عزل فطر *Candida sp.* من حليب النوق المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري

محمد حمزة عبد الكاظم

قسم الانتاج الحيواني، كلية الزراعة، جامعة القادسية
E-mail: drmoh1982@yahoo.com

الخلاصة:

هدفت الدراسة الحالية الى تشخيص التهاب الضرع الفطري تحت السريري للنوق وتحديد العوامل المؤثرة عليه، فقد بلغت نسبة الاصابة بالفطر (7.1)% اذ اقتصرت على الاعمار (11–15) سنة والتي زادت معنوياً (P<0.01) على عمر (5–7) سنة، كما بينت النتائج ارتفاع نسبة الاصابة معنوياً (P<0.05) خلال فترة الرضاعة (0–4) شهر بالمقارنة مع الفترة (4–8<) كذلك بين الفترتين (4–8<) و (8–12<) شهر، الا ان الفرق لم يكن معنوياً (P>0.05) بين الفترتين (0–4) و (8–12<) شهر.

Isolation of *Candida sp.* from sub-clinical mastitic she-camels

Mohammed H. Abdulkadhim

Department of animal production, College of Agriculture, University of Al-Qadisiya

Abstract:

The prescent study was aimed to detect the fungal sub-clinical mastitic she-camels & determined the factors that influenced on it, (7.3)% was the percent of *Candida sp.* Infection & these was restricted on the age (11-15) years, which increased significantly (P<0.01) when compared with (5-7) years, Also the results was showed significant increase (P<0.05) of infection during the period of lactation (0-4) months comparable with (>4-8) & same as during (>4-8) & (>8-12) months while the different was'nt significant (P>0.05) between (0-4) & (>8-12) months.

Key words: *Camelus dromedarius*, mastitis, fungi.

المقدمة:

بسم الله الرحمن الرحيم (أفلا ينظرون الى الإبل كيف خلقت ....) صدق الله العلي العظيم (الغاشية 17)، تعد الإبل من الحيوانات المستأنسة قديماً اذ لعبت دوراً هاماً في الحياة العربية، وبالرغم من كونها ذات مقاومة عالية الا انها ومن الممكن ان تصاب بالعديد من الامراض ومنها التهاب الضرع.

ان حليب النوق لا يقل جودة على حليب الابقار كما ان انتاجها افضل كثيراً من انتاج الابقار الى جانب اقتصاديات انتاج الحليب من الإبل، وقد دلت الكثير من الابحاث التي جرت في الوطن العربي ان متوسط قدرة الابقار المحلية على انتاج الحليب يقدر في المتوسط بنحو 1060 كغم في الموسم الواحد في حين

ان الإبل تتفوق في كفاءتها الانتاجية نظيرتها الابقار تحت نفس الظروف من التغذية والرعاية اذ يتراوح طول موسم الحليب في النوق ما بين 11–18 شهراً وبمتوسط انتاج يومي 4–8 لتر وقد يصل الى 15–40 لتر تحت ظروف التغذية الجيدة والرعاية الصحية السليمة، وبوجه عام فان للابل الكفاءه العالية في انتاج الحليب تحت كل من ظروف المناطق الجافة او التغذيـــة المـــكثفة (2,1).

لقد اثبتت العديد من الدراسات الاهمية الطبية لحليب النوق كتأثيره المضاد للاصابة بالتهاب الكبد الفيروسي من النوع c (3)، كما يساهم في علاج النوع الاول من داء السكري في الانسان والخلل الكلوي الناجم عنه (5,4)، ومرض السرطان (6)، فضلاً عن تأثيره كمضاد للاكسدة والنمو الجرثومي (8,7)، كما يتميز بتركيب كيمياوي مشابه لحليب الام بسبب خلوة من مادة ß-lactoglobulin فقد لوحظ عدم وجود اي تحسس عند تغذية الاطفال الرضع لذا من الممكن ان يستخدم كبديل لحليب الام (9).

يعد التهاب الضرع من اهم الامراض الذي يصيب الغدد اللبنيه عند غزوها بالممرضات التي تصل اما عن طريق جهاز الدوران او دخولها من خلال جلد الضرع والحلمات ومن ثم تكاثرها ونموها مؤدية الى حدوث تغيرات مرضية في نسيج الغـــدد اللبنيه فضلاً عن مكـــونات الحليـــــب ذاتها (11,10).

