

بررسی باکتریهای هوازی رحم گاو پس از زایمان طبیعی

دکتر مسعود حق خواه،
عضو هیأت علمی بخش میکروبیشناسی دانشکده دامپزشکی
دانشگاه شیراز
دکتر مجید اسدی
کارشناس اداره دامپزشکی شهرستان نیشابور

عفونت‌های غیر اختصاصی رحم گاو از مهم‌ترین عواملی هستند که باعث وارد آمدن ضررها اقتصادی فراوانی به صنعت دامداری می‌شوند. در زمان زایمان و بعد از آن، رحم به طور وسیعی مورد تهاجم باکتریها قرار می‌گیرد که پس از مدتی این باکتریها خود بخود دفع می‌شوند.

بررسی حاضر بر روی ده رأس گاو نژاد هشتادنain، بدون سایقه بیماری‌های تولید مثلی و با زایمان طبیعی، انجام شده است. از رحم این گاوهای در روزهای دوم، پنجم، هشتم، پانزدهم و بیست و سوم پس از زایمان نمونه‌گیری به عمل آمد و برای شناسایی باکتریهای هوازی کشت داده شد.

از ۵۰ نمونه گرفته شده مجموعاً ۱۱۱ باکتری از ۱۸ گونه مختلف به شرح زیر جداسازی و شناسایی گردید. جنس استریپتوكوک ۳۴ مورد (۳۰/۶۳٪)، گونه *E. coli* ۲۷ مورد (۲۴/۳۲٪)، جنس بسانلوس ۲۴ مورد (۰/۶۲٪)، جنس پاستورلا ۸ مورد (۰/۷٪)، جنس پروتئوس ۵ مورد (۰/۴٪)، جنس استافیلوکوک ۵ مورد (۰/۴٪)، گونه *Corynebacterium pyogenes* ۴ مورد (۰/۳٪) و باکتریهای *Alkaligenes faecalis* و دو باکتری معجهول مرکدام یک مورد (۰/۰٪).

تعداد باکتریهای جدا شده گرم مثبت، گرم منفی و تعداد کل در طول دوره نمونه گیری و نیز میانگین باکتریهای جدا شده در ۳ نوبت اول و ۲ نوبت آخر با تست آماری X² مورد ارزیابی قرار گرفتند. لازم به توضیح است که هیچگونه اختلاف معنی داری بین تعداد کل و باکتریهای گرم مثبت به طور جدا گانه در طول دوره نمونه گیری و نیز میانگین تعداد باکتریهای جدا شده در ۳ نوبت اول و ۲ نوبت آخر مشاهده نشد و تنها کاهش تدریجی تعداد باکتریهای گرم منفی با پیشرفت دوره نمونه گیری در سطح <۰/۰۵٪ از نظر آماری معنی دار است.

بطور کلی عواملی مانند شرایط جفرایی، مدیریت دامداری از نظر بهداشت و زایمان، تعداد زایمانهای گاو و تأثیر آنها بر روی فلور باکتریایی رحم گاو پس از زایمان مورد بحث قرار گرفته است.

نداشتند. هر گاو قبل از نمونه گیری معاینه عمومی شده و ترشحات رحمی نیز از نظر عفونت و چرکی شدن مورد بررسی قرار می‌گرفت و چنانچه علامت عفونت دیده می‌شد از سری نمونه گیری حذف می‌گردید. لازم به ذکر است که فقط یکی از گاوهای در نوبت پنجم نمونه گیری علامت اندومتریت را نشان داد.

ب - مواد و وسائل مورد نیاز

مواد و وسائل مورد نیاز شامل نمونه گیری و محیط‌های کشت باکتریایی بود. وسائل نمونه گیری عبارت بودند از پیپت‌های تلقیح مصنوعی به همراه اتصال پلاستیکی که در بسته‌بندی‌های کاغذی توسط اتوکلاو استریل می‌شوند. به علاوه تسهیل از اتوکلاو استریل می‌شوند. پوشش‌های پلاستیکی که پیپت‌ها قبیل از نمونه گیری داخل آنها قرار می‌گرفتند، سرنگهای استریل ۵۰ میلی لیتری و محلول سرم فیزیولوژی استریل. همچنین محیط‌های کشت موجود در آزمایشگاه که به طور معمول در تشخیص باکتریهای هوازی بکار می‌روند از جمله محیط‌های آگار خوندار، آگار مک کانکی، آبکوشت TSB، سیترات، اوره، اکسیداسیون - احیاء (OF)، حرکت، نیترات، TSI و محیط‌های قندی دکسترون، مالتوز، لاکتوز، ساکارز، مانitol و دستگاههای لازم از قبیل اتوکلاو، انکوباتور و غیره نیز مورد استفاده قرار گرفتند.

