Iraqi Journal of Science

عزل بعض المسببات الفطرية لالتهاب الضرع تحت السريري في الابقار لمحافظة الانبار

عدي كريم لعيبي[1]* ، اماني محمد راضي[1] ، عمار حقي سلمان[2]

[1] فرع الطب الباطني والوقائي ، كلية الطب البيطري ، جامعة بغداد

[2] فرع الفسلجة والادوية ، كلية الطب البيطري ، جامعة الانبار

الخلاصة :

صممت هذه الدراسة لعزل بعض المسببات الفطرية لالتهاب الضرع تحت السريري من حليب الابقار في محافظة الانبار –العراق . حيث جمعت 100 عينة حليب من 25 بقرة في مدينة الفلوجة وباستخدام اختبار كاليفورنيا ، وجد 45% من عينات الحليب كانت مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري بينما كانت 55% من العينات سالبة لاختبار كاليفورنيا . اظهرت نتائج العزل الفطري للعينات الموجبة لاختبار كاليفورنيا ، تسجيل 19 عزله من انواع مختلفة من الفطريات وهي فطر *Aspergillus fumigatus* بنسبة 2.2% و *Aspergillus niger* بنسبة 4.4% و*Candida albicans* بنسبة 26.6% ، *Blastomced dermetitidis*.4.4%، *Geotrichum candidum* بنسبة 4.4 %.وقد يعزى سبب عزل انواع مختلفة من هذه الفطريات الى عدة عوامل منها الادارة السيئة ، العلاج بمركبات Corticosteroid و المضادات الحيوية لفترات طويلة فضلا عن ظروف المناخ غير الملائمة واهمال الدفقات الاولى اثناء الحلب تعتبر جميعها عوامل تهيئ وتزيد فرصة الاصابة بالتهاب الضرع الفطري .

الكلمات المفتاحية: الفطريات، التهاب الضرع تحت السريري، الابقار، الانبار.

Isolation of some fungal agents for sub acute mastitis cows inAL-Anbar province

Oday K. luaibi[1*] , Amanee M. Radhy[1] , Ammar H. Salman[2]

1 Dept. of Veterinary Internal and Prevent. Medicine , College of Veterinary Medicine , University of Baghdad.

2 Dept. of Physiology and Pharmacology. Medicine , College of Veterinary Medicine , University of Anbar.

Abstract

This study was designed for isolation of some fungi that caused sub clinical mastitis in cow milk in AL-anbar governorate in Iraq . Total number of 100 milk samples were collected from 25 cow in AL- Falluja city , by using of California mastitis test 45% of milk samples were infected with sub clinical mastitis ,while 55% of milk samples were negative for California mastitis test. The results showed of fungal isolation of milk samples which were positive for California mastitis test, recording 19 isolates of different types of fungi : *Aspergillus fumigatus*2.2% , *Aspergillus niger* 4.4% , *Candida albicans* 26.6% , *Blastomced dermetitidis*% 4.4 and *Geotrichum candidum*4.4%. The isolation of these types of fungi, may be attributed to many factors like Poor management ,treatment with corticosteroid and antibiotic compound for long times, As well as the unfavorable climate conditions

*Email: Dr.odaylauibi@yahoo.com

and neglecting the bursts during the first milking are all factors that create and increase the chance of fungal mastitis.

Keywords: fungi , subclinical mastitis , cow , Al- Anbar.