تقدر اعداد الفطريات الممرضة للانسان والحيوان ب 100 نوع ومنها فطر Candida الذي ينتشر بشكل واسع بالبيئة وينتقل الى الحيوانات بصورة مباشرة او غير مباشرة بحيث تظهر امراضيته بحصول العوامل المهيئة للمرض (13,12).

ونظراً لعدم وجود دراسات محلية سابقة حول هذا المرض اذ ان اغلبها قد تركزت على المسببات البكتيرية وللأهمية الطبية لتلك الفطريات فقد هدفت الدراسة الحالية الى عزل وتشخيص المسببات الفطرية وبالتحديد فطر Candida والانواع المرضية التابعة له بطريقة حديثة ومختصرة واكثر دقة فضلاً عن تحديد بعض العوامل التي تزيد او تقلل من خطر الاصابة بالمرض من خلال استخدام الفحوصات المختبرية التي تساهم في التشخيص المبكر لحالة الالتهاب تحت السريري والذي يساهم في نجاح العلاج ومنع حدوث المضاعفات.

المواد وطرق العمل:

جمعت (644) عينة حليب من (161) ناقة سليمة ظاهرياً تراوحت اعمارها من (5–16) سنة وبطريقة مباشرة من الغدد اللبنية لتلك الحيوانات بعد اجراء عملية التحنين وتسجيل العمر ومرحلة الرضاعة، اذ اتبعت الخطوات المعقمة عند جمع العينات، لقد تم التخلص من الدفعات الاولى للحليب ووضع مقدار 20 مل في قناني معقمة بعدها نقلت بطريقة مبردة الى مختبر المستشفى البيطري التعليمي في محافظة الديوانية واجريت عليها الاختبارات الاتية:

1: اختبار كاليفورنيا لتشخيص التهاب الضرع California Mastitis Test : مزجت حجوم متساوية من الحليب المراد فحصه مع كاشف كاليفورنيا وبعد تحريك الطبق المخصص بحركة دائرية خفيفة لمدة 10 ثواني، قرئت النتائج وسجلت الدرجات التفاعلية (14).

2: الفحص المايكروبايلوجي: تم تنمية العينات الموجبة لفحص كاليفورنيا في وسط النمو candida ChromAgar الفرنسي المنشأ (اكار 15، ببتون 10.2، خليط لوني chromogenic mix 22، كلورمفنكول 0.5) غم/لتر، بدرجة 37° لمدة 48 ساعة، ثم زرعت مستعمرات النمو بطريقة الشرائح الزجاجية slide-culture method على وسط

sabouraud's dextrose agar ، اذ لقح مكعب من هذا الوسط بعد قطعه من الوسط المحضر مسبقاً وحضنت في اطباق بتري حاويه على شرائح زجاجية ملامسة لقطعة وسط النمو ولمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 37° ثم صبغت الشرائح بصبغة كرام (syrbio) وحسب الخطوات الاتية: تم تثبيت مسحة النمو بالحرارة الخفيفة ثم صبغت بالفايولية لمدة 2 دقيقة وغسلت بالماء المقطر ثم غمرت بمحلول اللوكل ايودين لمدة 2 دقيقة، غسلت بالماء المقطر ثم قصرت بالاستون لمدة 3 ثانية ثم غسلت بالماء المقطر وغمرت بمحلول الفوكسين لمدة دقيقتين واخيراً غسلت بالماء المقطر وفحصت مجهرياً (15).

3: الفحوصات الكيمياوية: وشملت تقدير نسبة الدهن والبروتين طبقاً لتوصيات (16).

4: تقدير العمر: تم حسب الجداول التي وضحت من قبل (2).

5: التحليل الاحصائي: حللت النتائج احصائياً بطريقة اختبار مربع كاي Chi^2 و Z test تحت مستوى احتمال للخطأ ($P<0.05$) و ($P<0.01$) لتحديد معنوية الاختلافات وحسب (17).

