دراسة حساسية المضادات الحيوية على جراثيم المكورات العنقودية غير المنتجة لخميرة التجلط المعزولة من حالات التهاب الضرع في الأبقار

ابتهال نوفل محمود وجورجيت نيسان شمعون

كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل

الخلاصة

فحصت 141 عينة حليب عائدة لـ 27 بقرة مصابة بالتهاب الضرع السريري و114 بقرة شخصت اصابتها بالتهاب الضرع تحت السريري بعد اجراء اختباري كاليفورنيا ووايت ساید على عينات حليبها، جمعت العينات من مناطق مختلفة في مدينة الموصل. بعد العزل الأولي للعينات أجريت الفحوصات الجرثومية على كافة العزلات، فتم عزل 33 (23.40%) عزلة لجراثيم المكورات العنقودية غير المنتجة لخميرة التجلط، كانت الجراثيم *S.chromogenes* و *S.epidermidis* هي السائدة في حالة التهاب الضرع السريري، بينما في الحالة تحت السريرية كانت جرثومة *S.haemolyticus* الأكثر تكراراً في العزل. اجري اختبار فحص الحساسية على الجراثيم المعزولة فأظهرت نتائج الاختبار وجود مقاومة مطلقة للمضاد الحيوي Ampicillin و90.9% Penicillin-G، بينما سجلت اقل نسبة مقاومة وأعلى نسبة حساسية للمضاد الحيوي Chloramphenicol 27.27%،57.57% على التوالي، فضلاً عن إن الجراثيم المعزولة أعطت حساسية ومقاومة متباينة للمضادات الحيوية الأُخرى. ان استعمال المضادات الحيوية بصورة عشوائية وعدم اتمام العلاج للحيوان من قبل المربي، انتج نبيت طبيعي مقاوم لأغلب المضادات البيطرية الشائعة الاستخدام، والذي بإمكانه ان يصبح ممرضاً عند توفر الظروف المواتية له، وهذا ما أظهرته نتائج الدراسة الحالية.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع، جراثيم المكورات العنقودية غير المنتجة لخميرة التجلط، مضادات حيوية.

e-mail: ebtehalnm17@gmail.com.

Received: 15-7-2018 Accepted: 19-8-2018

Study of antibiotic susceptibility of Coagulase- Negative staphylococci isolated from bovine mastitis

Ebtehal Nowfal Mahmmoud and Gorgaite Nesan Shamoon

College of Veterinary Medicine/ University of Mosul

Abstract

A total of 141 milk samples were tested belong to 27 cows infected with clinical mastitis and 114 cows were diagnosed with subclinical mastitis after detected their milk samples by California Mastitis and Whiteside tests, samples were collected from different areas of Mosul city. After the first isolation, the biochemical tests were carried out on all isolation. The samples showed 33 (23.40%) isolates of Coagulase-Negative Staphylococci (C-NS). *S. chromogenes* & *S. epidermidis* were predominant in clinical mastitis, while in the sub-clinical cases the *S. haemolyticus* was most frequently in isolation. The sensitivity test was carried out on isolated bacteria. The test results showed that there was absolute resistance to ampicillin and 90.9% for Penicillin-G, while the lowest resistance and highest sensitivity of Chloramphenicol was 27.27%, 57.57%, respectively, as well as, isolated give varying sensitivity and resistance to other antibiotics. The use of antibiotics at random and the non-completion of treatment the animal by the owner lead to produce a normal flora resistant to most common veterinary antibiotics used, which can become a pathogen when conditions are available, this shown by the results of the current study.

Key word: Mastitis, Coagulase-Negative Staphylococci, antibiotic.