المقدمة :

يعتبر التهاب الضرع واحدة من اهم المشاكل الصحية في الابقار [1] تم اول تشخيص لالتهاب الضرع الفطر في عام 1930 ومنذ ذلك الوقت تشخيص الفطريات كمسببات لتهاب الضرع في بلدان عديدة حول العالم [2]. ويصنف التهاب الضرع من الناحية السريرية الى التهاب الضرع السريري وتحت السيري والفرق بينهما انه في النوع الاول تكون اعراض الالتهاب ظاهرة بينما النوع الثاني لاتظهر علامات الالتهاب [3]. العديد من الفطريات تكون من مسببات التهاب الضرع وتعتبر *Candida albicans* و *Cryptococcus neoformans* من اكثر الفطريات شيوعا في حالات الالتهاب الضرع الفطري في الابقار [4] هذا وقد وجد [5] وجماعته ان هناك 18 نوع من الفطر يسبب التهاب الضرع الفطري في الابقار وبنسب مختلفة تراوحت بين 88% لجنس *Aspergillus spp.* و 16% لجنس *Fusarium spp.* و 8% لكل من *Pencillium spp.* و *Cladosporium spp.* و 4% لجنس *Alternaria spp.* و 60% لـ *Candida albicans* و24% *Candida tropicalis* . يعتبر اختبار كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع احد اكفأ الاختبارات الحقلية المستخدمة في الكشف عن الحالات التهاب الضرع تحت السريري [6] . هدفت الدراسة الى عزل بعض المسببات الفطرية من عينات الحليب الموجبة لاختبار كاليفورنيا لحالات التهاب الضرع تحت السريري في الابقار.

المواد وطرائق العمل :

حيوانات الدراسة : اجريت الدراسة على 25 بقرة مرضعة من سلالات محلية مضربة في محافظة الانبار ، ومضى على الولادة الاخيرة لكل بقرة مدة لاتقل عن 3 اشهر ، علما ان جميع الابقار لم تفطم مواليدها الى اليوم الذي تم فيه جمع العينات .

الفحص السريري : اجري الفحص السريري على الابقار وسجلت العلامات الظاهرة عليها ان وجدت، وتم تصنيف حالات التهاب الضرع اعتماد على [7,3] بالشكل التالي : التهاب الضرع السريري وهي الحالات التي ظهرت فيها تغيرات عيانية على الحليب او الضرع او الاثنين معا . اما التهاب الضرع تحت السريري وهي الحالات التي لم تظهر فيها اي علامات على الضرع او الحليب ، والتي خضعت عيناتها لاختبار كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع .

عينات الحليب : تم غسل الضرع لكل بقرة بالماء ومن ثم تعقيمه بمحلول اليود 2% ثم جفف الضرع جيدا بقطعة قماش نظيفة ، ومسحت فتحة الحلمة بالكحول الاثيلي 70% وتركت الخرطات الثلاثة الاولى ، ثم جمعت عينات الحليب في انابيب اختبار معقمة وتم تثبيت رقم البقرة وربع الضرع الذي اخذت منه العينة .

اختبار كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع California Mastitis Test (CMT) : خضعت عينات الحليب السليمة ظاهريا (100 عينة)، لاختبار كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع اعتمادا على الطريقة [8]، وتم احتساب حساسية الاختبار وخصوصيته اعتمادا على [9] وبالشكل التالي :

نتيجة الاختبار CMT	النتجة الحقيقية (نتيجة الزرع)		المجموع
	مصاب	غير مصاب	
مصاب	A	B	a+b
غير مصاب	C	D	c+d
المجموع	a+c	b+d	a+b+c+d

الحساسية = وهي قابلية الاختبار على الكشف عن الحالات المصابة وتحسب بالمعادلة التالية: a/a+c x 100

الخصوصية = وهي قابلية الاختبار على الكشف عن الحالات غير المصابة وتحسب بالمعادلة التالية : b/b+d x 100

الاوساط الزرعية : تم استعمال الوسط الزرعي اكار الساباورد- دكستروز sabouraud's dextrose agar المجهز من شركة biomerieux لاجراء الزرع الفطري ، وقد اضيف اليه الكلورامفينيكول بمقدار 0.05 غم/لتر لمنع التلوث البكتري . وتم استخدام وسط المرق المغذي nutrient broth المجهز من نفس الشركة سابقا ، وقد استخدم هذا الوسط للتاكد من وجود او عدم وجود بكتريا ، وذلك لحساب نسب الاصابة الكلية بالتهاب الضرع وتقييم حساسية وخصوصية التهاب كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع فقط من دون الاستمرار في خطورات تشخيص البكتريا ،حيث لم تتناول الدراسة المسببات البكتيرية وانما اقتصرت على المسببات الفطرية فقط .

