

الاسهال في الحملان حديثة الولادة وعلاقته بالتهاب الضرع في الاغنام

عصام حسين زبير¹ ، أ.د. خالد محمود حمادي¹ ، أ.د. صلاح محمود عاشور²

¹الجامعة العراقية / كلية التربية - قسم علوم الحياة // ²جامعة الفلوجة / كلية الطب البيطري

مستخلص:

تناولت دراستنا الحالية جمع 200 نعجة مع حملانها 200 حيث قسمت الى نعاج مصابة بالتهاب الضرع و حملانها المصابة بالاسهال او غير مصابة ، و نعاج سليمة و حملانها المصابة بالاسهال وغير المصابة من محافظة الانبار من خلال جمع العينات ودراستها للفترة من 1/9/2023 ولغاية 20/4/2024 التي شملت عدة مناطق في محافظة الانبار ومن هذه المناطق الرمادي و الفلوجة و عامرية الفلوجة ، وان جميع الاغنام التي درست تتغذى بطريقة الرعي المفتوح .
زرعت العينات في بيئات زراعية مختلفة ومن ثم دراسة خصائصها الظاهرية كما تم صبغها بصبغة جرام والتعرف على الانواع البكتيرية بالاختبارات الكيميائية الحيوية وبعد ذلك تأكيد التشخيص من خلال فحص فايتيك 2 .
وأظهرت نتائج الدراسة أن عدد النعاج السليمة بلغ 116 نعجة، في حين بلغ عدد النعاج المصابة 84 نعجة، وقد وجد إجمالي البكتيريا المشخصة 72 بكتيريا من النعاج المصابة بالتهاب الضرع والتي تشمل، *Escherichia coli*، *Staphylococcus chromogen's*، *Staphylo-* *Staphylococcus aureus*، *Staphylococcus equorum*، *Enterococcus gallinarum*، *Klebsiella pneumonia ssp* *Staphylococcus warneri*، *Enterococcus Duran*، *coccus lentus* .
أما عن نتائج العزل البكتيري لعينات البراز التي تم جمعها من 200 حمل، فقد بلغ عدد الحملان المصابة بالإسهال من النعاج المصابة أيضاً بالتهاب الضرع 49 إصابة بكتيرية من 84 نعجة مصابة، بينما بلغ عدد الحملان المصابة بالإسهال من النعاج السليمة 17 إصابة بكتيرية، حيث بلغ عدد النعاج السليمة 116 نعجة. وهذا يدل على أنه هنالك انتقال بكتيري أعلى في النعاج المصابة مقارنة بالسليمة .
توصلت الدراسة إلى وجود علاقة بين التهاب الضرع لدى النعاج والإسهال في حملانها، مما يوفر إمكانية انتقال البكتيريا من الأمهات المصابة إلى حملانها، ومن خلال الدراسة كان معدل الإصابة ببكتيريا الإشريكية القولونية مرتفعاً، مقارنة بأنواع أخرى من البكتيريا، بالإضافة إلى ذلك تم الكشف عن معدل أعلى لانتقال البكتيريا من النعاج إلى حملانها في بكتيريا المكورات العنقودية الكروموجينية.
الكلمات المفتاحية: العزل، التشخيص، البكتيريا، إسهال الحملان، التهاب الضرع عند النعاج، اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع (CMT).

Isolation and diagnosis of bacteria causing diarrhea in lambs from ewes infected with mastitis

Isam Hussein Zubair ^{1*} ، Khalid Mahmood Hammadi ¹ ، Salah Mahmoud Ashour ²

¹Department of Biology, College of Education, Al-Iraqia University, Baghdad, Iraq

²College of Veterinary Medicine, Fallujah University, Fallujah, Iraq

*Corresponding author. Email: isam.h.zubair@aliraqia.edu.iq

Abstract :

Mastitis is an inflammatory condition affecting the mammary gland, leading to changes in the physical and chemical characteristics of the udder or milk. The study aimed to investigate the types of bacteria that cause mastitis and then track the bacterial transmission from the ewes that have mastitis to their lambs. After collecting 336 milk samples from a total of (200 ewes) and 200 stool samples (from 200 lambs), the samples were collected from different areas in AL- Anbar Governorate in Iraq and were studied for the period from 1/9/2023 to 20/4/2024.