دارند. در این رابطه، گزارشات متعددی از جداسازی انواع مختلف باکتریهای از رحم گاوان پس از زایمان وجود دارد. *E. coli*, استریپتوكوکها، استافیلوکوکها، کوربینه باکتریوم‌ها، کلستریدیوم‌ها پروتئوس، میکروکوکها، پسودوموناس‌ها و پاستورولاها از جمله باکتریهایی مستند که در این مورد می‌توان به آنها اشاره کرد (۳، ۵، ۶ و ۱۰٪).

هدف از انجام این تحقیق، شناخت باکتریهای موجود در رحم گاو پس از زایمان طبیعی در شرایط موجود در منطقه مورد مطالعه بوده است.

مقدمه

الف - دامهای مورد نیاز

این بررسی بر روی ده رأس گاو نژاد هشتادنain در تابستان ۱۳۷۰ در یکی از دامداری‌های صنعتی منطقه بیضاء شیراز انجام شد. میانگین سن گاوهای ۵/۷ سال و متوسط فاصله دو زایش متواتی آنها ۱۳/۸ ماه و متوسط تعداد زایمان در این گاوهای ۳/۶ زایش بوده است. براساس تاریخچه دامداری گاوهای انتخاب شده همگی بر علیه بروسلوز واکسینه شده و تظاهرات کلینیکی بیماریهای ویریوز، تریکومونیاز، مایکوپلاسموز مورد بررسی قرار گرفته و هیچگونه بیماری قبیل از زایمان نداشتند. زایمان گاوهای مذکور همه طبیعی و بدون کمک و دستکاری بود و پس از زایمان نیز علامت بیماری یا عفونت را

یکی از اهداف عمده در صنعت گاوداری، افزایش تولید و بهره‌وری مطلوب است. در این رابطه عوامل متعددی می‌توانند به طور مستقیم یا غیر مستقیم موجب کاهش بازده تولید مثل گله شوند. یکی از این فاکتورها، عفونت‌های باکتریایی رحم پس از زایش است. در طول زایمان و دوره زمانی بلافاصله پس از زایش، بدليل فشار منفی حاصل از خروج جنین و نیز باز و شل بودن ناحیه فرج، واژن و سروریکس میکرووارگانیسم‌های محیطی و ناحیه واژن به رحم هجوم می‌آورند. وجود ترشحات و بافت‌های مرده در رحم، باعث تسهیل در رشد و تکثیر میکروارگانیسم‌های میزبور از جمله باکتریهایی می‌گردد. در شرایط طبیعی این الودگی‌ها بطور خودبخودی پس از مدتی دفع می‌شوند و محیط رحم استریل شده و برای پذیرش رویان بعدی آماده می‌شود. باکتریهای مورد بحث عمدتاً بر روی باروری گاو هیچگونه اثر سوء ندارند (۱).

در دو هفته اول پس از زایش ۹۳-۸۵٪ رحم‌ها آلودگی باکتریایی دارند، در حالیکه این رقم در روزهای ۴۶-۶ پس از زایش به ۰-۵٪ می‌رسد و باکتریهای فرصت طلب زیادی که اغلب جزء فلور دستگاه گوارش هستند، در این زمان در رحم وجود



در بررسی حاضر، ۱۲ نمونه (٪۲۴) به صورت کشت خالص بوده و فقط یک نوع باکتری از آنها جدا گردید و ۳۸ نمونه (٪۷۶) به صورت کشت مخلوط بوده است. از کشت‌های مخلوط، ۲۳ نمونه (٪۴۶) دو نوع باکتری، ۱۰ نمونه (٪۲۰) سه نوع باکتری، ۲ نمونه (٪۴) چهار نوع باکتری و ۳ نمونه (٪۶) پنج نوع باکتری داشتند. در این رابطه، نمونه‌های روزهای دوم، پنجم و نهم پس از زایمان، همگی بصورت مخلوط نمونه‌های روزهای پانزدهم و کشت‌های مخلوط نمونه‌های روزهای پانزدهم و پیش و سوم بترتیب ٪۵۰ و ٪۲۰ بود.