النتائج والمناقشة:

اظهرت نتائج الدراسة الحالية ان عدد النوق المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري (62)، اذ تم تشخيص (182) عينة منها، ومن مجموع النوق المفحوصة (161) فقد بلغت نسبة الاصابة (38.5)% اذ تم عزل فطر Candida من (13) عينة وبنسبة اصابة (7.1)% وكانت على الانواع الاتية: *C. albicanis*، *C. krusei*، *C. tropicalis* وبنسب اصابة قد بلغت (4.3، 1.6، 1)% وعلى التوالي، لقد اظهر الفحص المايكروبايلوجي مستعمرات الفطر على الالوان الاتية: (أخضر، وردي، أزرق) (صورة 3,2,1) وعلى التوالي، كما بين مراحل نمو وهي كالاتي: (أ:البوغ الكلاميدي chlamydospores، ب:الخيط الكاذب pseudohyphae ، ج: البوغ البرعمي blastospores) وخلية الخميرة (صورة 5,4).

لوحظ من خلال هذه الدراسة بان نسبة الاصابة تحت السريرية لالتهاب الضرع في النوق كانت مرتفعة نوعاً ما ويعزى السبب في ذلك الى عدم اتباع الاساليب الصحية عند اجراء عملية الحلب فضلاً عن وجود عدة مسببات جرثومية اخرى لها القدرة على احداث المرض دون اظهار علامات سريرية وهذا ما اوضحه كل من (21,20,19,18)، لقد كشف (22) عن نسبة التهاب قد بلغت (24.1)% وهذه النسبة اقل من النسبة التي سجلت حالياً وقد يعود سبب الاختلاف في هذه النسبة الى الاختلاف ما بين منطقة واخرى من حيث المناخ والجراثيم المتواجدة في البيئة المحيطة.

لقد اتفقت نتائج هذه الدراسة مع ما ذكره (23) من ان حليب النوق هو الاقل تلوثاً بالفطريات من حليب الابقار والجاموس والاغنام بسبب طبيعة ظروف تغذيتها ومعيشتها فضلاً عن مقاومتها النوعية للاصابة، وفي دراسة محلية سابقة اجريت من قبل (24)، لم يتم فيها عزل اي نوع من انواع الفطريات من حليب النوق المصابة بالتهاب الضرع على الرغم من عزلهما لعدة مسببات بكتيرية وربما يعود السبب لقلة العدد المفحوص الذي اشتملت عليه تلك الدراسة اذ بلغت (50) عينة حليب، الا ان عدداً اخراً من من الباحثين قد اشاروا الى تشخيص فطر Candida كأحد

مسببـــــــــات التهـــــاب الضـــــرع في الـــــــــنوق ومنهـــم (28,27,26,25).

توزعت نسب الاصابة على الاعمار الثلاثه واكثرها كان بنسبة (44.8)% في عمر (15–11) سنه واقلها بعمر (7–5) سنه (34)% اذ تبين وجود فرق معنوي بين النسبتين (P<0.01)، الا ان الفرق لم يكن معنوياً (P>0.05) بين العمرين (7–5) و (10–8) سنة وكذلك بين العمرين (7–5) و (10–8) سنة، كما ان الاصابة بالفطر قد اقتصرت فقط بعمر (15–11) سنه، وقد تبين وجود فرق معنوي (P<0.05) في نسبة الاصابة خلال فترات الرضاعة (4–0) و (8–4>) شهر وكذلك بين الفترتين (8–4>) و (12–8>) شهر الا ان الفرق لم يكن معنوياً (P>0.05) بين الفترتين (4–0) و (12–8>) شهر (جدول1، 2). يعزى سبب ارتفاع النسبه مع تقدم العمر واقتصار الاصابة بالفطر فيه الى الاجهاد التراكمي لنسيج الضرع فضلاً عن انخفاض الاليه الفسيولوجية المناعية له لاسيما ان فطر Candida فرصي في امراضيته، كما ان النسبة العالية للالتهاب في المرحلة الاولى والاخيرة من الرضاعة تعود لانخفاض مقاومة الغدد اللبنيه للاصابة كنتيجة لاجهاد عملية الحمل والولادة والتغيرات الهرمونية المصاحبة لهما فضلاً عن اجهاد عملية الرضاعة ذاتها (30,29).

اوضحت النتائج ان متوسط نسبة الدهن والبروتين لعينات حليب النوق المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري هو (0.04± 3) و (0.02± 3.2) على التوالي، بينما بلغت النسبة في النوق غير المصابة (0.01± 3.1) و (0.04± 3.3) على التوالي، اذ لم تصل الفروقات بين الحالتين الى مستوى المعنوية (P>0.05)، وقد يعود السبب في ذلك الى ارتباط نسب تلك المكونات بعدة عوامل منها طول الفترة الزمنية بين الحلبات وفصول السنة المختلفة ومرحلة انتاج الحليب فضلاً عن نوع التغذية (31).

