفندان با روش کاپیلری نتیجه مثبت نشان داده‌اند در حالی که این میزان در روش اسیدومتری ۶۲/۹ درصد بود (۱).

در تحقیقی دیگر در سال ۱۳۷۳، ناظر و همکاران نشان دادند که ۹۲/۸۶ درصد از باکتریهای مولد آنزیم بتالاکتاماز جدا شده از گوسفندان و بزها با روش کاپیلری بودند در حالی که این میزان در روش اسیدومتری ۶۶/۰۷ درصد بود (۲). همچنین ناظر و همکاران در سال ۱۹۹۴ نشان دادند که ۸۴/۱۵ درصد از باکتریهای مولد آنزیم بتالاکتاماز جدا شده از شیر گاوهای مبتلا به تورم پستان با روش کاپیلری و ۶۲/۷۳ درصد به روش اسیدومتری مثبت می‌باشند (۱۸).

بنابراین، براساس نتایج به‌دست آمده در این بررسی و همچنین شواهد ارائه‌شده از منابع مختلف می‌توان نتیجه گرفت که تولید آنزیم بتالاکتاماز یکی از مکانیسم‌های دفاعی اصلی میکروارگانیسمها در برابر آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام به‌شمار می‌رود. هر چند که امروزه با توجه به پیشرفتهایی که در تولید آنتی‌بیوتیک‌های تازه و نیز مهارکننده‌های آنزیم بتالاکتاماز و یا آنتی‌بیوتیک‌هایی که نسبت به بتالاکتاماز مقاوم باشند، صورت گرفته است ولی طی تحقیقی که توسط ساندرز انجام گرفته، مشخص شده است که بتالاکتام‌های جدید در مصارف درمانگاهی باعث ایجاد مکانیسم دیگری از مقاومت در باکتریهای گرم منفی می‌شوند که این در اثر تولید آنزیم‌های جدیدی می‌باشد که در حقیقت مشتقات همان بتالاکتامازها می‌باشند (۲۰).

### منابع

۱. خان‌ناظر، ع.ح. و زاهدی، ا. بررسی تولید بتالاکتاماز در باکتریهای جدا شده از گوسفندان مبتلا به تورم پستان با روش کاپیلری و اسیدومتری، مجله پژوهش و سازندگی، شماره ۳۰، صفحه: ۱۲۰-۱۱۶، (۱۳۷۵).
۲. خان‌ناظر، ع.ح.، دادرس، ح. و احمدپناهی، ج. بررسی مقاومت‌های قابل انتقال در باکتریهای خانواده انتروباکتریاسه و تشخیص تولید آنزیم بتالاکتاماز در گونه‌های مقاوم به آمپی‌سیلین در گوسفند و بز. مجله دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۴۹، شماره ۱ و ۲، صفحه: ۳۰-۲۰، (۱۳۷۳).
3. American Public Health Association. Standard method for the examination of dairy products. Thirteen Ed. APHA, New York, pp: 108, (1974).
4. Baron, E.J. and Finegold, S.M. Bailey and Scott, S. Diagnostic Microbiology. 8th Ed. The C.B. Mosby Company St. Louis, Baltimore. pp: 438, (1990).

جدول ۴ - انواع الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی باکتریهای جدا شده از شیر بز مبتلا به تورم پستان

یگانه، مضاعف و سه‌گانه	چهارگانه، پنجگانه، ششگانه و هفتگانه
P. Amp. Amx	P. Amp. Amx. Ce. S. T. Ch.
P. Amx. Ch.	P. Amp. Amx. Ce. S. T.
P. Amx. Ce.	P. Amp. Amx. Ce. S. Ch.
Amp. Ce. S.	P. Amp. Amx. S. T.
	P. Amp. Amx. S. T.
P. Amp.	P. Amp. Amx. T. Ch.
P. Amx.	P. Amp. Amx. Ce.
P.	P. Amx. S. T.
Amp.	P. Amp. Amx. Ch.
Ce.	P. Amp. Amx. S.