المقدمة

يسبب التهاب الضرع تغييرات فيزياوية، كيمياوية، مرضية وجرثومية في الحليب ونسيج الغدد اللبنية، اذ يعد واحداً من اهم الامراض الشائعة والمكلفة في قطيع ماشية الحليب مسبباً خسائر اقتصادية كبيرة في هذا القطاع، إذ تقدر هذه الخسائر بـ 180 دولاراً لكل بقرة سنوياً عندما لا يسيطر على المرض، وتتمثل في خسارة انتاج الحليب والعلاج الاضافي للحيوانات المصابة واستبعادها من القطيع (1، 2). اعتبرت جراثيم Coagulase-Negative Staphylococci (C-NS) من الممرضات السائدة والمتكررة الحدوث لمرض التهاب الضرع في الابقار في السنين الاخيرة (2)، وهي تعد من الممرضات الثانوية والفرصية Opportunistic pathogens في إحداث هذا المرض، وبما أنها تستوطن جلد الحلمات وقناتها فهي تستطيع إصابة الغدد اللبنية أثناء عملية الحلب أو حدوث الجروح مما ينتج عنه التهاب الضرع (3). إن إصابة الضرع بوساطة هذه الجراثيم يرافقها التهاب خفيف للغدد اللبنية مع ارتفاع للخلايا البيض في الحليب دون وجود أية علامة سريرية للالتهاب ولهذا يطلق عليه التهاب ضرع غير سريري، ولكن بإمكانها أن تتسبب بحالات التهاب ضرع سريري (2). تصاب الأبقار الصغيرة العمر التي تلد لأول مرة أكثر من غيرها بهذه الجراثيم، والانواع الاكثر شيوعاً هي جراثيم *S. chromogenes* ، *S. epidermidis* ، *S.xylosus* و *S. simulans*، إذ تتراوح نسبة إصابتها (20-50%) (4)، وإصابة مثل هذه الأبقار بعمر مبكر يعمل على منع تطور النسيج المفرز للحليب حتى وان كان التهاب الضرع خفيفاً، وبالتالي يقل إنتاج الحليب مقارنة بالأرباع الطبيعية، لذلك فان التهاب الضرع في هذه الأبقار يكون مهماً من الناحية الاقتصادية، وصحة الغدد اللبنية لهذه الأبقار تؤثر على إنتاج ونوعية الحليب في المستقبل (5، 6). إن استخدام المضادات الحيوية في مجال الطب البيطري شائع بشكل كبير في الحيوانات الحقلية وذلك للوقاية والعلاج ولزيادة النمو وكإضافات علفية، ويعد التهاب الضرع أهم الأمراض التي تستخدم لأجلها المضادات لمعالجة الحيوانات الحقلية، وبسبب حدوث نسب عالية من الإصابة به وزيادة استخدام المضادات بشكل كبير خاصة في قطعان ماشية الحليب، أدى ذلك الى إنتاج مكورات عنقودية مقاومة للمضادات (7). تميل جراثيم C-NS عادة لان تكون اكثر مقاومة للمضادات الحيوية من جرثومة *S. aureus*، ومن السهل عليها ان تطور مقاومة ولعدد متنوع من المضادات، ومعظم المقاومة الشائعة في جنس المكورات العنقودية هي لمضادات مجموعة β–lactam (8)، ولقد وجد إن معظم المكورات العنقودية تحتوي على البلازميدات التي تنتقل البعض منها عبر الاقتران Conjugation بين الأنواع المختلفة لهذا الجنس، وهذه هي آلية انتقال المقاومة للمضادات خاصة مضادات Aminoglycosides ومضادات مجموعة β-lactam ، ولقد ذكرت الدراسات إن الترانسبوسونات Transposons في جراثيم C-NS تنقل الجينات المقاومة عبر البلازميدات ومن البلازميدات إلى موقع الكروموسومات في هذه الجراثيم (9، 10). لقلة الدراسات المحلية حول هذه الجراثيم المعزولة من حليب الابقار المصابة بالتهاب الضرع ارتأينا اجراء هذه الدراسة لمعرفة نسب تواجدها في حالة التهاب الضرع السريري وتحت السريري وحساسيتها للمضادات الحيوية الشائعة الاستخدام من الناحية البيطرية.

