

بررسی اثر ضد باکتریایی مار بوفلوکساسین بر روی عوامل باکتریایی مولد ورم پستان بالینی گاو شیری در خارج از بدن

رویا فیروزی^۱ حمیدرجائیان^{۲*} ایرج منصوریان طبایی^۳ ابوالفضل سعیدزاده^۱

(۱) بخش میکروبیشناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

(۲) بخش فارماکولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

(۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

(دریافت مقاله: ۲۸ دی ماه ۱۳۸۷، پذیرش نهایی: ۱۳ مهر ماه ۱۳۸۸)

چکیده

ورم پستان التهاب غده پستانی است و میکروارگانیزم‌های مختلفی عامل ایجادکننده آن می‌باشند. تاکنون مواد ضد میکروبی گوناگونی در درمان ورم پستان ارزیابی گردیده‌اند. بروز مقاومت پاتوژن‌های مربوطه در برابر آنتی بیوتیک‌های متداول زیاد می‌باشد، لذا در این تحقیق تاثیر یک فلوروکوئینولون بر روی باکتری‌های جدا شده از موارد ورم پستان بالینی بررسی گردید. از ۷۳ گاومیلا به ورم پستان بالینی در ۲۸ گاوداری اطراف شیراز نمونه شیر اخذ گردید. از ۵۴ مورد باکتری جدا شده به ترتیب استافیلوکوکوس آرنوس (۳۱/۵ درصد)، استرپتوکوکوس آگالاکتیه (۲۴/۱ درصد)، اشریشیاکلی (۱۸/۵ درصد)، استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه (۹/۳ درصد)، کورینه باکتریوم بوویس (۹/۳ درصد)، استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس (۳/۷ درصد) و پseudomonas آئرو جینوزا (۳/۷ درصد) شناسایی شدند. آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی با روش انتشار از دیسک (روش کربی- بوئر) بر روی تمام باکتری‌های جدا شده انجام گرفت. مقادیر MIC و MBC برای باکتری‌های حساس نیز تعیین گردید. نتایج نشان می‌دهد که تمام باکتری‌ها نسبت به مار بوفلوکساسین حساس بوده ولی حساسیت آن‌ها نسبت به سایر آنتی بیوتیک‌ها از صفر تا ۹۴/۱ درصد متغیر می‌باشد. میزان MIC و MBC مار بوفلوکساسین برای استافیلوکوکوس آرنوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس به ترتیب در محدوده‌های ۰/۲ تا ۰/۵۶ و ۰/۸ تا ۰/۲۵ میکروگرم در میلی لیتر بود که نشان دهنده حساسیت بالای این باکتری‌ها نسبت به مار بوفلوکساسین و دارا بودن خاصیت باکتری کشی مناسب آن می‌باشد. با توجه به این که باکتری‌های فوق حساسیت بالایی به آنتی بیوتیک‌های خانواده فلوروکوئینولون‌ها خصوصاً مار بوفلوکساسین نشان دادند، بنابراین ترکیبات فوق می‌توانند علیه عوامل ایجادکننده ورم پستان موثر واقع شوند.

کلمات کلیدی: ورم پستان، حساسیت آنتی بیوتیکی، مار بوفلوکساسین.

در درمان ورم پستان تاکنون آنتی بیوتیک‌های مختلفی مورد ارزیابی قرار گرفته‌اند. با توجه به این که امکان بروز سویه‌های مقاوم و گسترش آن‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌های متداول وجود دارد، لذا در این تحقیق اثر یکی از اعضای جدید خانواده فلوروکوئینولون‌ها یعنی مار بوفلوکساسین بر روی باکتری‌های جدا شده از موارد ورم پستان بالینی مورد بررسی قرار گرفته است.