جدول ۵ - میزان تولید بتالاکتاماز در باکتریهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های خانواده بتالاکتام جدا شده از شیر بزهای مبتلا به تورم پستان

نوع باکتری	مقاومت بتالاکتامی	بتالاکتاماز (+)		بتالاکتاماز (-)		روش اسیدومتری	
		موارد	درصد	موارد	درصد	موارد	درصد
استافیلوکوک کواگولاز منفی	۷	۵	۷۱/۲	۲	۱۲/۳	۵	۱۰۰
استافیلوکوک کواگولاز مثبت	۱۹	۱۷	۸۹/۵	۲	۰	۱۵	۸۸/۲
سودوموناس مولتی‌فیلیا	۱	۱	۱۰۰	۰	۰	۱	۱۰۰
باسیلوس سرتوس	۱	۱	۱۰۰	۰	۰	۱	۱۰۰
اشریشیا کلی	۴	۴	۱۰۰	۰	۰	۴	۱۰۰
انتروباکتر	۱	۱	۱۰۰	۰	۰	۱	۱۰۰
جمع	۲۲	۲۹	۸۷/۸۸	۴	۱۲/۱۲	۲۷	۹۳/۱

پنی‌سیلین هر کدام با ۱۰۰ درصد و کمترین مقاومت نسبت به سفالکسین با ۲۵ درصد بود. همچنین نسبت به جنتامایسین و استرپتومایسین همه حساس بودند. ناظر و زاهدی در سال ۱۳۷۵ مقاومت اشریشیاکلی جدا شده از شیر گوسفندان مبتلا به تورم پستان را در برابر پنی‌سیلین ۴۰ درصد گزارش کردند. همچنین مقاومت اشریشیاکلی جدا شده از شیر گاوهای مبتلا به تورم پستان در برابر پنی‌سیلین ۱۰۰ درصد گزارش بود (۱).

چاندا در سال ۱۹۸۹ اشریشیاکلی‌های جدا شده از تورم پستان گاوها را نسبت به آمپی‌سیلین و جنتامایسین ۱۰۰ درصد حساس ولی نسبت به پنی‌سیلین، آنها را ۱۰۰ درصد مقاوم معرفی نمود (۹).

سایر باکتریهای جدا شده در این تحقیق که شامل ۲ سویه استرپتوکوک آلفا همولیتیک و ۱ سویه نیسریا مننگوکوک و ۱ سویه پروتئوس و ۲ سویه میکروکوک بود هیچ‌گونه مقاومت آنتی‌بیوتیکی نشان ندادند. ناظر و زاهدی در سال ۱۳۷۵ مقاومت استرپتوکوک نسبت به یک یا چند آنتی‌بیوتیک را ۱۱/۹ درصد گزارش کردند که بیشترین مقاومت نسبت به پنی‌سیلین با ۷/۱ درصد و کمترین مقاومت نسبت به سه آنتی‌بیوتیک آمپی‌سیلین، آموکسی‌سیلین و استرپتومایسین هر کدام با ۲/۳ درصد بود (۱).

در این تحقیق همچنین سویه‌های جدا شده از نظر تولید آنزیم بتالاکتاماز مورد بررسی قرار گرفتند، به طوری که از ۳۳ سویه باکتریهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک‌های بتالاکتام ۲۹ سویه (۸۷/۸۸ درصد) قادر به تولید آنزیم بتالاکتاماز بودند و ۴ سویه (۱۲/۱۲ درصد) قادر به تولید این آنزیم نبودند (جدول ۵).