المواد وطرائق العمل

جمعت 141 عينة حليب بعد تنظيف وتعقيم الحلمات، منها 27 عينة من ابقار اظهرت علامات التهاب الضرع السريري و 114 عينة من بقرة مصابة بالتهاب الضرع تحت السريري، تراوحت اعمارها بين سنتين الى خمس سنوات. استخدم اختباري كاليفورنيا ووايت ساید للكشف عن حالات التهاب الضرع تحت السريري، واتبعت طريقة Schalem في قراءة وتسجيل النتائج حسب درجات التفاعل (11)، بعدها زرعت العينات على وسط أكار الدم وحضنت بدرجة 37 مْ لمدة 24 ساعة، شخصت العزلات وذلك بالاعتماد على شكل المستعمرات وصبغة كرام واختبار الكاتليز والاوكسيديز واختبار التجلط بنوعيه، نمط التحلل والقدرة على إنتاج الحمض من سكر الكلوكوز

والمانيتول تحت الظروف الهوائية، فضلاً عن استخدام اختبارات تشخيصية أخرى مثل اختبار تخمر السكريات واختبار التخمر التأكسدي، اختبار الفوكس- بروسكاور واختبار اختزال النترات، وتضمنت الاختبارات المعززة على اختبار النمو في تراكيز ملحية عالية وإنتاج الحمض من الكليسيرول وإنتاج الخضاب واختبار تحلل الاسكولين (12، 13). استخدمت أقراص مفردة 12 مضاداً حيوياً والمصنعة من قبل BIOANALYSE و OXOID لإجراء اختبار فحص الحساسية على العزلات الجرثومية وبتراكيز معينة، وقسمت الأقراص على طبقين، واتبعت طريقة Kirby-Bauer method المحورة والمنشورة في نشرة منظمة الصحة العالمية وذلك باستخدام وسط مولر- هنتون، حيث صنفت الجراثيم إلى مقاومة وحساسة بالاعتماد على قياس قطر منطقة التثبيط (14، 15) والجدول (1) يوضح مقاييس منطقة تثبيط النمو من قبل المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة للعزلات الجرثومية.

جدول (1) مقاييس قطر منطقة التثبيط للمضادات الحيوية

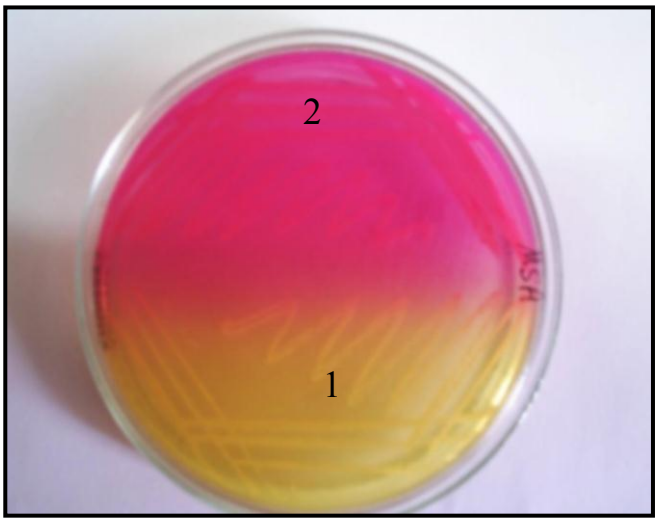
	Antibiotic	Zone of inhibition (mm.)		
		Resistant	Intermediate	Sensitive
1	Ampicillin (AM 10)	22 or less	23-30	31 or more
2	Penicillin-G (P 10IU)	28 or less	-	29 or more
3	Enrofloxacin (ENR 5)	15 or less	16-20	21 or more
4	Streptomycin (S 10)	11 or less	12-14	15 or more
5	Erythromycin (E 15)	13 or less	14-22	23 or more
6	Trimethoprim-Sulfumethoxazole (SXT 1.25)	10 or less	11-15	16 or more
7	Ciprofloxacin (CIP 5)	15 or less	16-20	21 or more
8	Gentamicin (GN 10)	12 or less	13-14	15 or more
9	Cephalothin (KF 30)	14 or less	15-17	18 or more
10	Oxytetracycline (T 30)	14 or less	15-18	19 or more
11	Oxacillin (OX 1)	10 or less	11-12	13 or more
12	Chloramphenicol (C 30)	12 or less	13-17	18 or more