مقدمه

ورم پستان التهاب غده پستانی است که همراه با آن تغییر در ساختار و ظاهر شیر بروز می‌کند (۵). التهاب غده پستانی ناشی از میکروارگانیزم‌های مختلف است، هر چند ممکن است در آزمایشگاه میکروارگانیزمی جدا نشود (۲۲). ورم پستان پراهمیت‌ترین بیماری گاوهای شیری است که زیان‌های اقتصادی ناشی از آن چشمگیر می‌باشد و سهم قابل توجهی از هزینه‌های درمانی را به خود اختصاص می‌دهد. متداول‌ترین شکل ورم پستان، موارد تحت بالینی است که بیشترین خسارت را به صنعت گاوداری وارد می‌کند (۸، ۱۵، ۱۶).

ورم پستان بالینی که به شکل حاد بروز می‌کند نیز حائز اهمیت است و میزان وقوع آن در گاوداری‌ها و در مطالعات مختلف متفاوت گزارش شده است (۵، ۳۴) و همچنین میزان خسارت‌های ناشی از آن در کشورهای مختلف اهمیت ویژه‌ای دارد (۳۴، ۲۵، ۱۴). باکتری‌های مختلفی به عنوان عوامل ایجادکننده ورم پستان واگیر دار و محیطی شناخته شده‌اند (۳۳). اگرچه بکارگیری روش‌های پیشگیری از شیوع پاتوژن‌های واگیر کاسته است ولی باکتری‌های محیطی به عنوان عوامل مهم ورم پستان بالینی در کانون توجه هستند.

مواد و روش کار

نمونه‌ها: از ۲۸ گاوداری در شیراز و حومه تعداد ۷۳ نمونه شیر از گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی گرفته شد. گاوهای مورد نظر بر اساس تاریخچه، مشاهده و معاینه دقیق پستان انتخاب گردیدند. نمونه‌های شیر بر اساس دستورالعمل NMC اخذ و به آزمایشگاه منتقل شدند.

کشت شیر: از نمونه شیر هر کارتیبه بر روی محیط‌های کشت آگار خوندار، آگار مک کانگی و آگار سابرودکستروز (جهت جداسازی احتمالی قارچ) به روش شطرنجی کشت شده و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفتند. پس از این مدت کلنی‌های رشد کرده با استفاده از روش‌های متداول شناسایی باکتری، تشخیص داده می‌شدند (۲۸).



جدول ۱- فراوانی باکتری‌های جدا شده از شیرگاه‌های مبتلا به ورم پستان بالینی در دامپرووی‌های گاو شیری اطراف شیراز.

باکتری	استافیلوکوکوس آریوس	استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	کوردیباکتریوم بوتیس	استرپتوکوکوس کالیفورنیس	اشریشیا کلی	استرپتوکوکوس آگالاکتیه	استافیلوکوکوس آریوس
تعداد (درصد)	۱۷ (۳۱/۵)	۱۳ (۲۴/۱)	۱۰ (۱۸/۵)	۵ (۹/۳)	۵ (۹/۳)	۲ (۳/۷)	۲ (۳/۷)

جدول ۲- درصد تقریبی حساسیت در برابر آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش برای باکتری‌های جدا شده از اورام پستان گاو در دامپرووی‌های گاو شیری اطراف شیراز (با استفاده از آنتی‌بیوگرام به روش انتشار از دیسک).

باکتری	آنتی‌بیوتیک	پنی‌سیلین جی	جنتامایسین	انروفلوکساسین	تتراسیکلین	ماربوفلوکساسین
استافیلوکوکوس آریوس	۵۳	۵۴	۹۴	۱۲	۱۰۰	
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۵۰	۵۰	۵۰	۰	۱۰۰	
کوردیباکتریوم بوتیس	۲۰	۸۰	۸۰	۶۰	۱۰۰	
استرپتوکوکوس کالیفورنیس	۶۰	۴۰	۶۰	۰	۱۰۰	
اشریشیا کلی	۰	۵۰	۶۰	۲۰	۱۰۰	
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۸۵	۵۴	۷۷	۲۳	۱۰۰	