The samples were cultured on different culture media and then their phenotypic characteristics were studied. They were also stained with Gram stain and the bacterial species were identified by biochemical test. After that, the diagnosis was confirmed through Vitek 2 examination.

The results of the study showed that the number of healthy ewes was 116, while the infected ewes were 84. The diagnosed 72 bacteria were found as total from ewes infected with mastitis which includes, *Staphylococcus chromogen's*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia ssp*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *Enterococcus Duran*, *Staphylococcus warneri*. As for the results of bacterial isolation of stool samples collected from 200 lambs, the number of lambs infected with diarrhea from ewes also infected with mastitis reached 49 bacterial infections from 84 infected ewes, while the number of lambs infected with diarrhea from healthy ewes reached 17 bacterial infections, as there were 116 healthy ewes. That indicate the bacteria transition was higher in the infected ewes compared with the healthy once.

The conclusion of the study is there was a relationship between ewes' mastitis and the diarrhea observed in their lambs, which provides a possible bacterial transmission from the infected mothers to their lambs. The higher bacteria transmission. Through the study, the infection rate with *Escherichia coli* bacteria was high, compared to other types of bacteria. Additionally, a higher rate of bacteria transmission from ewes to their lambs was detected in *Staphylococcus chromogen*.

Keywords: Isolation, diagnosis, bacteria, lambs' diarrhea, ewes' mastitis, California Mastitis Test (CMT).

مقدمة

ومع ذلك فإن *S. typhimurium* هي واحدة من أكثر الميكروبات شيوعاً التي تسبب الأمراض المنقولة بالغذاء في الحيوانات (6). يعد تشخيص عينات الحليب والبراز أمراً مهماً وضرورياً للكشف عن حاملي هذا العامل الممرض، وخاصة أثناء التغذية، مما قد يؤدي إلى انتشار الكائنات الحية الدقيقة (11). يعد عزل البكتيريا وزراعة عينات الحليب والبراز وخاصة من عينات الإسهال جزءاً من إجراءات التشخيص على الرغم من أن طرق التشخيص المثالية للبكتيريا سهلة وقابلة للتكرار وفعالة من حيث التكلفة ومحددة وحساسة، فلا توجد تقنية واحدة تلبى كل هذه المعايير (4). تعد التكنولوجيا السريعة أمراً حيوياً لتحديد العوامل المسببة للأمراض البكتيرية من العينات السريية (16).

اذ لاحظ (3) أن المكورات العنقودية هي سبب معظم الوفيات الناتجة عن التهاب الضرع في الأغنام.

يعتبر اختبار التهاب الضرع الكاليفورني (CMT) بشكل غير مباشر عن زيادة عدد الكريات البيضاء في إفرازات الثدي، وبالتالي يمكن اعتباره اختباراً جيداً وتقنية تشخيصية أكثر دقة للكشف عن التهاب الضرع تحت السريي (14).

وقد كانت قيم درجات CMT في نتائجنا متوافقة مع تلك التي حصل عليها (5). وكذلك قد وجد في دراسته اجراها (7). في دراساتهم أن هناك اتفاق من حيث الإصابة ببكتيريا المكورات العنقودية الذهبية، ولكن كان هناك اختلاف من حيث نتيجة الإصابة بالمكورات العنقودية الذهبية. وقد وجدت الدراسة الحالية أن الإشريكية القولونية كانت أكثر انتشاراً في الأغنام والحملان من حيث الإصابة، في

المجترات الصغيرة هي الحيوانات التي لها أهمية اقتصادية كبيرة في العالم والمنطقة العربية بسبب انتاجها للحوم والحليب والصوف والجلود. تشكل الأغنام جزءاً مهماً من الثروة الحيوانية في العراق والعالم العربي (1). مرض التهاب الضرع هو حالة التهابية تصيب الغدة الثديية، مما يؤدي إلى تغيرات في خصائصها الفيزيائية والكيميائية للضرع. (11) يعتبر اختبار التهاب الضرع كاليفورنيا اختباراً ميدانياً مهماً، تعتبر هذه الطريقة سهلة وغير مكلفة لمربي الألبان وعلى الرغم من وجود مشكلة ضمنية تتمثل في كونها اختباراً ذاتياً، تم إجراء تقييم لهذه الطريقة عادةً في المختبر باستخدام عينات من الحليب (5). ومن المعروف أن البكتيريا هي سبب معظم حالات الإسهال في الأغنام، مثل *Esche- richia coli* والسالمونيلا (15). ان زيادة خطر الإصابة بالتهاب الضرع السريي وتحت السريي في النعاج المصابة بنقص فيتامين أ، نتيجة لانخفاض سلامة ووظيفة الدفاعات الظهارية للغدة الثديية في الحيوانات المصابة (9). تشمل الأعراض السريية للإسهال في الحملان الحمى وتغيرات في الخصائص الفيزيائية للبراز أو المخاط أو الدم في البراز في بعض الحالات وهذا يؤدي إلى ضعف الحملان وإذا استمرت هذه الحالة سيؤدي ذلك إلى نفوق الحملان (7). توجد معظم البكتيريا المسببة للإسهال في الأمعاء وتهاجم البطانة الداخلية للأمعاء ومن خلال السموم البكتيرية يحدث تلف في وظيفة الأمعاء مما يؤدي إلى ظهور المرض السريي (8). لا تزال البكتيريا من الأمراض ذات الأصل الحيواني وتنتقل عن طريق الغذاء في جميع مناطق العالم