النتائج

من مجموع 141 عينة حليب تم فحصها، تبين ان هناك 27 حالة إصابة سريرية و114 حالة إصابة تحت السريرية، وذلك باستخدام اختباري كاليفورنيا ووايت ساید. ومن خلال إجراء الاختبارات الكيموحيوية وبالاعتماد على جداول قياسية، تم الحصول على 33 (23.40%) عزلة من جراثيم C-NS، توزعت بين 6 (22.22%) جراثيم عزلت من عينات التهاب الضرع السريري، وكانت الجراثيم *S.chromogenes* و*S.epidermidis* هي السائدة بهذه الحالة بنسبة 33.33% و27 (23.68%) جرثومة في الحالة تحت السريرية لمرض التهاب الضرع، إذ سجلت الجرثومة *S.haemolyticus* اعلى نسبة عزل بواقع 25.22% في هذه الحالة، وهذا ما يوضحه جدول (2).

جدول (2) مسببات التهاب الضرع السريري وتحت السريري من جراثيم C-NS

التهاب الضرع تحت السريري			التهاب الضرع السريري		
النسبة%	العدد	نوع الجرثومة	النسبة%	العدد	نوع الجرثومة
25.22	7	*S.haemolyticus*	33.33	2	*S.chromogenes*
18.51	5	*S.intermedius*	33.33	2	*S.epidermidis*
14.82	4	*S.xylosus*	16.67	1	*S.intermedius*
11.12	3	*S.chromogenes*	16.67	1	*S.sciuri*
7.41	2	*S.hominis*			
7.41	2	*S.hyicus*			
7.41	2	*S.saprophyticus*			
3.70	1	*S.epidermidis*			
3.70	1	*S.arlettae*			
%100	27	المجموع	%100	6	المجموع

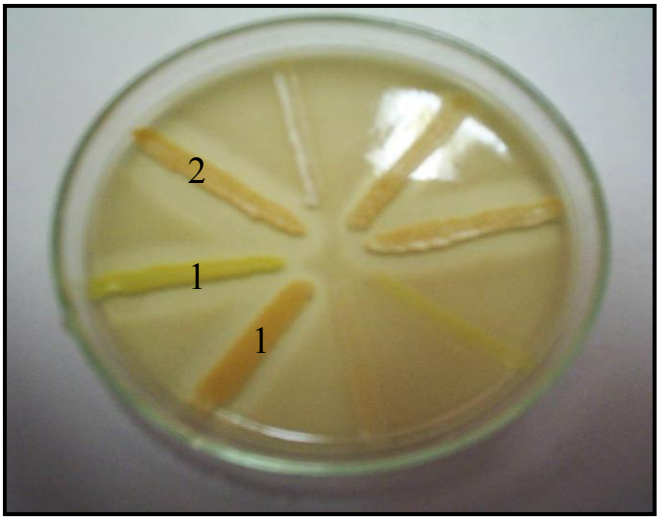


صورة (1) نمو جراثيم C-NS على وسط Mannitol salt agar

1: مخمرة 2: غير مخمرة

صورة (2) اختبار إنتاج الحمض من الكليسيرول

Ve+: وجود هالة صفراء تحيط النمو الجرثومي، Ve-: وجود هالة بنفسجية تحيط النمو الجرثومي



صورة (3) مستعمرات جراثيم C-NS على وسط Skim milk

1- إنتاج الخضاب، 2- إنتاج خميرة البروتييز

عند إجراء اختبار الحساسية على العزلات من جراثيم C-NS لوحظ ان هناك تباين واضح في الحساسية والمقاومة للمضادات الحيوية المستخدمة، اذ سجلت اعلى نسبة حساسية فكانت للمضاد الحيوي Chloramphenicol بنسبة 57.57%، بينما كانت جميع العزلات المختبرة مقاومة للمضاد Ampicillin، يليه المضاد الحيوي Penicillin-G بنسبة 90.9%. اقل نسبة حساسية من قبل هذه الجراثيم سجلت من قبل المضادين Ampicillin و Penicillin-G بنسبة 0% ، بينما كانت اقل نسبة مقاومة للمضاد Chloramphenicol بنسبة 27.27%، بالنسبة للمضادات الحيوية الاخرى المستخدمة فلقد تباينت نسبها في المقاومة والحساسية ما بين هذه النسب، وهذا ما يوضحه الجدول (3).