نتایج آنتی‌بیوگرام نشان می‌دهد کلیه باکتری‌های جدا شده در مقابل ماربوفلوکساسین حساس بوده‌اند، اما میزان حساسیت آن‌ها نسبت به سایر آنتی‌بیوتیک‌ها از صفر تا ۹۴ درصد متغیر می‌باشد (جدول ۲). معیار حساسیت و مقاومت در برابر ماربوفلوکساسین بر اساس قطر هاله عدم رشد باکتری و مقایسه آن با جداول استاندارد استوار بود (NCCLS، ۱۹۹۹) (۲۳).

نتایج MIC ماربوفلوکساسین برای باکتری‌های جدا شده نشانگر آن است که این میزان برای استافیلوکوکوس آریوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در محدوده ۰/۲ تا ۱/۵۶ میکروگرم در میلی‌لیتر است که بیانگر حساسیت نسبتاً بالای این باکتری‌ها در برابر ماربوفلوکساسین می‌باشد (جدول ۳). همچنین میزان MBC برای این باکتری‌ها در محدود ۰/۸ تا ۶/۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر بود که نشان دهنده خاصیت باکتری‌کشی مناسب ماربوفلوکساسین است (جدول ۳).

بحث

در این بررسی ۶۳ درصد باکتری‌های جدا شده از نمونه‌های مورد آزمایش از عوامل واگیردار بودند که در این میان استافیلوکوکوس آریوس بیشترین میزان (۳۱/۵ درصد) را به خود اختصاص داده است. همچنین ۴۰ درصد باکتری‌ها نیز از عوامل محیطی و فرصت طلب بودند که بیشترین میزان (۱۸/۵ درصد) اشریشیا کلی بود (جدول ۱). محققان دیگر در این زمینه نتایج مشابهی را گزارش نموده‌اند (۲۰، ۲۲، ۲۳، ۲۴). همچنین در ۱۹ درصد موارد باکتری جدا نگردید که دلایل احتمالی آن را می‌توان به آلودگی با میکروپلازما یا درمان‌های قبلی با آنتی‌بیوتیک‌ها مربوط دانست.

تهیه دیسک ماربوفلوکساسین: میزان ۲۰ μl از محلول ماربوفلوکساسین با غلظت ۱۰۰ mg/ml به هر دیسک استریل اضافه می‌شد و پس از خشک کردن در یخچال نگهداری و در زمان لازم مورد استفاده قرار می‌گرفت. بنابراین هر دیسک حاوی ۲ μg ماربوفلوکساسین بود.

تهیه سوسپانسیون استاندارد باکتری: از هر باکتری کشت تازه در محیط آگار برین هارت اینفیوژن تهیه می‌شد و کدورت آن با کدورت استاندارد مک فارلند ۰/۵ تنظیم می‌گردید (۲۸).

تهیه رقت‌های متوالی از ماربوفلوکساسین: ماربوفلوکساسین (ساخت شرکت و توکینول فرانسه) با غلظت ۱۰۰ میلی‌گرم در میلی‌لیتر تهیه شد. برای انجام آزمایش، غلظت آنتی‌بیوتیک به ۴۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر رسانده می‌شد. سپس در ۱۰ لوله آزمایش به ترتیب رقت‌های ۱۰۰ تا ۰/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر تهیه می‌شد. همچنین کنترل‌های مربوط به باکتری، محیط کشت، و آنتی‌بیوتیک در سه لوله دیگر تهیه می‌گردید (۲۱). تمام لوله‌ها به مدت ۲۴-۱۸ ساعت در گرمخانه با گرمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفت. تعیین حداقل غلظت مانع‌کننده از رشد باکتری (MIC): رقت آخرین لوله شفاف که ظاهر آب‌باکتری در آن رشد نکرده بود به عنوان MIC در نظر گرفته می‌شد (۲۲).