مجموعة من القطعان في محافظة الأنبار غرب العراق، حيث يتم تربيتها بطريقة الرعي المفتوح. تراوحت أعمار النعاج بين (5-2) سنوات، مع أحجام مواليد سابقة تتراوح بين (6-1) ولادة، وتراوحت أعمار الحملان بين (3-1) أشهر، للفترة من 2023-9-1 إلى 2024-4-20. اخذت هذه العينات مباشرة الى المختبر وزراعتها على الأوساط الزرعية أحيث تم إضافة (1) غرام من البراز الى الاناييب الحاوية (10) مل من وسط (selenite broth) وتم مزجها جيدا ثم حضنت هذه الاناييب بدرجة حرارة (37) م ولمدة (24) ساعة وبعدها اخذت عينة من النمو الناتج بواسطة الناقل (loop) وتم زراعتها على أوساط انتقائية منها وسط - Nu - S.S Agar و Blood agar و MacConkey strient Agar وحضنت هذه الأوساط لمدة (24) ساعة وبدرجة حرارة (37) م .

2. عزل البكتيريا

شخصت البكتيريا المعزولة اعتمادا على الصفات الزرعية والاختبارات الكيموحيوية وهي كالآتي:
الصفات الزرعية

بعد انتهاء فترة الحضان حيث تم دراسة الصفات الزرعية العامة (المورفولوجية) للمستعمرات النامية على أوساط الماكونكي و اكار الدم من حيث القوام والشكل واللون والحجم وكذلك ملاحظة الصفات الأخرى مثل تخمر اللاكتوز من عدمه او تحلل الدم من عدمه على وسط اكار الدم اذ تم اهمال جميع العينات الغير مخمرة لسكر اللاكتوز على وسط الماكونكي وكذلك اهمال عينات البكتريا المحللة للدم على وسط اكار الدم (13).

أ. زراعة عينات الحليب

زراعة عينات الحليب زرعت عينات الحليب

حين لم يتم عزل *S.uberis* من الغدة الثديية على الرغم من قدرتها على الوجود داخل وخارج جسم العائل، وهذا على عكس ما وجدته (14).
أظهرت دراستنا أن هناك ارتفاع في معدل انتقال المسببات البكتيرية من النعاج المصابة بالتهاب الضرع إلى حملانها مما يؤدي إلى حدوث بعض الأمراض وأبرزها الإسهال عند الحملان كما كشف الفحص عن وجود تشابه في 32 عينة بكتيرية عند الحملان مشابهة للنعاج و يجب اتخاذ التدابير الاحترازية، مثل استخدام المضادات الحيوية، أو المستخلصات العشبية، أو فطام الحملان حديثي الولادة، لحماية الحيوانات من العدوى.

المواد والطرق

المواد

1. استخدام اختبار التهاب الضرع الكاليفورني California Mastitis Test (CMT) لتشخيص التهاب الضرع.

2. استخدام العديد من الوسائط الزراعية المخصصة لعزل البكتيريا، مثل MacConkey Agar و Nutrient Agar و Blood Agar و Broth Nutrient .

3. الصبغات والمعدات:

أ- جهاز الفايترك (VITEK-2) من شركة فرنسية.
ب- صبغة كرام

طرق العمل

في هذا القسم تم مناقشة جمع العينات وزراعتها وكذلك التعرف على البكتيريا باستخدام طريقتين رئيسيتين هما صبغة غرام VITEK-2.