جدول (3) المضادات الحيوية المستخدمة في الدراسة ونسب الحساسية والمقاومة للعزلات الجرثومية

	Antibiotic (µg)	Resistant(%)	Intermediate(%)	Sensitive(%)
1	Ampicillin (AM 10)	33(100)	0	0
2	Penicillin-G (P 10IU)	30(90.9)	3(9.1)	0
3	Enrofloxacin (ENR 5)	22(66.66)	6(18.18)	5(15.16)
4	Streptomycin (S 10)	22(66.66)	6(18.18)	5(15.16)
5	Erythromycin (E 15)	20(60.60)	8(24.24)	5(15.16)
6	Trimethoprim-Sulfumethoxazole (SXT 1.25)	19(57.57)	4(12.12)	10(30.30)
7	Ciprofloxacin (CIP 5)	19(57.57)	4(12.13)	10(30.30)
8	Gentamicin (GN 10)	18(54.54)	7(21.21)	8(24.25)
9	Cephalothin (KF 30)	17(51.51)	9(27.28)	7(21.21)
10	Oxytetracycline (T 30)	16(48.48)	12(36.36)	5(15.16)
11	Oxacillin (OX 1)	14(42.42)	4(12.12)	15(45.46)
12	Chloramphenicol (C 30)	9(27.27)	5(15.16)	19(57.57)

جدول (4) يبين حساسية ومقاومة كل نوع من جراثيم C-NS للمضادات الحيوية المستخدمة

C		OX		T		KF		GN		CIP		SXT		E		S		ENR		P		AM		العدد*	نوع الجرثومة	ت
R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S	R	S			
2	4	4	3	3	0	4	3	2	3	4	0	1	3	3	2	4	1	3	0	7	0	7	0	7	*S.haemolyticus*	1
2	2	1	4	3	0	3	0	3	0	4	0	3	2	3	0	4	2	5	0	6	0	6	0	6	*S.intermedius*	2
0	5	2	2	2	0	3	3	1	3	1	1	3	2	3	0	5	0	3	2	4	0	5	0	5	*S.chromogenes*	3
2	2	3	1	4	0	1	0	4	0	2	2	3	1	3	1	2	2	2	1	2	0	4	0	4	*S.xylosus*	4
1	1	0	2	1	0	2	1	1	1	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	0	3	*S.epidermidis*	5
0	2	1	1	0	2	1	1	1	1	1	0	2	0	0	1	0	0	2	0	2	0	2	0	2	*S.hominis*	6
0	2	1	1	1	1	1	0	2	0	1	1	1	1	1	1	2	0	1	1	2	0	2	0	2	*S.hyicus*	7
1	0	1	0	1	1	1	0	2	0	1	1	1	1	2	0	1	0	1	1	2	0	2	0	2	*S.saprophyticus*	8
1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	*S.arlettae*	9
0	1	1	0	0	1	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	0	1	*S.sciuri*	10

*** العزلات الباقية أظهرت شبه مقاومة Intermediate للمضادات المستخدمة في الدراسة.**

S.: sensitive.
R.: resistant

صورة (4) اختبار فحص الحساسية، يبين احد عزلات جراثيم C-NS العزلة الجرثومية *S. sciuri* وتظهر مقاومتها لـ 7 مضادات حيوية والموجودة على وسط مولر- هنتون