الفحوصات المختبرية : تم اجراء اختبار تكوين الانبوب الجرثومي لخميرة المبيضات البيضاء بحسب الطريقة التالية : تم زرع كمية صغيرة من مستعمرات المبيضات في 0.5 مل من المصل الاغنام ، ثم حضنت بدرجة 37 م° لمدة 2-3 ساعات ، ثم فحصت قطرة من المصل تحت المجهر الضوئي وبقوة تكبير 40 [7] .

الصبغات : تم استخدام صبغة المثيلين الزرقاء لصبغ الشرائح المعدة من المستعمرات الفطرية النامية واستخدمت صبغة كرام لصبغ مستعمرات المبيضات البيضاء النامية وذلك للتفريق بينها وبين بعض المستعمرات البكتيرية النامية على وسط المرق المغذي .

عزل وتصنيف الفطريات : زرعت عينات الحليب على وسط اكار الساباورد – دكستروز المضاف اليه الكلورامفينيكول بمقدار 0.05 غم /لتر ، وحضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 5 ايام ، وبدرجة حرارة 25م° لمدة اقصاها 4 اسابيع لاعطاء الفرصة لنمو الشكل الخميري للفطريات ثنائية الشكل ، وقد تم تمييز الفطريات بحسب الصفات المظهرية والمجهرية اعتمادا على [10,7].

حساب احمتالية الخطا في تشخيص الحالات الموجبة : تم حساب احتمالية حدوث الخطا في الكشف عن الحالات المصابة من خلال مقارنة نتيجة الزرع بحجم العينة اعتماد على جدول احتمالات [11].

النتائج والمناقشة:

يعتبر التهاب الضرع واحدة من اهم المشاكل الصحية في الابقار ويسبب خسائر اقتصادية للبلدان التي تعاني باستمرار من حدوث مرض التهاب الضرع بشتى انواعه ، سجلت نتائج هذه الدراسة نسبة عالية بالاصابة الفطرية لالتهاب الضرع في الابقار حبث عزلت 19 عزله من انواع مختلفة من الفطريات جدول [2] ، وقد يعزى سبب ارتفاع هذه النسبة الى عدة عوامل منها الادارة السيئة ، العلاج بمركبات Corticosteroid و المضادات الحيوية لفترات طويلة التي تؤدي الى حدوث تثبيط مناعي للجسم وعامل اجهاد قوي يساعد الى غزو سبورات هذه الفطريات للنسيج الضرعي فضلا عن ظروف المناخ الملائمة واهمال الدفقات الاولى اثناء الحلب تعتبر جميعها عوامل تهيئ وتزيد فرصة الاصابة بالتهاب الضرع الفطري .

اظهرت نتائج الدراسة الحالية من خلال فحص 100 عينة حليب للخمسة وعشرون بقرة في مدينة الفلوجة وباستخدام اختبار كاليفورنيا ، ان 45% من الابقار كانت مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري بينما كانت 55% من العينات سالبة لاختبار كاليفورنيا جدول [1] . وسجلت نتائج العزل الفطري للعينات المصابة الموجبة لاختبار كاليفورنيا ، عزل فطر *Aspergillus fumigatus* بنسبة 2.2%و *Aspergillus niger* بنسبة 4.4% و*Candida albicans* بنسبة 26.6% ، *Blastomced dermetitidis* 4.4%، *Geotrichum candidum* بنسبة 4.4 % جدول- 2 .