1. جمع العينات وزراعتها

أجريت الدراسة على (200) نعجة مرضعة و(200) حمل تنتمي لنفس النعاج، موزعة على

بسرعة 3000 دورة في الدقيقة لمدة ثلاث دقائق حيث جمع الرواسب لكل عينة وزرعها على أجار ماكونكي وأجار الدم وأجار المغذيات لغرض عزل وتوصيف البكتيريا أما العينات المأخوذة بالمسحة فقد وضعت في المختبر في أنابيب تحتوي على وسط نشط، وتحضن جميع الوسائط عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24 ساعة بعد ذلك تمت دراسة الخصائص المورفولوجية للمستعمرات النامية على وسائط الزراعة المذكورة من حيث الملمس والشكل واللون والحجم، بالإضافة إلى ملاحظة خصائص أخرى مثل تخمر اللاكتوز على أجار ماكونكي أو انحلال الدم على أجار الدم تم بعد ذلك إجراء صبغة جرام بناءً على (13).

على أجار الدم وأجار المغذيات وأجار ماكونكي، ثم حضنت عند درجة حرارة 37 درجة مئوية لمدة 24-48 ساعة بعد ذلك، تم ملاحظة الخصائص المورفولوجية للمستعمرات النامية، وتم إعداد مسحات بكتيرية وصبغها باستخدام صبغة جرام، وشخصت هذه المستعمرات باستخدام نظام فايتيك 2.

ب. زراعة عينات البراز

بعد جمع عينات البراز من الحملان والحملان السليمة وكذلك المصابة بالإسهال كما هو موضح في الصورة 1 أ من التهاب الضرع في النعاج كما هو موضح في الصورة 1 ب، وضعت عينات البراز في أنابيب نظيفة ومعقمة وخضعت للطرد المركزي



(أ) الاسهال في الحملان



(ب) التهاب الضرع في النعاج

الصورة 1. الحالات السريرية التي لوحظت أثناء الدراسة (أ) الإسهال في الحملان (ب) التهاب الضرع في النعاج.

الشريحة، وتم تثبيتها بالحرارة، وتم صبغها بصبغة جرام، وتمت ملاحظة البكتيريا بعد الفحص تحت المجهر المغمور بالزيت من خلال تفاعلات الخلايا مع الصبغة كما أشار لها (13).

4. صبغة جرام

تم تحضير مسحة ملطخة بصبغة جرام، وذلك بأخذ جزء من المستعمرات النامية على أحد وسائط الثقافة باستخدام حلقة على شريحة زجاجية، وتم تخفيفها بالماء النقي، ثم نشرها جيداً على

5. التشخيص باستخدام جهاز VITEK 2

تتم عملية التشخيص بهذا الجهاز بالاعتماد على التعليمات للشركة المصنعة كالآتي :

زرعت عينات الحليب وعينات الاسهال المراد تشخيصها على الأوساط الزرعية وحضنت بدرجة حرارة 37 م° ولمدة 24 ساعة وبعد ظهور النمو البكتيري على الأوساط المذكورة تم اخذ مستعمرة من كل عينة بواسطة الناقل ومزجت مع المحلول الملحي الفسلجي في الانبوب المجهز من قبل الشركة المصنعة ثم تم قياس العالق للعزلات المراد تشخيصها بواسطة جهاز العكورة الخاص بجهاز VITEK_2 (Densi Chek™) اذ يجب ان تكون عكورة العالق ما بين 0.50 - 0.63 بعد ذلك تم وضع الانابيب في المكان المخصص لها بعد ان تم وضع كاسيت الفحص الخاص (Card) وتم نقل الانابيب والكاسيتات الى الجهاز اذ وضعت أولاً في حقل الحشو (Filler) الذي يقوم تلقائياً بملاء الكاسيت بالعالق البكتيري وبعد الانتهاء من هذه العملية يعطى الجهاز ايعاز انتهاء ومن ثم يتم نقل الحامل الى الحقل الثاني القارئ (Reader) الذي يقوم أولاً بقطع الأشرطة وإعطاء ايعاز عبء (Burden) بشكل إشارة رقمية اذ يتم الاحتفاظ بالاشرطة داخل الجهاز اما الحامل الحاوي على الانابيب فيتم إخراجها من الجهاز ومن ثم أدخلت معلومات العينات في جهاز الحاسوب المرفق والتي تشمل (نوع العينة، الجنس، العمر، الاسم، الرمز ورقم العينة) ومن ثم تُركت العينات لمدة 4-6 ساعات لإعطاء نتيجة التشخيص .