المناقشة

من خلال النتائج يتبين أن نسبة الإصابة تحت السريرية لالتهاب ضرع الأبقار أعلى من الإصابة السريرية وذلك باستخدام اختباري كاليفورنيا ووايت ساید، وقد يعزى ذلك إلى علاج حالات الإصابة السريرية بالمضادات الحيوية وعدم استمرار العلاج يحول الحالة السريرية إلى حالة تحت السريرية باختفاء علامات الالتهاب، أو يكون السبب وجود ممرضات ثانوية لها القدرة على إحداث المرض من دون إظهار أية علامة سريرية مثل جراثيم C-NS وجراثيم *Corynebacterium bovis* (2، 6). أظهرت الدراسة الحالية سيادة الأنواع *S.chromogenes* و*S.epidermidis* في الحالة السريرية، بينما كانت الأنواع *S.haemolyticus* و*S.intermedius* و*S.xylosus* هي الأكثر تكراراً في العزل في الحالة تحت السريرية لالتهاب ضرع الأبقار وهذا ما يوضحه الجدول (2)، وهذه النتائج تتفق مع الباحثين (16) في زيمبابوي، إذ أنهما عزلا الأنواع *S.chromogenes* و*S.epidermidis* و*S.hominis* في كلتا الحالتين السريرية وتحت السريرية، ومع الباحث (17) في عزله الأنواع *S.intermedius* و*S.chromogenes* و*S.haemolyticus* في الحالتين السريرية وتحت السريرية لالتهاب ضرع الأبقار الصغيرة العمر، لكنها لا تتفق مع الدراسة المسجلة من قبل (18) إذ أشارا الباحثين إلى إن *S.chromogenes* و*S.warneri* و*S.hominis* هي الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري للأبقار في ألمانيا، وهذا الاختلاف والتباين قد يكون عائد إلى موقع القطيع، الفصل، اختلاف البلد وعاداته في حلب الأبقار، كما لا تتفق هذه الدراسة مع ما توصل إليه الباحثون (19) في ان نسبة عزل جراثيم C-NS كانت 15.55%، بينما في دراستنا كانت 23.40 %، واعلى نسبة عزل سجلت من قبلهم كانت للجراثيم *S.sciuri* بنسبة 31.8%، بينما اقل نسبة عزل كانت للجراثيم *S.lugdunensis* و*S.haemolyticus* بنسبة 4.5%، وهذا عكس ما توصلت إليه دراستنا الحالية، وهذا راجع ربما لاختلاف المنطقة وأسلوب الرعي بين الشمال في الموصل والجنوب في البصرة. تستخدم المضادات في الحيوانات للأغراض العلاجية وكإضافات علفية، وهذا الاستخدام بإمكانه أن ينتج نبيتاً اختيارياً مقاوماً لمضادات معينة، الذي بدوره يقوم بنقل البلازميدات المقاومة بين أنواع جنس المكورات العنقودية، ومثل هذه الجراثيم قد تتواجد في الحليب أو اللحم الملوث أو توجد على جسم الحيوانات وقد تصيب ضرع الأبقار أو تضم مجموعة كبيرة من الجراثيم المقاومة للمضادات، أو تعمل كخازن للجينات المقاومة للمضادات (20)، إذ وجد (21) في البرازيل عدم جدوى استعمال Penicillin في علاج حالات التهاب الضرع الناتجة عن الإصابة بالمكورات