از تعداد ۱۱۱ باکتری جدا شده ۶۸ مورد (٪۶۱/۲۶) باکتریهای گرم مثبت ۴۳ مورد (٪۳۸/۷۳) باکتریهای گرم منفی بوده است. نحوه توزیع باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی در روزهای مختلف نمونه گیری در جدول شماره دو نشان داده شده است.

بحث

بطور کلی باکتریهای جدا شده در این بررسی معمولاً به عنوان باکتریهای فرصت طلب و غیر بیماری‌زا مطرح بوده و به فراوانی در محیط دامداری و مدفوع دام وجود دارند. این باکتریها که اثر سوء روی باروری گاو ندارند و در شرایط طبیعی

روی محیط‌های آگار خوندار و مک‌کانکی کشت داده می‌شد و مجداً به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفت. مراحل بعدی کار به ترتیب شامل تهیه کشت خالص، رنگ‌آمیزی گرم، انجام تست‌های بیوشیمیایی و تشخیص جنس یا گونه باکتری بود (۲).

نتایج

تعداد ۵۰ نمونه گرفته شده در این بررسی همگی مثبت بوده و مجموعاً ۱۱۱ باکتری از ۱۸ گونه از آنها بدرس آمد (جدول شماره یک). تعداد باکتری بدرس آمده از یک نمونه حداقل ۵ باکتری و حداقل یک باکتری بود.

باکتریهای جنس استریوتکوک شامل گونه‌های آلفا-همولیتیک و بتا-همولیتیک، جنس پاسیلوس شامل گونه‌های سرثوس، سوپتیلیس، کواگولاز و فیرموس، جنس پاستورلا شامل گونه‌های همولیتیکا و پنوموتروپیکا، جنس پروتئوس شامل گونه‌های ولگاریس و میراپیلس و جنس استافیلکوک شامل گونه‌های آرثوس و کواگولاز منفی بود. لازم به توضیح است که دو گونه باکتریایی علیرغم انجام مکرر تست‌های مختلف شناسایی نشده و در حین آزمایشات از بین رفته و از این رو به صورت مجھول باقی ماندند.

ج - روش کار

از اتمام گاوهای در روزهای دوم، پنجم، نهم، پانزدهم و بیست و سوم پس از زایمان، نمونه گیری به عمل آمد که جمعاً پنجاه مورد نمونه بدرس آمد. برای تهیه نمونه از رحم، ابتدا ناحیه پرینه حیوان با آب تمیز شده و پس از معاینه از طریق رکتوم، مجدداً ناحیه با ساولن رقیق و سپس آب شستشو داده می‌شد و با تامپون خشک می‌گردید. سپس پیست تلقيق مصنوعی که داخل پوشش پلاستیکی قرار داده شده بود را وارد واژن کرده و با فیکس کردن سرویکس از طریق رکتوم، پیست داخل رحم هدایت می‌شد. سعی بر این بود که انتهای پوشش پلاستیکی در اوخر سرویکس پاره شده و پیست وارد رحم شود. سپس بوسیله یک سرنگ ۵۰ میلی لیتری که بوسیله رابط پلاستیکی به انتهای پیست متصل بود، مایعات بداخل سرنگ کشیده می‌شد. البته در مواردی که حدس زده می‌شد حجم محتويات رحم کم و یا غلیظ باشد، ابتدا مقداری سرم فیزیولوژی استریل بسته به حجم رحم تزریق می‌شد و بعد نمونه گیری صورت می‌گرفت.

پس از اتمام نمونه گیری، یک قطره مایع جمع‌آوری شده به محیط (Tryptic Soy Broth) TSB آضافه شده و پس از انتقال سریع به آزمایشگاه به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد قرار می‌گرفت. پس از این مدت، از محیط TSB بر

جدول شماره ۱- تعداد و درصد باکتریهای مختلف جدا شده

ردیف	نام باکتری	تعداد	درصد
۱	استرپتوکوک	۳۴	۳۰/۶۳
۲	E. coli	۲۷	۲۴/۳۲
۳	باسیلوس	۲۴	۲۱/۶۲
۴	پاستورلا	۸	۷/۲۱
۵	پروثوس	۵	۴/۵۰
۶	استافلوبک	۵	۴/۵۰
۷	Actinomyces (corynebacterium) pyogenes	۴	۳/۶۰
۸	میکروکوک	۱	۰/۹۰
۹	Alkaligens faecalis	۱	۰/۹۰
۱۰	مجھول یک	۱	۰/۹۰
۱۱	مجھول دو	۱	۰/۹۰

باکتریوم و پاستورلا را بطور وسیعی از رحم گاوها بی که پس از زایش کشتار شده بودند، جدا کرد (۶). Hussain و همکاران (۱۹۹۰) نیز باکتریهای مختلفی شامل استرپتوکوک، E. coli، پروثوس، کلستریدیوم، باسیلوس، پاستورلا، کورینه باکتریوم و پرسینا را از رحم گاوها بی که زایش طبیعی و غیر طبیعی داشتند، جدا کردند. محققین مزبور هیچگونه اختلاف معنی داری بین باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی پیدا نکردند (۵)، در بررسی حاضر نیز بین باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی از نظر آماری در سطح $P < 0.05$ اختلاف معنی داری وجود ندارد.