اثبتت النتائج كفاءه عاليه في تشخيص الفطر باستخدام وسط الكروم اكار كوسط اختياري تفريقي اذ ان جميع عزلات هذا الوسط قد شخصت كفطر Candida عند تنميتها في وسط الدكستروز اكار ثم فحصها مجهرياً، وقد لاحظ كل من (33,32) ان دقة الفحص باستخدام هذا الوسط عالية وتصل الى (99%).

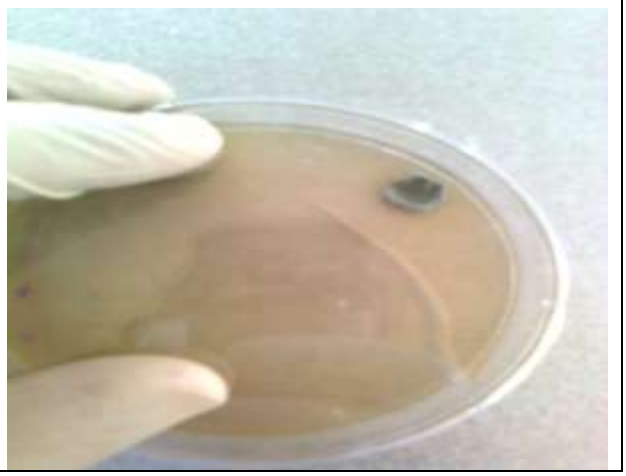
جدول (1) نسب الاصابة حسب العمر

العمر (سنه)	العدد		النسبة %
	المفحوص	المصاب	
7-5	47	16	34
10-8	65	24	36.9
15-11	49	22	** 44.8
	X^2 tab.= 6.6		X^2 cal.= 7.7

جدول (2) نسب الاصابة حسب مرحلة الرضاعة

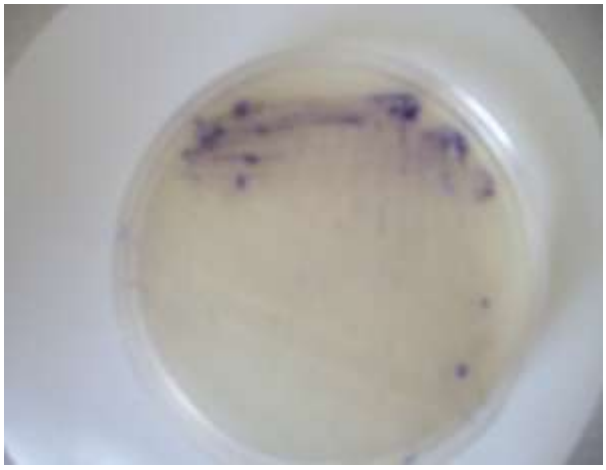
الفتره (شهر)	العدد		النسبة %
	المفحوص	المصاب	
4-0	63	29	*46
>4-8	54	13	24
>8-12	44	20	*45.4
	X^2 cal.= 4.7		X^2 cal.= 5.8, X^2 tab.=3.8