تعیین حداقل غلظت‌کننده باکتری (MBC): از کلیه لوله‌های شفاف بر روی آگار مولر هینتون کشت داده می‌شد و رقت آخرین پلیتی که فاقد کلنی بود به عنوان MBC مطلق در نظر گرفته می‌شد (۲۲).

تعیین حساسیت به روش انتشار از دیسک: دیسک‌های چهار آنتی‌بیوتیک مختلف شامل پنی‌سیلین (۱۰ IU)، جنتامایسین (۱۰ μg)، تتراسیکلین (۳۰ μg)، انروفلوکساسین (۵ μg) (شرکت پادتن طب ایران) جهت مقایسه با دیسک ساخته شده ماربوفلوکساسین (۲ μg) مورد استفاده قرار گرفت و با روش استاندارد انتشار از دیسک، میزان حساسیت هر باکتری در برابر آن‌ها تعیین شد (۱۶). استاندارد مقاومت و حساسیت با توجه به قطر هاله مانع‌کننده از رشد برای آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش بر اساس NCCLS استوار بود (۲۳).

آنالیز آماری: تحلیل آماری داده‌های حاصل از این آزمایش با استفاده از آزمون فیشر و آزمون همبستگی پیرسون توسط نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. سطح معنی دار معادل (p < ۰/۰۵) در نظر گرفته شد.

نتایج

در ۲۸ گاو داری واقع در شیراز و حومه، از ۷۳ نمونه اخذ شده از گاو‌های به ظاهر مبتلا به ورم پستان بالینی، ۵۴ مورد باکتری از شیر جدا گردید. جدول ۱ تعداد و درصد باکتری‌های جدا شده را نشان می‌دهد. بیشترین موارد باکتری‌های جدا شده استافیلوکوکوس آریوس ۱۷ مورد (۳۱/۵ درصد) و استرپتوکوکوس آگالاکتیه ۱۳ مورد (۲۴/۱ درصد) بود. کمترین موارد باکتری‌های جدا شده نیز به استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و پسودوموناس آئرو جینوزا هر کدام به میزان تقریبی ۳/۷ درصد اختصاص داشت.



جدول ۳- فراوانی و متوسط MIC و MBC (µg/ml) ماریفولوکساسین برای باکتری‌های جدا شده از اورام پستان گاو در دامپروری‌های گاو شیری اطراف شیراز; * Mean ± s.e.m. (n=2-17).

غلظت (µg/ml)		متوسط ± خطای استاندارد میانگین*												
باکتری	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد
استافیلوکوکوس آرتوس	۰/۲۸ ± ۰/۷۹ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استرپتوکوکوس آگالاکتیه	۰/۱۳ ± ۲/۸ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه	۰/۰۷ ± ۰/۷۸ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استرپتوکوکوس اپیدرمیدیس	۰/۴۶ ± ۲/۶ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استرپتوکوکوس دیس گالاکتیه	۰/۱۶ ± ۱/۲۶ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس	۰/۶۷ ± ۴/۳۷ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
استرپتوکوکوس اپیدرمیدیس	۰/۰۷ ± ۰/۳ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کورینه باکتریوم بویوس	۰/۰ ± ۰/۸ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
کورینه باکتریوم بویوس	۰/۱۶ ± ۱/۱۰ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پسودوموناس آئرو جینوزا	۰/۶۷ ± ۵/۰۰ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پسودوموناس آئرو جینوزا	۰/۱۴ ± ۰/۶ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
پسودوموناس آئرو جینوزا	۰/۰ ± ۱/۵۶ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
اشریشیاکلی	۰/۰۴ ± ۰/۷۲ MIC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰
اشریشیاکلی	۰/۳۶ ± ۲/۵۰ MBC	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰	۰