بطور کلی دلالت تفاوت‌های که در نوع و میزان باکتریهای گزارش شده توسط محققین مختلف وجود دارد را می‌توان به شرح زیر بیان نمود:

۱- اختلاف در تکنیک‌های نمونه گیری.

۲- اختلاف شرایط کار و نوع نمونه (بطور مثال بعضی از محققین روی رحم گاو کشتار شده و برخی دیگر روی رحم گاو زنده مطالعه کرده‌اند و یا در بعضی از تحقیقات صرفاً بر روی ترشحات گاوان سالم با زایمان طبیعی کار شده در حالیکه در تحقیقات دیگر ترشحات بعد از زایمانهای غیر طبیعی کار شده در حالیه در تحقیقات دیگر ترشحات بعد از زایمانهای غیر طبیعی نیز مدنظر بوده است).

۳- شرایط نگهداری دام.

۴- تغیرات منطقه‌ای.

۵- مدیریت بهداشتی در زمان زایمان و بعد از آن همانگونه که قبل اشاره شد در بررسی حاضر کلیه نمونه‌های روزهای دوم، پنجم و نهم به صورت مخلوط و میزان کشت‌های مخلوط نمونه‌های روزهای پانزدهم و بیست و سوم نیز به ترتیب 50% و 20% بوده است. این نطلب نشانگر این است که به تدریج با گذشت زمان جمع شدن رحم کامل شده و آلدگی‌های رحمی کاهش می‌یابد و از طرفی مشخص می‌کند که در روزهای اول پس از زایش، آلدگی رحم بصورت مخلوطی از انواع باکتریها است و به مرور زمان تنوع باکتریای رحم نیز کم می‌شود. در این رابطه Morrow معتقد است که در عفونت‌های رحمی روزهای اول پس از زایش باید از آنتی‌بیوتیک‌های وسیع‌الطیف مانند Oxytetracycline و در روزهای آخر دوره پرپیوم از آنتی‌بیوتیک‌های اختصاصی تر مانند Penicillin استفاده شود و دلیل آن را وجود باکتریهای مختلف در روزهای اول بیان کرده که ممکن است به علت داشتن آنزیم‌هایی مانند پنی‌سیلیناز باعث غیر فعال شدن آنتی‌بیوتیک‌های اختصاصی شوند (۷).

در بررسی حاضر بیشترین باکتریهای گرم مثبت جدا شده استرپتوکوک و باسیلوس ($25/20\%$) و E. coli بیشترین باکتری گرم منفی جدا شده ($24/32\%$) بوده است که احتمالاً به دلیل انتشار وسیع و دائمی این باکتریها در محیط دامداری و مدفع دام می‌باشد. در این رابطه کاهش تعداد باکتریهای گرم منفی در طول دوره نمونه گیری در سطح $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار بوده و به نظر می‌رسد سیستم دفاعی دستگاه تناسلی و رحم در