العنقوديــة (*S.aureus* و C-NS)، وهـذا عائـد إلـى ان جـراثيم C-NS التـي تـم عزلهـا مقاومـة لـ Ampicillin و Penicillin-G بنسب 92.7 % و 91.7% على التوالي، وهذه النسب مشابهة لما أظهرته نتائج الدراسة الحالية، والجدول (3) يوضح هذه النتائج، إذ إن معظم السلالات المعزولة كانت مقاومة لـ Ampicillin و Penicillin-G بنسبة 100% و 90.9% على التوالي، في حين أشار (22) إلى إن جراثيم C-NS التي عزلها من حالات التهاب الضرع السريري في كوسوفو أظهرت مقاومة لـ Penicillin بنسبة 53 % و Ampicillin و Streptomycin بنسبة 46.1 % وهـذه النسـب اقـل ممـا تـم تسـجيله فـي الدراسـة الحاليـة، فـي حـين كانـت حساسـة للمضـادات Trimethoprim بنسبة 88.46% و Tetracycline 77% و Gentamicin بنسبة 69.2 %، وهذه النسب اكثر مما تم تسجيله في دراستنا، وهذا التباين في النتائج ربما يعود لاختلاف البلد والأساليب المتبعة في علاج حالات التهاب الضرع. في دراسة أجريت في الهند (23) سجلت نسبة عزل جراثيم C-NS بواقع 58.06%، وهو اكثر مما تم تسجيله في دراستنا، وعند إجراء فحص الحساسية على العزلات وجد أنها مقاومة لـ Penicillin و Ampicillin و Gentamicin بنسـب 76.77 %، 70.59% و 57.06% علـى التوالي وهذا متفق مـع الدراسـة الحاليـة، لكـن لا تتفق معها في ان العزلات كانت حساسة للـ Ciprofloxacin و Erythromycin بنسب 73.52 % و 70.05 %، إذ سـجلت دراسـتنا نسـبة حساسـية 15.16 % لهـذين المضـادين الحيـويين، علـى الـرغم مـن حداثـة اسـتعمال هـذه المضـادات فـي عـلاج حـالات التهـاب الضـرع، لكـن هـذه الجـراثيم طـورت مقاومـة وبسـرعة تجـاههم. أمـا بالنسـبة للدراسات المحلية على مقاومة جراثيم C-NS، فلقد جاءت هذه الدراسة متفقة مع ما تم تسجيله من قبل (24) في ان هذه الجراثيم اعطت مقاومـة مطلقـة للمضـادات Ampicillin و Penicillin وحساسية بنسبة 58 % للمضـاد الحيـوي Chloramphenicol، ومطابقـة تقريبـاً لمـا توصـل إليـه البـاحثون (18) بـأن هـذه الجـراثيم مقاومـة للـ Ampicillin و Penicillin و Oxacillin بنسبة 97.7، 86.4 و 77.2 % على التوالي، في حين كانت حساسة للمضـادات Ciprofloxacin و Chloramphenicol و Gentamicin بنسبة 100 % وهـي اكثر مما تم تسـجيله في هذه الدراسة، وقد يعود السبب إلى اختلاف في نوع العزلات الجرثومية. ان ازدياد المقاومة من قبل هذه الجراثيم يدل إلـى ان الاسـتعمال المتكرر وغير الصـحيح للمضـادات الحيويـة وخاصـة مشـتقات مجموعـة β-lactam وعلـى المدى الطويل، أدى إلى تطوير أساليب المقاومة وخاصة عند هذه الجراثيم والتي تعتبر جزء من النبيت الطبيعي لجسم الإنسان والحيوان (11، 23)، ولهذا يجب إجراء فحص الحساسية قبل البدء بالعلاج لتلافي ظهور مثل هكذا مشكلة والتي تؤثر سلباً على منتجي الحليب وصحة الحيوان ونموه وبالتالي على صحة الإنسان (23)، والاستمرار بالعلاج حتى الشفاء.

المصادر

1. Shitandi, A.; Anakalo, G.; Galgalo, T. & Mwangi, M. (2004). Prevalence of bovine mastitis among small holder dairy herds in Kenya. Israel Vet. Med. Assoc., 59(12):1- 2.
2. Visscher, A. De. (2016). Ecology and epidemiology of bovine- related Coagulase-Negative Staphylococcus species. PhD. Thesis, Collage of Veterinary Medicine, University of Ghent, Belgium. PP. 3-12.
3. Quirk, T. E. (2010). Coagulase-Negative Staphylococci mastitis management. MSc. Thesis, Faculty of Washington State University, USA. PP. 1-10.
4. Simojoki, H. (2011). Bovine mastitis caused by Coagulase-Negative Staphylococci: host response and bacterial factors. MSc. Thesis, Collage of Veterinary Medicine, University of Helsinki, Finland. PP. 10-21.
5. Myllys, V. & Rautala, H. (1995). Characterization of clinical mastitis in primiparous heifers. J. Dairy Sci., 78(3): 538-545.