ناظر و همکاران در سال ۱۳۷۳ نشان دادند که از ۱۳۱ مورد باکتری مقاوم



5. Bauer, A.W., Kirby, W.M.M., Sherris, J.C. and Turk, M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method, *Amer. J. Clin. Path*, 45: 493-496, (1966).
6. Betina, V. *The Chemistry and Biology of Antibiotics*. Amsterdam. Elvise Scientific Publishing Co., pp: 98-112, (1983).
7. Blood, D.C. and Radostitis, O.M. *Veterinary Medicine*. 7th ed. London, Bailliertindall. pp: 501-553, (1989).
8. Brain, M. and Barker, F. *Antimicrovokial agents in medicine*. First Ed. Blackwell Scientific Publication, Oxford, pp: 9-26, (1973).
9. Chanda, A., Roy, C.R., Banerjee, P.K. and Gaha, C. Studies on incidence of bovine mastitis, its diagnosis, etiology and invitro sensitivity of the isolated pathogens. *Ind. Vet. J.* 66: 277-282, (1989).
10. Church, D.C. and Pound, W.G. *Basic animal nutrition and feeding*. Third Ed., Wiley and Son, Inc. New York, pp: 77, (1988).
11. Cowan, S.T. and Steel, K.J. *Manual for identification of medical bacteria*. Cambridge University Press, London, pp: 206, (1974).
12. Edwards, R. and Ewing, W.H. *Identification of enterobacteriaceae*, third Ed., Burgess publication Co., U.S.A. pp: 362, (1972).
13. Jawetz, E., Melnick, J.L. and Adelberg, E.A. *Review of Medical Microbiology*, 7th ed. Appletun and Lange. California, pp: 130-136, (1987).
14. Katzung, B.G. *Basic and Clinical Pharmacology*. 5th Ed. California: Appleton and Lange, pp: 724-736, (1995).
15. Lima Junior, A.D. and Vianni, M.C.E. Correlation among the california mastitis test, somotic cell count, and bacteriological examination of goat milk. *Br. Vet. J.* 147: 422-430, (1996).
16. Mishra, P.R. and Shidhartha, H. Subclinical mastitis in goat with special reference to fungus. *Ind. J. Dairy Sci.*, 49(3): 209-210, (1996).
17. Nazer, A.H.K., Dadras, H. and Shadkhast, M. Beta-lactamase production in ampicillin resistance strain of enterobacteriaceae isolated from cattle. *Ind. J. Anim. Sci.*, 65(3): 302-304, (1995).
18. Nazer, A.H.K. and Tavakolli, A.R. Prevalance of antibiotic resistance and beta-lactamase production by bacteria isolated from cases of bovine mastitis. *J. Appl. Anim. Res.* 6: 167-176, (1994).
19. Rosen, I.G., Jacobson, J. and Rudderman, F. Rapid capillary tube method for detecting penicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Appl. Mic.* 23: 649-650, (1972).
20. Sanders, C.C. and Sanders, W.E. Beta-lactam resistance in gram negative bacteria. *Clin. Infect. Dis.* 15: 824-839, (1992).
21. Smith, M.C. and Sherman, D.M. *Goat Medicine*. Philadelphia. Lea and Febiger, pp: 459-465, (1994).
22. Sng, E.H., Yeo, K.L. and Rajan, V.S. Simple method for detecting penicillinase-producing *Neisseria gonorrhoeae* and *Staphylococcus aureus*. *British J. Veneral Dis.* 55: 723-729, (1981).

### Beta-lactamase production in bacteria isolated from cases of Caprine mastitis

Khan Nazer, A.H.<sup>1</sup>, Jafari, M.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran. <sup>2</sup>Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.

Prevalence of clinical and subclinical form of caprine mastitis, determination of different antibiotic resistant patterns along with the lactamase production exhibited by penicillin, amoxicillin, ampicillin, and cephalexin resistance strains isolated from cases of caprine mastitis were studied. The occurrence of subclinical and clinical mastitis was 26.8% and 2.4% respectively. A total of 55 isolates comprising coagulase positive *Staphylococci* (41.8%), coagulase negative *Staphylococci* (29%), *Bacillus cereus* (7.3%), *E. coli* (7.3%), alfa-hemolytic *Streptococcus* (3.6%), *Micrococcus* (3.6%), *Neisseria meningococcus* (1.8%), *Enterobacter* (1.8%), *Pseudomonas multiphilia* (1.8%) and *Proteus* (1.8%) strains were identified. Antibiotic sensitivity testing showed that between 0% (alfa-hemolytic *Streptococcus*, *Micrococcus*, *Neisseria meningococcus*, *Proteus*) and 100% (*E. coli*, *Pseudomonas multiphilia*, *Enterobacter*) were resistant to one or more antibiotics. The capillary method was able to detect lactamase production in 93.1% of isolates while the acidometric detected only 65.5% of isolates.

**Key words :** Mastitis, Goat,  $\beta$  Lactamase.