النتائج والمناقشة

1. الخصائص المظهرية

بينت العزلات البكتيرية بناءً على خصائصها الشكلية من خلال زرعها على أوساط انتقائية، حيث ظهرت مستعمرات مختلفة من البكتيريا على أجار الدم، كما تم زراعتها على أجار ماكونكي، وهو وسط تفاضلي ينمو فيه البكتيريا السالبة الجرام ويميز بين البكتيريا المخمرة للاكتوز وغير المخمرة للاكتوز بالإضافة إلى ذلك، ظهرت مستعمرات البكتيريا على أجار المغذيات ملساء، صغيرة، شاحبة اللون، مع بقع سوداء على الوسط على أجار ماكونكي، أنتجت البكتيريا مستعمرات ملساء، عديمة اللون، ومحدبة، بعد ذلك تم جمع البكتيريا للتشخيص بواسطة فيتيك-2.

2. التشخيص بنظام VITEK 2

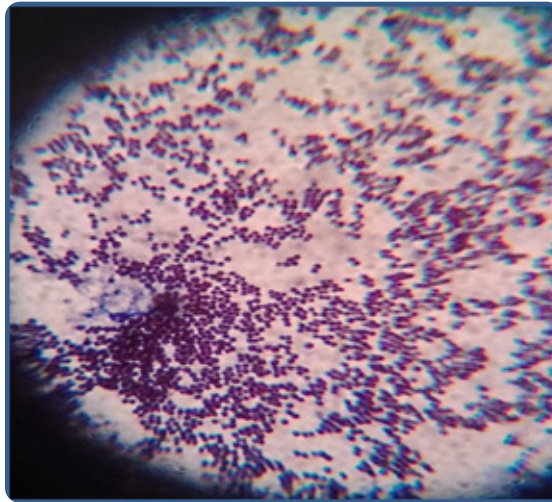
تم التشخيص النهائي للعزلات البكتيرية باستخدام نظام VITEK 2 لتأكيد هويتها، حيث يوفر هذا النظام 64 اختباراً كيميائياً جاهزاً ويتم التشخيص في المختبر.

3. العزلة

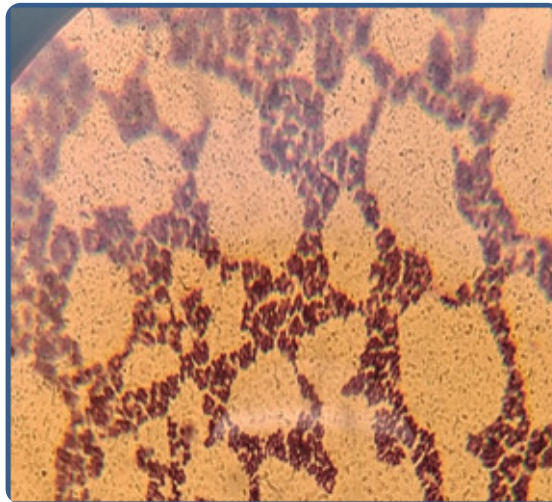
وبعد إجراء اختبار التهاب الضرع من كاليفورنيا (CMT) زرعت العينات وذلك من خلال عزل البكتيريا من العينات المأخوذة من النعاج المصابة بالتهاب الضرع السيريري وتحت السيريري وتأكيد وجود البكتيريا في عينات الحليب من خلال نموها على بيئات زراعة مختلفة وصبغها بصبغة جرام لتحديد أنواع البكتيريا إما سلبية الجرام أو إيجابية الجرام كما هو موضح في الصورة 2أ، ب وتم نقلها إلى جهاز التشخيص VITEK 2 لتأكيد أنواع هذه البكتيريا حيث تم

2 لكل من النعاج وحملاتها تشير النتائج إلى وجود توزيع مختلف لأنواع البكتيريا عندما يتعلق الأمر بمقارنة النعاج بحملاتها في حالة الإصابة ب-*Esch- Erichia coli*، وجد بشكل ملحوظ في النعاج كان معدل انتقال *E. coli* أقل مما وجدوه (12). علاوة على ذلك، لم تتفق هذه الدراسة في عزلها ل-*E. coli* مع (2). وكان انتقال البكتيريا من النعاج المصابة إلى الحملان أعلى في حالة -*Staphylococcus chromo- genes* و *Staphylococcus aureus* كما هو موضح في الشكل 3 .