۹۶ و ۹۳ درصد دارای بیشترین تاثیر و آمپی سیلین، کلوکساسیلین و پنی سیلین با ۱۱ درصد دارای کمترین تاثیر بر عوامل مذکور بودند. میکروارگانیزم‌های جدا شده در تحقیق فوق در برابر اکسی تتراسیکلین نیز حدود ۳۰ درصد حساسیت نشان دادند (Prasad, ۲۹). و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز از ۳۳۲ مورد ورم پستان بالینی در نپال، استافیلوکوکوس، استرپتوکوکوس و کلی فرم را جدا نمودند. در بررسی فوق، بیشترین حساسیت آنتی بیوتیکی به ترتیب در برابر انروفلوکساسین (۹۱ درصد)، جنتامایسین (۸۷ درصد)، تتراسیکلین (۸۳ درصد) و کلرامفنیکل (۸۲ درصد) به دست آمد. در این تحقیق نشان داده شد که پاتوژن‌های مورد مطالعه در برابر آمپی سیلین و پنی سیلین از خود مقاومت بروز دادند (۲۷). Moroni و همکاران (۱۹)، Chanada (۷)، Gentilini و همکاران (۱۰) و Nazer و همکاران (۲۰) نیز مقاومت باکتری‌های جدا شده از اورام پستان در برابر پنی سیلین و Guerir و همکاران (۱۲) مقاومت در برابر تتراسیکلین را گزارش نمودند. از طرفی، Jiannechini و همکاران (۱۱) حساسیت بالای استرپتوکوکوس‌ها به پنی سیلین را گزارش کردند که مشابه نتایج حاصل از تحقیق حاضر است. Schrooder و همکاران (۳۲) نیز گزارش نمودند که ۹۶ درصد از باکتری‌های گرم منفی مانند اشریشیاکلی، کلبسیلا و پسودوموناس آئرو جینوزا در برابر ماریفولوکساسین حساس می‌باشند. همچنین Nunes و همکاران (۲۴) حساسیت بالای استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس و استافیلوکوکوس آرتوس را در برابر انروفلوکساسین گزارش نمودند. بررسی میزان حساسیت و مقاومت باکتری‌ها در برابر آنتی بیوتیک‌های مختلف نشان می‌دهد که نتایج در مناطق و سال‌های مختلف متنوع و متفاوت است که دلیل آن رامی توان تنوع، میزان و نحوه استفاده از آنتی بیوتیک‌ها در نقاط مختلف دنیا دانست.

MIC ماریفولوکساسین برای باکتری‌های جدا شده نشان می‌دهد که این مقادیر برای استافیلوکوکوس آرتوس، استرپتوکوکوس آگالاکتیه و استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس در محدوده ۰/۲ تا ۱/۵۶ میکروگرم در میلی لیتر است (جدول ۳) که نشان دهنده حساسیت نسبتاً زیاد این

آزمایش تعیین حساسیت آنتی بیوتیکی نشان داد که تمام باکتری‌های جدا شده در برابر ماریفولوکساسین حساس بودند. همچنین بیشترین میزان مقاومت باکتری‌ها در برابر تتراسیکلین و پنی سیلین مشاهده شد. با توجه به این‌که باکتری‌ها قادرند با ایجاد سویه‌های مقاوم و گسترش آن‌ها، در برابر آنتی بیوتیک‌های متداول مقاومت ایجاد کنند، بنابراین با گذشت زمان به آنتی بیوتیک‌های جدید و موثر نیاز است. ماریفولوکساسین نیز یکی از اعضای جدید خانواده فلوروکینولون‌ها است که در این بررسی باکتری‌ها کاملاً در برابر آن حساسیت نشان دادند در حالی که این میزان حساسیت در مورد انروفلوکساسین مشاهده نشد.