6. Radostits, O.; Gay, C.; Hinchcliff, K. & Constable, P. (2006). Disease of the mammary gland. In: Veterinary Medicine, A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. 10th ed., W.B. Saunders Company Ltd., London. PP. 673-749.
7. Teuber, M. (2001). Veterinary use and antibiotic resistance. Curr. Opin. Microbiol., 4(5): 493-499.
8. Taponen, S. & Pyörälä, S. (2009). Coagulase-negative staphylococci as cause of bovine mastitis-not so different from Staphylococcus aureus. Vet. Microbiol., 134(1-2): 29-36.
9. Huebner, J. & Goldmann, D. A. (1999). Coagulase-Negative Staphylococci: role as pathogens. Annu. Rev. Med.,50: 223-236.
10. Becker, K.; Keller, B.; von Eiff, C.; Brück, M.; Lubritz, G.; Etienne, J. & Peters, G. (2001). Enterotoxigenic Potential of *Staphylococcus intermedius*. Appl. Environ. Microbiol., 67(12):5551-5557.
11. Coles, E. H. (1986). Veterinary Clinical Pathology. 4th Ed., W.B. Saunders Company, Philadelphia, PP.428-438.
12. Quinn, P. J.; Carter, M. E.; Markey, B. & Carter, G. R. (2004). Clinical Veterinary Microbiology, Mosby Elsevier Limited. Edinburgh, London, New York, Oxford, Philadelphia, St Louis, Sydney, Toronto. PP. 118-126.
13. Stateesh, K.; Anandam, S. & Pai, V. (2017). Speciation and antimicrobial susceptibility pattern of clinically significant coagulase negative staphylococci in a tertiary health care Centre. Sch. J. App. Med. Sci., 5(8E): 3371-3376.
14. Vandepitte, J.; Engbaek, K.; Piot, P.; Heuch, C. C. & World Health Organization. (1991). Basic laboratory procedures in clinical bacteriology. Geneva: World Health Organization, Switzerland. PP. 31-36, 78-95.
15. Fowoyo, P. T. & Ogunbanwo, S. T. (2017). Antimicrobial resistance in coagulase-negative staphylococci from Nigerian traditional fermented foods. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.,16(1): 4.
16. Kudinha, T. & Simango, C. (2002). Prevalence of coagulase-negative staphylococci in bovine mastitis in Zimbabwe. J. S. Afr. Vet. Assoc., 73(2): 62-65.
17. Chaffer, M.; Leitner, G., Winkler, M.; Glickman, A.; Krifucks, O.; Ezra, E. & Saran, S. (1999). Coagulase-negative staphylococci and mammary gland infections in cows. Zentralbl Veterinarmed B., 46(10):707-712.
18. Haas, D. & Smola, J. (2002). Identification and antimicrobial resistance of Staphylococci isolated from cows with subclinical mastitis. WBC. Germany. PP. 403-408.
19. Al-Edany, A. A.; Khudor, M. H. & Al-Mousawi, K. S.(2012). Comparison of three indirect tests for the diagnosis of bovine subclinical mastitis caused by Coagulase-Negative Staphylococci with their susceptibility to seven antibiotics. Bas. J. Vet. Res., 11(1): 74-83.
20. Perreten, V.; Giampá, N.; Schular-Schmid, U. & Teuber, M. (1998). Antibiotic resistance genes in coagulase-negative staphylococci isolated from food. Sys. Appl. Microbiol., 21(1): 113-120.
21. dos Santos, L. L.; Viana, C.; Farinha, G.; Otutumi, L. K. & Gerbasi, A. V. (2013). Antimicrobial susceptibility of strains of *Staphylococcus aureus* and Staphylococcus coagulase-negative isolated from cow's milk with mastitis in the west of Parana, Parazil. ENCICLOPÉDIA BIOSFERA, Centro Científico Conhecer - Goiânia, 9 (17): 214-223.

22. Hamidi, A. & Sylejmani, D. (2016). Antimicrobial susceptibility of Staphylococci isolated from clinical mastitis in dairy cows in Kosovo. Bul. J. Agric. Sci., 22(5): 836-839.
23. Kaliwal, B. B.; Sadashiv, S. O.; Kurjogi, M. M. & Sanakal, R. D. (2011). Prevalence and antimicrobial susceptibility of coagulase-negative *Staphylococci* isolated from Bovine Mastitis. Vet. World, 4(4):158-161.
24. عبد الله، باسمة احمد؛ حسن، مدركة محمود وسعدون، عبد الستار سالم. (2011).عزل وتشخيص بعض الجراثيم المسببة لالتهاب الضرع تحت السريري في الابقار. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 25(1):63-67.