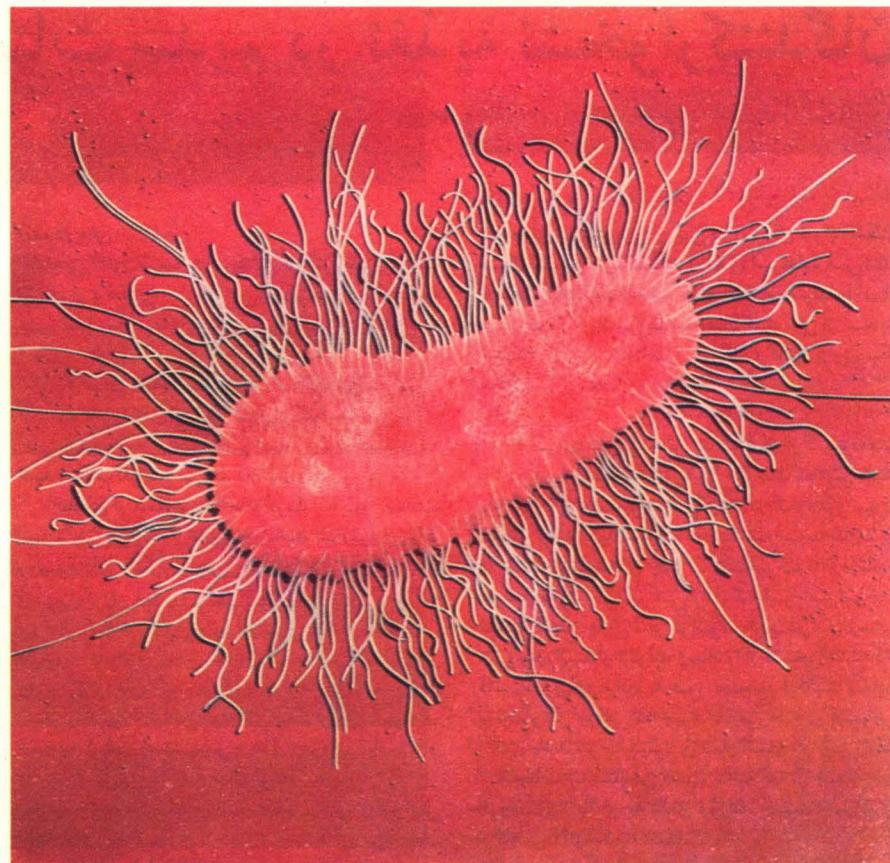
جدول شماره ۲- تعداد و درصد باکتریهای گرم مثبت و گرم منفی جدا شده در روزهای مختلف نمونه گیری

نوبت نمونه گیری	نوبت سوم	نوبت دوم	نوبت اول					
مجموع باکتری	باکتریهای گرم مثبت	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱۸	۱۳	۵۸/۰۶	۴۱/۹۳	۳۱	۲۷/۹۲	۱۳	۴۱/۹۳	۲۱
۱۶	۹	۶۴/۰۰	۳۶/۰۰	۲۵	۲۲/۵۲	۹	۳۶/۰۰	۲۵
۱۷	۹	۶۵/۳۸	۳۴/۶۱	۲۶	۲۳/۴۲	۹	۳۴/۶۱	۲۶
۹	۷	۵۶/۲۵	۴۳/۷۵	۱۶	۱۴/۱۴	۷	۴۳/۷۵	۱۶
۸	۵	۶۱/۵۳	۲۸/۴۶	۱۳	۱۱/۷۱	۵	۲۸/۴۶	۱۳

بطور خودبخودی پس از مدتی دفع می‌شوند. Williams (۱۹۸۸) هیچگونه ارتباطی بین فلور میکروبی طبیعی پس از زایش و اولین فحلی پیدا نکرد (۱۱). Elliott (۱۹۶۸)، ۳۳ گونه مختلف باکتری را از رحم ۶۶ رأس گاو پس از زایش جدا کرد که شامل استافیلوبک، پسودوموناس، کورینه باکتریوم، استرپتوکوک، میکروبک، آکالایجنز و پروثوس بود. وی بررسی خود را به دو روش فلاشینگ و کشت بافت آندومتریوم انجام داد. اکثر کشت‌های مثبت در بررسی Elliott مربوط به کشت بافت آندومتریوم بوده است. وی معتقد است که تعدادی از این باکتریها قادر به نفوذ به داخل بافت رحم هستند. در مطالعه Elliott هیچگونه باکتری از جنس‌های پاستورلا و باسیلوس جدا نشده است، دلیل این امر را می‌توان تأثیر آلدگی‌های محیطی بر روی فلور میکروبی رحم دانست. Studer و Morrow (۱۹۷۸) ۶ نوبت شده اند. در جداسازی، رحم گاو مزبور ترشحات چرکی داشته و جمع شدن رحم هم ضعیف بود. Paisley (۱۹۸۶) اظهار داشته است که در تلیسه‌ها به دلیل عدم وجود پادتن بر علیه C. pyogenes و بتاهمولیتیک شیوع آندومتریت بدست آمده Corynebacterium pyogenes است. دلیل جدا شدن از استرپتوکوک بوده است. دلیل جدا شدن از استرپتوکوک بکتریهای کورینه