Dholakia و همکاران در سال ۱۹۸۷ متداول ترین جدا یه‌ها از نمونه‌های شیر گاوان مبتلا به ورم پستان را باکتری‌های استافیلوکوکوس (۴۱/۳ درصد)، استرپتوکوکوس (۱۵/۲ درصد)، باسیل‌های گرم منفی (۲۰/۹ درصد)، گونه‌های کورینه باکتریوم (۵/۳ درصد) و گونه‌های باسیلوس (۵/۹ درصد) ذکر نمودند که کم و بیش با نتایج بررسی حاضر همخوانی دارد. نامبردگان جنتامایسین و کلرامفنیکل را دارای بیشترین تاثیر (به ترتیب با ۶۱/۳ و ۵۹/۴ درصد) و نئومایسین و آمپی سیلین را در رده بعدی (۴۲ درصد) از لحاظ تاثیر بر عوامل فوق بر شمرند (۹). Sachin و Suresh در سال ۲۰۰۶ ورم پستان بالینی گاوها در هند را بین یک تا ده درصد برآورد کردند. از میان میکروارگانیزم‌های گرم مثبت و گرم منفی عامل ورم پستان، بیشترین حساسیت در برابر انروفلوکساسین (۵۳/۹ درصد) و کمترین حساسیت در برابر اکسی تتراسیکلین (۱۷/۴ درصد) نشان داده شد (۳۰).

Reetha و همکاران در سال ۲۰۰۶ با آزمایش بر روی ۳۰ نمونه شیر گاوان مبتلا به ورم پستان در هند نشان دادند که ۵۰ درصد نمونه‌ها دارای آلودگی باکتریایی منفرد و ۴۰ درصد دارای آلودگی مخلوط بودند. از ده درصد نمونه‌ها نیز باکتری جدا نشد. در تحقیق فوق، استافیلوکوکوس و اشریشیاکلی به ترتیب با ۵۳/۳ و ۴۶/۷ درصد بیشترین عوامل ایجاد کننده ورم پستان گزارش شده‌اند. سیپروفلوکساسین، انروفلوکساسین و جنتامایسین به ترتیب با ۱۰۰،



References

1. Aneliya, M. H., Nikolina, V. R., Parvan, R. P., Lubomir, D. L., Johanna, F. G. (2006) Integration of pharmacokinetic and pharmacodynamic indices of marbofloxacin in turkeys. *J. Antimicrob. Chemother.* 50: 3779-3785.
2. Atyabi, N., Vodjgani, M., Gharagozloo, F., Bahonar, A. (2006) Prevalence of bacterial mastitis from the farms around Tehran. *Iranian J. Vet. Res.* 7: 76-79.
3. Bartlett, P. C., Van Wijk, J., Wilson, D. J. (1991) Temporal patterns of lost milk production following clinical mastitis in a large dairy herd. *J. Dairy Sci.* 74: 1561-72.
4. Bauer, A. W., Kirby, W. M., Sherris, J. C., Turk, M. (1966) Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. Clin. Path.* 45: 493-496.
5. Beaudeau, F., Ducrocq, V., Fourichon, C., Seegers, H. (1995) Effect of disease on length of productive life of French Holstein dairy cows assayed by survival analysis. *J. Dairy Sci.* 78: 103-17.
6. Blood, C., Radostitis, M., Henderson, A. (1983) *Mastitis in Veterinary Medicine.* (6thed.) Bailliere Tindall Cassel Ltd. Eastbourne, U.K. pp. 451-500.
7. Chanda, A. (1989) Studies on incidence of bovine mastitis, its diagnosis, etiology and *in vitro* sensitivity of isolated pathogens. *J. Indian Vet. Res.* 66: 271-282.
8. Dobbins, C.N. (1997) Mastitis losses. *J. Am. Vet. Med.* 170:1129-1132.
9. Dholakia, P. M., Purohit, J. H., Shah, N. M., Kher, H. N. (1987) *In vitro* drug sensitivity of bacteria isolated from cases of mastitis in dairy cattle. *Indian Vet. J.* 908-910.
10. Gentilini, E., Denamiel, G., Betancor, A., Reuelto, M., Rodriguez, F. M., Torrest, R. A. (2002) Antimicrobial susceptibility of coagulase-negative staphylococci isolated from bovine mastitis in Argentina. *J. Dairy Sci.* 85: 1913-1917.
11. Giannechini, R. E., Concha, C., Franklin, A. (2003) Antimicrobial susceptibility of udder pathogens isolated from dairy herds in the west littoral region of Uruguay. *J. Acta Vet. Scand.* 43: 31-41.
12. Guerin-Fauble, V., Tardy, F., Bouveron, C., Carret, B. (2002) Antimicrobial susceptibility of *Streptococcus* species isolated from clinical mastitis in dairy cows. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 19: 219-26.
13. Hemmatzade, F., Aghili S. (2000) Isolation and identification of antibiotic resistant bacteria from bovine mastitis. *Iranian J. Vet. Res.* 1: 133-136
14. Hoblet, K. H., Schnitkry, G. D., Arbaugh, D. (1991) Costs associated with selected preventive practices and episodes of clinical mastitis in nine herds with low somatic cell counts. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 199: 190-6.
15. King, J. O. L. (1972) Mastitis as a production disease. *J. Vet. Rec.* 91: 325-330.
16. Losinger, W. C. (2005) Economic impacts of reduced milk production associated with an increase in bulk - tank somatic cell count on US dairies. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 218: 100-105.