العثور على (72) نوع من البكتيريا في الأغنام التي تم تشخيصها بالتهاب الضرع وكانت هذه البكتيريا هي العدوى السائدة في النعاج والحملان وشملت *Escherichia coli* و *Staphylococcus chromogenes* و *Klebsiella pneumonia ssp* و *Enterococcus gallinarum* و *Staphylococcus equorum* و *Staph- En- Staphylococcus lentus* و *Staphylococcus aureus* و *Staphylococcus warneri* و *terococcus Duran*. ويوضح شريط الرسم البياني في المخطط 3 أنواع البكتيريا التي تم العثور عليها أثناء اختبار فايبيك

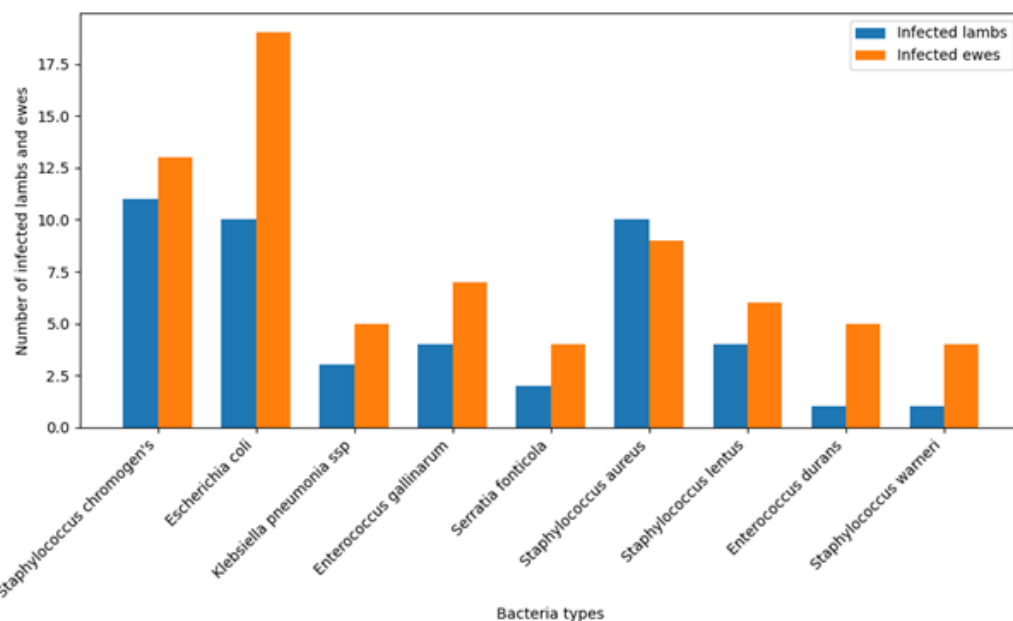


(أ) البكتيريا إيجابية الجرام تحت المجهر



(ب) البكتيريا سلبية الجرام

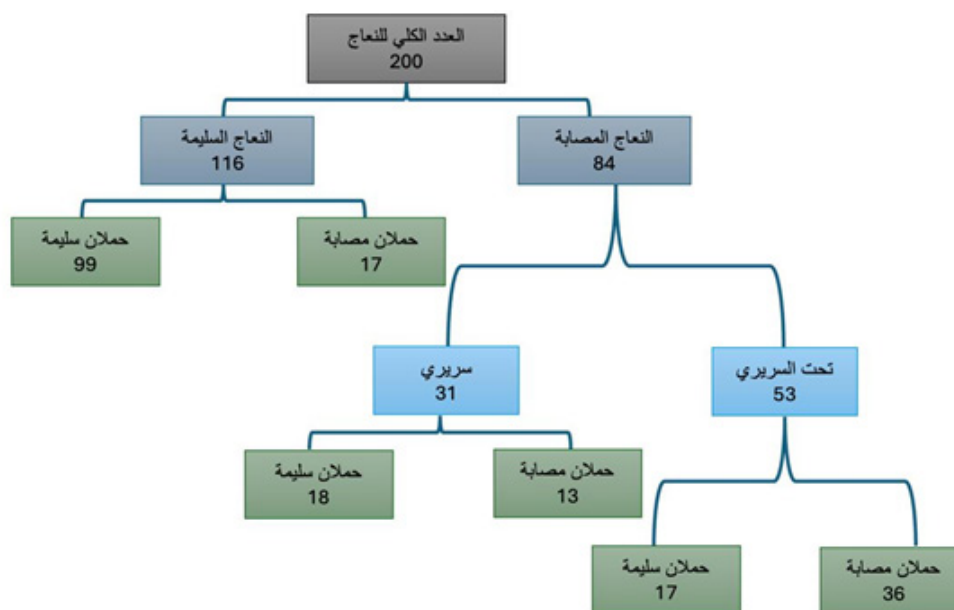
الصورة 2 (أ) البكتيريا إيجابية الجرام (ب) البكتيريا سلبية الجرام تحت المجهر، والتي تظهر شكلاً مميزاً لوحظاً أثناء الفحص.