جدول 1- يوضح النسب الموجبة والسالبة لعينات الحليب لاختبار CMT

عدد العينات السالبةCMT	عدد العينات الموجبة CMT	عدد عينات الحليب الكلية
%55	%45	100

جدول 2 – يشير الى نسب وعدد العزل للاجناس الفطرية لعينات الحليب الموجبة لاختبار CMT

النسب	عدد العزلات	نوع الفطر المعزول	عدد العينات الموجبة للعزل الفطري	عدد العينات
%2.2	1	*Aspergillus fumigatus*	19	45
% 4.4	2	*Aspergillus niger*		
% 26.6	12	*Candida albicans*		
% 4.4	2	*Blastomced dermetitidis*		
% 4.4	2	*Geotrichum candidum*		

سجلت اعلى نسبة اصابة بخمائر*Candida albicans* بنسبة 26.6 % وجاءت مطابقة مع ماسجله [12] حيث كانت 25% في الهند ، بينما لم نتفق مع كل من [13]في تركيا و[16] في الصين الذين لم يتمكنوا من عزل *Candida albicans* من الابقار المصابة بالتهاب الضرع. وكانت نتائجنا اعلى بكثير ما توصل اليه[17] في اليونان حيث سجل نسبة اصابة بالنوع نفسه 10.5% ، في دراستنا هذه قد يرجع السبب في ارتفاع نسبة الاصابة بـ *Candida albicans* الى ملائمة الظروف المناخية من حيث الرطوبة ودرجات الحرارة المرتفعة التي تسهم في زيادة الاصابة بهذا النوع . وقد تطابقت نسب عزل كل من *Aspergillus niger* ، *Blastomyced dermetitidis*، *Geotrichum candidum* وسجلت اقل نسبة عزل للنوع *Aspergillus fumigatus* وهذه النسب كانت اقل بكثير مما توصل اليه [12] حيث سجلوا نسبة اصابة عالية بالنوع *Aspergillus niger* 17.5% و *Aspergillus fumigatus* 20% في الهند بينما سجل [14] في مصر نسبة مقاربة لما سجل في دراستنا الحالية بالنوع *Aspergillus fumigatus* حيث كانت 3.8% في حين لم تتفق نتائجنا مع [18]الذي تمكن من عزل النوع *Aspergillus niger* من الابقار المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري في العراق . فقد تمكنا في دراستنا الحالية من تسجيل عزلتين للنوع *Blastomyced dermetitidis* من حليب الابقار المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري ولم نتمكن من ايجاد اي بحوث سجلت اي نسبة اصابة بهذا النوع . وسجل نسبة الاصابة بالنوع *Geotrichum candidum* 4.4% وهذه النسبة مقاربة لما توصل اليه [17] الذي سجل نسبة اصابة 5.2% بهذا النوع ، بنيما كانت نتائجنا اعلى مماتوصل اليه [15] في المانيا حيث سجل اصابة منخفضة بهذا النوع 0.81% في حين لم تتفق نتائجنا مع [18] الذي لم يتمكن من عزل هذا النوع من الابقار المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري في العراق .

نوصي بتوجيه الانتباه وتسليط الضوء على انتشار التهاب الضرع الفطري نظرا لزيادة حدوثه خاصة مع زيادة اعطاء المضادات البكتيرية والعلاجات المختلفة بدون عزل مسبق او اجراء اختبار الحساسية للعوامل المسببة .

المصادر:

1- Gonzales, R.N. and Protothera . **1996**. Yeast and *Bacillus* mastitis, proceeding of the national mastitis council (U.S).meeting, *Nashville,tennessec, USA*,35th ,pp:82-92.