تشکر و قدردانی

به این وسیله از معاونت محترم پژوهشی و شورای تحقیقات دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز که شرایط و امکان اجرای این مطالعه را فراهم آوردند سپاسگزاری به عمل می‌آید.



- Med. Assoc. 226: 1652-1658.
17. Melchior, M. B., Fink, J. G., Gaastra, W. (2007) Extended antimicrobial susceptibility assay for *Staphylococcus aureus* isolates from bovine mastitis growing in biofilms. J. Vet. Mic. 46: 5-19.
 18. Meunier, D., Acar, J. F., Martel, J. L., Kroemer, S., Valle, M. (2004) Seven years survey of susceptibility to marbofloxacin of bovine pathogenic strains from eight European countries. Int. J. Animicrob. Agents 24: 268-78.
 19. Moroni, P., Pisoni, G., Antonini, M., Villa, R., Boettcher, P., Carli, S. (2006) Antimicrobial drug susceptibility of *Staphylococcus aureus* from subclinical bovine mastitis in Italy. J. Dairy Sci. 89: 2973-2976.
 20. Nazer, A. K., Tavakoli, A. R. (1994) Prevalance of antibiotic resistance and beta-lactamase production by bacteria isolated from cases of bovine mastitis. J. Appl. Anim. Res. 6: 167-176.
 21. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1999) Development of *in vitro* susceptibility testing criteria and quality control parameters for veterinary antimicrobials agents, approved guideline. NCCSL document M37-A. NCCLS, Wayne, PA.
 22. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1999) Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents, approved guideline. NCCSL document M26-A. NCCLS, Wayne, PA.
 23. National Committee for Clinical Laboratory Standards (1999) Performance standard for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. Approved standard. NCCLS document M31-A. NCCLS, Wayne, PA.
 24. Nunes, S. F., Bexiga, R., Cavaco, L. M., Vilela, C. L. (2007) Antimicrobial susceptibility of *Portguese* isolates of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis* in subclinical bovine mastitis. J. Dairy Sci. 90: 3242-3246.
 25. Pamelal, R. (2003) Investigation of mastitis problems on farms. J. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 19: 47-73.
 26. Philip, M.S., Katek, M.C. (2003) Diagnosis of mastitis for therapy decisions. J. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 19: 93-108.
 27. Prasad, D. I., Pramod, D., Takahiro, K., Hajime, N. (2007) Epidemiological and bacteriological survey of buffalo mastitis in Nepal. J. Vet. Med. Sci. 69: 1241-1245.
 28. Quinn, R. J., Carter, M. E., Markey, B., Carter, G. R. (1984) Clinical Veterinary Microbiology, Mosby-Wolfe Publishing Co., Spain. pp.118-137 and 320-345.
 29. Reetha, T. L., Babu, M., Pugazhenth, T. R., Rajeswar J. J. (2006) Clinical mastitis in cows and their response to *in vitro* sensitivity. Tamilnadu J. Vet. Anim. Sci. 2: 140-141.
 30. Sachin, J., Suresh, G. (2006) Status of mastitis as an emerging disease in improved and periurban dairy farms in India. Annals N. Y. Acad. Sci. 1081: 74-83.
 31. Schneider, M., Valle, M., Woehrl, F., Boisrame, B. (2004) Pharmacokinetics of marbofloxacin in lactating cow after repeated intramuscular administrations and pharmacodynamics against mastitis isolated strains. J. Dairy. Sci. 87: 202-211.
 32. Schroder, A., Hoedemaker, M., Klein, G. (2005) Resistance of mastitis pathogens in Northern Germany. J. Berl. Munch. Tierarztl. Wochenscher. 118: 393-8.
 33. Smith, K. L., Todhunter, D. A., Schoenberger, P. S. (1985) Environmental mastitis: cause, prevalence, prevention. J. Dairy Sci. 68: 1531-1553.
 34. Whitaker, D. A., Kelly, J. M., Smith, S. (2000) Disposal and disease rates in 340 British dairy herds. J. Vet. Rec. 146: 363-367.