صورة 1

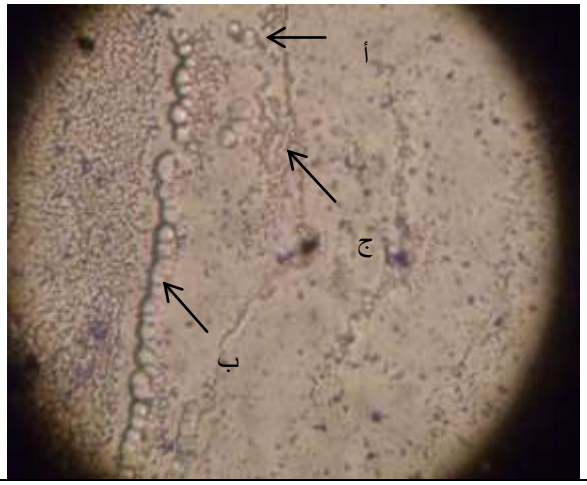


صورة 2

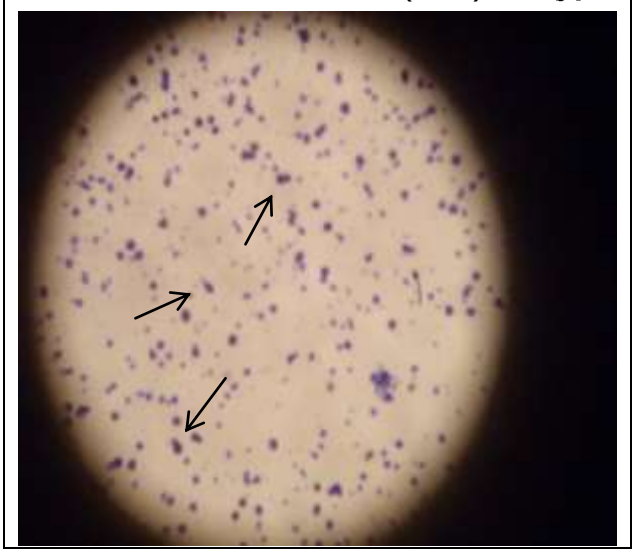
صورة 3



صورة 4 (40X)



صوره 5 (40X)



المصادر:

1. Hashim, I.B., Khalil, A.H. & Habib, H. (2009). Quality & acceptability of a set-type yogurt made from camel milk. J. Dairy Sci., 92: 857-862.

2. البربري، عادل سيد أحمد. (2004). الإبل: حيوان الامن الغذائي. ص103-161. منشأة المعارف. الإسكندرية. مصر.

3. El-Fakharany, E. M., Tabll, A., Abdel-Wahahb, A., Haroun, B. M. & Redwan, E. M. (2008). Potential activity of camel milk-amylase & lactoferrin against hepatitis c virus infectivity in hepG2 & lymphocytes. Hepatitis Monthly, 8:101-109.

4. Sboui, A., Khorchani, T., Djegham, M., Agrebi, A., Elhatmi, H. & Belhadj, O. (2010). Anti-diabetic effect of camel milk in alloxan-induced diabetic dogs: a dose-response experiment. J. Ani. Physio. & Ani. Nut., 94:540-546.

5. Agrawal, R. P., Dogra, R., Mobta, N., Tiwari, R., Singbal, S. & Sultania, S. (2009). Beneficial effect of camel milk in diabetic nephropathy. Acta Biomed., 80:131-134.

6. Smolarczyk, R., Cichon, T., Kamysz, W., Glowala-Kosinska, M., Szydlo, A., Azultka, I., Sieron, A. L. & Szala, S. (2010). Anticancer effects of camel peptide. Lab. Investigation, 4:1-13.

7. Salami, M., Moosavi-Movahedi, A.A., Ehsani, M. R., Yousefi, R., Haertle, T., Chobert, J., Razavi, S.H., Henrich, R., Balalaie, S., Ebadi, S.A., Pourtakdoost, S. & Naslaji-Niasari, A. (2010). Improvement of the antimicrobial & antioxidant activities of camel & bovine whey proteins by limited proteolysis. J. Agric. Food Chem., 58:3297-3302.

8. Benkerroum, N., Mekkaoui, M., Bennani, N. & Hidane, K. (2004). Antimicrobial activity of camel's milk against pathogenic strains of *Escherichia coli* & *Listeria monocytogenes*. Int. J. Dairy Technology, 57:39-43.

9. Shabo, Y., Barzel, R., Margoulis, M. & Yagil, R. (2005). Camel milk for food allergies in children. Immuno. & Allergies, 7:796-798.

10. Radostits, O., Gay, C. C., Hinchclif, K. W. & Constable, P. D. (2007). Veterinary medicine . A text book of the diseases of cattle, sheep, pigs, Goats & Horses. P.673; 10th ed., London.

11. Guliye, A. Y., Van Creveld, C. & Yagil, R. (2002). Detection of subclinical mastitis in dromedary camels (*Camelus dromedarius*) using somatic cell counts & the N-Acetyl-ß-D-glucosaminidase test. Trop. Ani. Health & Prod., 34:95-104.

12. Shokri, H., Khosravi, A., Sharifzadeh, A. & Tootian, Z.

Microbiological examination of camel (*Camelus dromedarius*) milk & sensitivity of milk microflora to commonly available antibiotics in Kano, Nigeria. Savannah J. Agri., 3:1-8.

20. Abdurahman, O. A.S. (2006). Udder health & milk quality among camels in the Errer valley of eastern Ethiopia. Livestock Res. for Rural Devel., 18:1-9.