المخطط 3 عدد الإصابات بالبكتيريا بين النعاج وصغارها من بين 72 نعجة مصابة و 49 خروف مصاب.

Staphylococcus chromogen, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia ssp*, *Enterococcus gallinarum*, *Staphylococcus equorum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus lentus*, *Enterococcus durans*, *Staphylococcus warneri*. وأظهرت النتائج أن الإصابات الموجودة في التهاب الضرع كانت أعلى من تلك التي وجدها (10).

المخطط رقم 4 يبين المقارنة بين الحملان السليمة والمصابة من النعاج السليمة والمصابة حيث وجدنا من مجموع 200 نعجة و 200 حمل 84 نعجة مصابة بالتهاب الضرع حيث تم تشخيص 72 نعجة مصابة بالبكتيريا من النعاج الـ 84 الباقية ولم نجد أي بكتيريا معزولة أما الحملان التي ظهرت عليها أعراض الإسهال فقد بلغ عددها 49 كما هو مبين في الجدول (1) من النعاج المصابة بالتهاب الضرع فقد وجدنا 17 حمل مصاب بالإسهال من النعاج السليمة. كما وجد تشابه في تحول البكتيريا بنفس المرض الذي أصاب النعاج المصابة بالتهاب الضرع في حملاتها، حيث وجد (32) حملاً مصاباً بالإسهال كما هو موضح في الجدول (2) وقد كانت نفس أنواع البكتيريا في نعاجها على النحو التالي: *Staph-*



المخطط 4 يوضح النعاج المصابة وحملاتها المصابة والسليمة وكذلك النعاج السليمة وحملاتها المصابة والسليمة

الجدول 1. العلاقة بين التهاب الضرع في الأغنام والإسهال في حملاتها تعتمد على نوع التهاب الضرع.

النعاج السليمة	النعاج المصابة بالتهاب الضرع		
	التهاب الضرع تحت السرييري (%)	التهاب الضرع السرييري (%)	
17 (14.65)	36 (67.92)	13 (41.93)	الحملان المصابة بالإسهال
99 (85.34)	17 (32.07)	18 (58.06)	الحملان السليمة
116	53	31	المجموع

الجدول 2 . يوضح التشابه في الانتقال البكتيري من النعاج المصابة الى حملاتها

T	البكتريا المسببة للمرض	النعاج المصابة	الحملان المصابة
1	Staphylococcus chromogen's	5	5
2	Escherichia coli	9	9
3	Klebsiella pneumonia ssp	2	2
4	Enterococcus gallinarum	3	3
5	Staphylococcus equorum	2	2
6	Staphylococcus aureus	4	4
7	Staphylococcus lentus	3	3
8	Enterococcus durans	2	2
9	Staphylococcus warneri	2	2
	المجموع	32	32

6-Herrero-Fresno, A. and Olsen, J. (2018). Salmonella Typhimurium metabolism affects virulence in the host - A mini-review. Food Microbiology, 71: 98-110, <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.04.016>

7-Jacobson C, Larsen JW, Besier RB, Lloyd JB, Kahn LP. 2020. Diarrhea associated with gastrointestinal parasites in grazing sheep. Vet Parasitol. 282:109139, [10.1016/j.vetpar.2020.109139](https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2020.109139) .