منابع مورد استفاده

- Arthur, G. H., Noakes, D. E., Pearson, H. 1989, Veterinary reproduction and obstetrics. Bailliere Tindall Publication.
- Carter, G. R., Cole, J. R. 1990, Diagnostic procedures in veterinary bacteriology and Mycology, Academic press.
- Dobson, D. P., Noakes, D. E. 1990, Use of a uterine pessary to prevent infection of the uterus of the cow after parturition. Veterinary Record 127, 128-131.
- Elliott, L., McMahon, K. J., Gier, H.I T. and Marion, G. B. 1968, Uterus of the cow after parturition: Bacterial content. Am. J. Vet. Res. 29 (1) 77-81.
- Hussain, A. M., Doniel, R. C. W., and LO'Boyle, D. 1990, Postpartum uterine flora following normal and abnormal puerperium in cows. Theriogenology 34(2)291-301.
- McCaughay 1982, An assessment of a flushing technique for the study of the microbiology of the bovine uterine tube, Irish Vet. J. 36, 25-26.
- Morrow, A. D., 1986, Current therapy in theriogenology, diagnosis, treatment and prevention of reproductive diseases in small and large animals. Saunders Co.
- Paisley, L. G., Mickelsen, W. d., and Anderson, P. B. 1986, Mechanisms and therapy for retained fetal membranes and uterine infections of cows: A review. Theriogenology 25(3)353-371.
- Peter, A. I., Bosu, W. T. K. 1988, Relationship of uterine infections and folliculogenesis in dairy cows during early puerperium. Theriogenology 30(6) 1045-1051.
- Studer, E., Morrow, A. D., 1978, Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: Comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. J.A.V.M.A. 172(4) 489-494.
- Williams, B.L., Senger, P.L., Stephens, L. R., and Ward, A.C.S., 1988, Relationship between days postpartum, observed estrus and uterine microflora in commercial dairy cows. Theriogenology 30(3) 555-561.



یافته و در روزهای ۱۵-۱۰ افزایش می‌یابد و این تغییرات هم‌زمان با اولین رشد فولیکولی است (۴، ۹ و ۱۰).

Peter و Bosu (۱۹۸۸) با انجام تحقیقاتی ارتباط مستقیم رشد فولیکولی و عفونت رحمی را بیان داشته و معتقدند در عفونت‌های رحم، اندوتروکسین باکتریها بر روی محور هیپوتالاموس - هیپوفیز تخدمان آثر کرده و رشد فولیکولی را به تأخیر می‌اندازد. به علاوه به صورت تجربی ثابت شده تزریق داخل رحمی اندوتروکسین *E. coli* رشد فولیکولی و افزایش هورمون LH قبل از تخمک اندازی را متوقف کرده است (۹).

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقایان دکتر احمد رضا ربیعی و دکتر محمد هاشم فاضلی بخاطر مساعدت در تهیه نمونه‌ها، آقای محمدرضا سروقد بخاطر مساعدت در انجام کارهای آزمایشگاهی و آقای دکتر حبیب‌ا... دادرس بخاطر بازنگری متن نهایی مقاله تشکر و قدردانی می‌شود.

این امر دخالت دارد، در حالیکه کاهش تعداد باکتریهای گرم مثبت معنی دار نیست.

در بررسی حاضر همچنین بیشترین باکتریهای که در روزهای دوم و پنجم نمونه گیری بودت آمد استرپتوبکوها و باکتریهای روده‌ای بودند که مجموع این باکتریها در روزهای ذکر شده به ترتیب ۷/۶۱/۲۸ و ۷/۷۲٪ می‌باشد. Dobson و Noakes (۱۹۹۰) نیز بیشترین باکتریهای را که در ۲۴ ساعت اول پس از زایش جدا کرده‌اند شامل استرپتوبک، *E. coli*، استافیلوکوک و باسیلوس‌ها بوده و یادآور شده‌اند که در روزهای دوم و سوم میزان باکتری *E. coli* کاهش یافته و لی استرپتوبکوها افزایش یافته است (۳).

همانگونه که در جدول شماره دو مشاهده می‌شود بیشترین تعداد باکتری جدا شده مربوط به روزهای دوم، پنجم و نهم پس از زایش با میانگین ۲۷/۳۳ است و بین این ۳ نوبت با ۲ نوبت آخر نمونه گیری (با میانگین ۱۴/۵)، از نظر آماری اختلاف معنی داری وجود ندارد. در این رابطه گزارشات متعددی مبنی بر اینکه در دو هفته اول پس از زایش مقدار زیادی از آلدگی‌های رحمی رفع می‌شود وجود دارد. Morrow نیز معتقد است سرعت جمع شدن رحم بین روزهای ۴-۹ کاهش