2- Elad, D. ;Shpigel,Y.N.,Winkler, M. Kinger, I. ,Fuchs,V. Saran, A. and Faingold, D. **1995**. Feed contamination with *Candida krusei* as a probable source of mycotic mastitis in dairy cow .*J.A.M.Vet. Me. Associ*.207,pp:620-622**.**

3- Radostits, O.M. Gay, C.C. Hinchcliff, K.W. and Coustable , P.D. **2007**.*Veterinary medicine textbook of the diseases of cattle, horses ,sheep,pigs and goats* .10th edition,Philadelphia,saunders ,Elsevier .

4- Shimaa, A. ,Hsamkotb,K. , A. and Mohamed, R. **2011**. Prevalence of *Candida albicans* and *Crytococcus neoformans* in animals from Quena covernorate with special references to RAPD-PCR pattern,*J. American science*,7(12), pp:20-31.

5- Atef, A.H., Mogeda, K.M., Houayda,M., Nohuha,H.A.,O. and Rasha, M.H. S. E.. **2012**. Studies on Mycosis and Mycotoxicosis in cattle, *Bulletin of Environment, pharmacology and life sciences*, 1(3), pp:23-31.

6- الكبيسي ، صلاح محمود عاشور، **2008** . التهاب الضرع الفطري السريري وتحت السريري وحساسية خصوصية اختبار كاليفورنيا في تشخيص التهاب الضرع تحت السريري في النعاج في مدنية الفلوجة، *مجلة الانبار للعلوم البيطرية*، المجلد(1)،العدد(1)،ص: 47-57.

7- Quinn, P.J., Carter, M. G., Marky, B. and Carter, G.R. **2002**.*Clinical veterinary microbiology* ,M. Wlofe ,London.

8- Schalm, O.W., Carrol, E.J. and Jain, N.C. **1971** .*Bovine mastitis*,1st edition, Philadelphia,Lee and frebiger.

9- Thrusfield ,M. **1986**. *Veterinary epidemiology* , Butterworth and Co.Ltd.London.

10- Baron, E.J. and Finegold, S.M. **1990**. *Baily and scotts Diagnostic Microbiology*,8th editions ST.Louis,Th.C.V.Mosby company.

11- Cannon, R.M. and Roe, R.T. **1982**. *Livestock disease surveys: Afield manual for Veterinarians* , Australian government publishing service,Canberra.

12- Pachauri, S.,Varshney, P., Dash ,S.K. and Gupta, M.K. **2013**. Involvement of fungal species in bovine mastitis in and around Mathura,India. *Vet.World .Org*. pp:393-395.

13- Turkyilmaz , S. and Kaynarca, S. **2010**.The slime production by Yeasts isolated from subclinical mastitis cows. *Acta.Vet. Brono*.79, pp:581-586.

14- Abd El-Razik, K.A., Abdelrahman,K.A., Abd-El-Moez, S.I. and Danial. E.N. **2011**. New approach in diagnosis and treatment of bovine mycotic mastitis in Egypt. *African J. Microbiology Research* . 5(31), pp:5725-5732.

15- Furowicz, C.D., Karakulska, J. and Silecka, A. **2008**. Etiological agents of mastitis in dairy cows on a farm in the west Pomeranian region . *Acta.Sci.Pol.,Zootechnica*.7(1), pp:3-10.

16- Zhou,Y.,Ren,Y., Fan,C.,Shao,H., Zhang, Z., Mao,W.,Wei,C.,Ni,H., Zhu,Z., Hou,X., Piao, F. and Cui,Y. **2013**.Survey of mycotic mastitis in dairy cows from Heilongjiang province,China.*Trop.Anim.Health.prod*.,45(8), pp:1709-14.

17- Bourtzi-Hatzopoulou, E., Zdragas ,A. , petridou, E. and Filiousis, G. **2003**.Yeasts as acausative agent of bovine mastitis in Greece .*J.Hellenic Vet.Med.Society*.,54, pp:105-110.

18- Sahan, H.F. **2011** .Prevalence of mycotic mastitis in cows of Missan governorate ,MSc Thesis-College of Veterinary Medicine,University of Baghdad,Iraq.