8-Kaper JB, Nataro JP, Mobley HL. 2004. Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol. 2(2):123-140, <https://doi.org/10.1038/nrmicro818>

9-Koutsoumpas, A.T., Giadinis, N.D., Petridou, E.J., Konstantinou, E., Brozos, C., Lafi, S.Q., Fthenakis, G.C., Karatzias, H., 2013. Consequences of reduced vitamin A administration on mammary health of dairy ewes. Small Ruminant Res. 110, 120-123, <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2012.11.018>

10-Maisi, P., J. Seppanen, J. 'Detection of subclinical Mastitis in ewes'. British Veterinary Journal, 143, 1987, pp. 402-409, [10.1016/0007-1935\(87\)90017-0](https://doi.org/10.1016/0007-1935(87)90017-0)

11- Nazifi, S., Haghkhah, M., Asadi, Z., Ansari-Lari, M., Tabandeh, M. R., Esmailnezhad, Z., & Aghamiri, M. (2011). Evaluation of sialic acid and acute phase proteins (haptoglobin and serum amyloid A) in clinical and subclinical bovine mastitis. Pakistan Veterinary Journal, 31(1), 55-59.

12-Pathmanathan, S.G.; Cardona-Castro, N.; Sánchez-Jiménez, M.M.; Correa- Ocho,

References

1-Aboshady, H. Stear, M. J., Johansson, A., Jonas, E. and Bambou, J. C. (2020). Immunoglobulins as Biomarkers for Gastrointestinal Nematodes Resistance in Small Ruminants: Scientific Reports, 10, 7765, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-64775-x>

Aghamiri, M. (2011). Evaluation of sialic acid and acute phase proteins (haptoglobin and serum amyloid A) in clinical and subclinical bovine mastitis. Pakistan Veterinary Journal, 31(1), 55-59. www.pvj.com.pk

2-Al – Kubaysi, S. M. A. (2000). Bacterial and mycotic mastitis in ewes in Al – Qaim district – Al – Anbar province. Msc. Thesis, College of Veterinary Medicine, University of Baghdad.

3-Bocklisch, H .& Wet stein, D. Clinical diagnostic laboratory & therapeutic studies mastitis in a large sheep breeding flock. Tierarztl.prax,22,1994.PP.524-552, <https://api.semanticscholar.org/CorpusID:33588762>

4-CDC, (2011) National Enteric Disease Surveillance: Salmonella Annual Summary

5-De la Cruz, M.; Serrano, E.; Montoro, V.; Marco, J.; Romeo, M.; Baselga, R.; Albizu, I. and Amorena, B. (1994). Etiology and prevalence of subclinical mastitis in the manchega sheep at mid-date lactation. Small Rumin. Res. 14: 175-180, [https://doi.org/10.1016/0921-4488\(95\)00826-8](https://doi.org/10.1016/0921-4488(95)00826-8)

Hanson., & Robinson, (2019). Save that lamb, https://stacks.cdc.gov/view/cdc/58450/cdc_58450_DS1.pdf

M.M.A.; Puducherry, S.D. and Thong, K.L. (2003). Simple and rapid detection of *Salmonella* strains by direct PCR amplification of the *hlyA* gene; *J. Med. Microbiol.*, 52 (9): 773-776, <https://doi.org/10.1099/jmm.0.05188-0>

13-Quinn, P. J.; Carter, M. E; Markey B. M. and Carter, G.R. (2004). *Clinical Veterinary Microbiology*. 6th ed. Mosby Elsevier limited company, UK. <https://www.mea.elsevierhealth.com/clinical-veterinary-microbiology-e-book-9780702055881.html>

14-Schalm, O. W.; Carroll, E. J. and Jain, N.C. (1971). *Bovine mastitis*. Lea and Febiger., Philadelphia, USA.PP209-217.

15-Stokar-Regenscheit, N., Overesch, G., Giezendanner, R., Roos, S., & Gurtner, C. (2017). *Salmonella enterica* subsp. *diarizonae* serotype 61: k: 1, 5,(7) associated with chronic proliferative rhinitis and high nasal colonization rates in a flock of Texel sheep in Switzerland. *Preventive veterinary medicine*, 145, 78-82., <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28903879/>

16-Zahraei, T.; Salehi, M.; Mahzounieh, and E. Khaksar. (2010). Detection of *Salmonella* serovars in zoo and pet reptiles, rabbits, and rodents in Iran by culture and PCR methods. *Comp. Clin. Pathol.* (19): 199–202, [10.1007/s00580-009-0841-8](https://doi.org/10.1007/s00580-009-0841-8)