IN VITRO ANTIBACTERIAL EFFECTS OF MARBOFLOXACIN ON MICROORGANISMS CAUSING MASTITIS IN COWS

Firouzi, R.¹, Rajaian, H.^{2*}, Mansourian Tabae, I.³, Saeedzadeh, A.¹

¹Department of Microbiology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

²Department of Pharmacology, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

³Graduated from the School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz-Iran.

(Received 17 January 2009 , Accepted 5 October 2009)

Abstract:

Mastitis, inflammatory disease of mammary glands, can be caused by various microorganisms. Many antimicrobial agents have been evaluated to combat the causative agents. Development of resistance in pathogens against conventional antibiotics may be high; hence at present study in vitro efficacy of a new fluoroquinolone antibiotic (marbofloxacin) against isolated pathogens from clinical mastitis was examined. Milk samples (73) were taken from 28 dairy farms around Shiraz. *Staphylococcus aureus* (24.1%), *Escherichia coli* (18.1%), *Streptococcus dysgalactiae* (9.3%), *Corynebacterium bovis* (9.3%), *Staphylococcus epidermidis* (3.7%) and *Pseudomonas aeruginosa* (3.7%) were identified among 54 bacterial isolates. Antibiotic sensitivity test (Kirby-Bauer method) was carried out for marbofloxacin, enrofloxacin, gentamicin, penicillin and tetracycline. Minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of marbofloxacin against sensitive bacteria were also determined. Results showed that we all isolated bacteria were sensitive to marbofloxacin, sensitivities against other antibiotics varied from zero to 94.1%. The values obtained as MIC and MBC of marbofloxacin against three bacterial isolates (*Staphylococcus aureus*, *Streptococcus agalactiae*, and *Staphylococcus epidermidis*) were in the range of 0.2 to 1.56 µg/ml and 0.8 to 6.25 µg/ml, respectively. Since the isolated bacteria showed adequate sensitivities to fluoroquinolones, it is concluded that marbofloxacin can successfully be used for treatment of affected cows with clinical mastitis.

Key words: mastitis, antibiotic susceptibility, marbofloxacin.

*Corresponding author's email: rajaian@shirazu.ac.ir, Tel: 0711 2286950, Fax: 0711 2286940