21. Matofari, J. W., Younan, M., Nanua, J. N. & Mwatha, E.W. (2005). Microorganisms associated with sub-clinical mastitis & their impact on milk production in camels (*Camelus dromedarius*) in semi-arid lands of Northern Kenya. Int. J. Agri. & Rural Devel., 17:182-187.

22. Almaw, G. & Molla, B. (2000). Prevalence & etiology of mastitis in camels (*Camelus dromedarius*) in eastern Ethiopia. J. Camel Practice & Res., 7:97-100.

23. Motawee, M. M., Bauer, J. & McMahon, D. J. (2009). Survey of Aflatoxin M1 in cow, goat, buffalo & camel milks in Ismailia- Egypt. Bull. Environ. Contam. Toxicol., 83:766-769.

24. Al-Ani, F.K. & Al-Shareefi. M.R. (1997). Studies on mastitis in lactating one humped camels (*Camelus dromedarius*) in Iraq. J. Camel Prac. & Res., 4 (1): 47-49.

25. Hawari, A.D. & Hassawi, D.S. (2010). Isolation & identification of yeast flora from genital tract in healthy female camels (*Camelus dromedarius*). Vet. Microbiol., 144:183-186.

13. Wise, D. J. & Carter, G. R. (2004). Essential of veterinary bacteriology & mycology. p.257; 6th ed., Blackwell publishing company, USA.

14. Coles, E. H. (1986). Veterinary clinical pathology. p363; 4th ed.; W. B. Saunders company. London.UK.

15. Benson, (2001). Microbiological applications: laboratory manual in general microbiology. P.103; 8th ed.; The McGraw Hill, USA.

16. الشبلي، محسن محمد علي؛ شكري، نزار احمد؛ صادق جواد طعمة و علي، هيلان حمادي (1980). مبادئ الالبان العامة. ص 141-208. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل. العراق.

17. الراوي، خاشع محمود (1984). المدخل إلى الإحصاء. دار الكتب للطباعة والنشر. جامعة الموصل، الموصل، العراق.

18. Shuiep, E. S., Kanbar, T., Eissa, N., Alber, J., Lämmler, C., Zschöck, M., El Zubeir, I. E. M. & Weiss, R. (2009). Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from raw camel milk samples. Res. Vet. Sci., 86: 211–215.

19. Kalla, D. J. U., Butswat, I.S.R., Mbap, S.T., Abdussamad, A.M., Ahmed, M.S. & Okonkwo, I. (2008).

(2008). Mastitis in one humped she-camels (*Camelus dromedarius*) in Jordan. J. Bio. Sci., 8: 958-961.

26. Tibary, A., Fite, C., Anouassi, A. & Sghiri, A. (2006). Infectious causes of reproductive loss in camelids. Theriogenology, 66: 633–647.

27. Wernery, U. & Kaaden, O. R. (2002). Infectious diseases in camelids. PP:149-154; 2nd ed., Blackwell science, Berlin, Germany.

28. Alhendi, A. A. B. (2000). Clinical aspects of she camel mastitis (*Camelus dromedarius*) in Saudi Arabia. Assiut Vet. Med. J., 42:112-119.

29. Abera, M., Abdi, O., Abunna, F. & Megersa, B. (2010). Udder health problems & major bacterial causes of camel mastitis in Jijiga, Eastern Ethiopia: Implication for impacting food security. Trop. Ani. Health Prod., 42:341-347.

30. Sena, D. S., Mal, G., Kumar, R. & Sahani, M. S. (2000). A preliminary study of prevalence of mastitis in camel. J. Applied Ani. Res., 20:27-31.

31. عبد الرحيم، منير. (2006). موسوعة الابل. ص 250-252. دار اسامة للنشر والتوزيع. عمان.

32. Kirkpatrick, W. R., Zimmerman, J. D., Haikal, F. P., Broker, M. J., Brockway, E., Fothergill, A. W., Mccarthy, D. I., Patterson, T. F. & Redding, S. W. (2010). Screening for drug-resistant Candida yeasts with Chromogenic Agar. Med. Mycol., 48(6): 807–816.

33. Pfaller, M. A., Houston, A. & Coffmann, S. (1996). Application of CHROMagar Candida for rapid screening of clinical specimens for Candida albicans, Candida tropicalis, Candida krusei, and Candida (Torulopsis) glabrata. J. Clin. Microbiol., 34(1): 58-61.