

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى
عباس عبود فرحان , غسان حمدان جميل, هادي علوان محمد

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

عباس عبود فرحان , غسان حمدان جميل, هادي علوان محمد
جامعة ديالى / كلية التربية الرازي

استلام البحث: ٠٥-١٠-٢٠١٠ - قبول النشر: ١١-٠١-٢٠١١

الخلاصة

تم إجراء دراسة مختبرية عن ٢٠ عينة من حليب الأبقار أخذت من ٢٠ بقرة حلب فريزين من محطة أبقار أبو شعير الواقعة في قضاء الخالص - محافظة ديالى للفترة من ١/١/٢٠١٠ ولغاية ٣١/٣/٢٠١٠ لتشخيص مرض التهاب الضرع السريري وكشف حساسية ومقاومة المسبب المرضي للأدوية المستخدمة في العلاج . أظهر الزرع البكتيري لعينات الحليب عزل ١٨ عذلة لجراثومة المكورات العنقودية الذهبية *Staph. aureus* و ٢ عذلة من جراثومة الأشريكية القولونية *E. coli* . كان تأثير التركيزين (٠,٢ و ٠,٣) % المحضرين من مسحوق الفطر الجاف *Calvatia craniformis* فعالا ضد جراثومة المكورات العنقودية الذهبية ولم يكن التركيز ٠,١ % ذو أهمية ، في حين كانت كافة التراكيز فعالة ضد جراثومة الأشريكية القولونية .

أظهر التحليل الإحصائي للناتج وجود ارتباط معنوي ($P < 0.05$) بين تأثير التركيز ٠,٣ % على جراثومة المكورات العنقودية الذهبية والأشريكية القولونية إذ بلغ قطر دائرة التثبيط (٠,٩ و ١,٣) سنتمرا على التوالي عند مقارنته مع تأثير التركيز ٠,٢ % إذ بلغ قطر دائرة التثبيط (0.7 و 0.8) على التوالي، وتأثير الأدوية المستخدمة في فحص الحساسية الدوائية مثل Amoxycillin و sulfathiazole و Trimethoprim و Ampicillin الذي بلغ (٠,٦ و ٠,٧ و ٠,٧) سنتمرا على التوالي ، كما وأبدت جراثومة المكورات العنقودية الذهبية مقاومة لدوائي Oxytetracycline و Streptomycin .

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى
المقدمة

إن الاستخدام المفرط للمضادات الحيوية في مجال الإنتاج الحيواني والزراعي وأمكانية انتقال العديد من عوامل المقاومة المورثية الجرثومية لهذه المضادات من هذه الحيوانات إلى الفلورة المعوية البشرية من خلال استهلاك الأغذية الملوثة بهذه الجراثيم المقاومة يؤثر سلباً على الصحة البشرية ويساعد على ظهور أمراض بشرية مزمنة أشد خطورة ويكون من الصعوبة التحكم بها ومعالجتها بالمضادات الحيوية المعروفة (WHO / EMC, 1997).

يعد التهاب الضرع ألبقري أكثر الأمراض التي تصيب الحيوانات اللبونة وهو عالمي التوزيع، وهناك عدة زمر من الجراثيم بإمكانها أن تحدث هذا المرض مثل المكورات العقدية *Streptococcus*، المكورات المعوية *Enterococcus*، الزوائف *Pseudomonas* والمكورات العنقودية *Staphylococcus* (De Olivera et al, 2000). يعد من الضروري من وجهة النظر العلاجية إنجاز مخططات الحساسية للمضادات الحيوية بالنسبة للجراثيم المعزولة من حالات التهاب الضرع البقري وخاصة المكورات العنقودية التي تظهر مستويات عالية من المقاومة للعديد من المضادات الحيوية.

ذكر Linde و Lehn (٢٠٠٥) بأن جرثومة المكورات العنقودية الذهبية تتواجد على الجلد والاعشيشية المخاطية وعلى الفرشة وعلى المواد الغذائية ولها القابلية الشديدة على إحداث المرض لأحتوائها على أنزيم المخثر Coagulase الذي يعد عامل مهم مسبب للمرض.

أختير الفطر *Calvatia craniformis* الذي ينتمي إلى المملكة الفطرية Mycota، إذ يعد من الفطريات الحقيقية Eumycota صنف Agaricomycetes والعائلة Lycoperdaceae وتبين الصورة (1a,b) شكل الفطر المكتشف لأول مرة في العراق والفطر المكتشف في دول أخرى من العالم وكما مثبت في المصادر العلمية على التوالي، وتبين الصورة (2a,b) مقطعا طوليا لشكل الفطر المكتشف في العراق والفطر المثبت في المصادر العلمية على التوالي.

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب

الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

- 8- De Olivera,A,P,Watts,J,L.,Salmon,S,A., and Aarestrup ,F.M.2000. Antimicrobial susceptibility of *Staphyococcus aureus* isolated from bovine mastitis in Europe and the United States.*JDiarySci*,Apr ;83(4):855-62.
- 9- Herwald ,L.A.1999.Control of Methicillin – resistant *Staphylococcus aureus* in the hospital setting .Am .J. Med : ;106(5A):11S-18S.
- 10-Hamao ,U. T, Tomio , L . Hironobu , and T. Osamu .1975. Production of a new antibiotic, Calvatic acid .J. Antibiotics, 28(1),87-90.
- 11-Jarp,J.1991.Classification of coagulase –negative staphylococci isolated from bovine clinical and subclinical mastitis. Vet Microbiol ,Apr :151-8.
- 12-Linde,H .and Lehn,N.2005.Methicillin-resistant *Staphylococcus aureu* (MRSA).Journal of Experimental Medicine (JEM)I30:582-585.
- 13- Morin , D.e.,Constable,Constable,P.D.and McCoy .1998 . Use of clinical parameters for differentiation of gram –positive and gram-negative mastitis in dairy cows vaccinated against lipopolysaccharide core antigens .Journal of American Veterinary Medical Association ,212:1423-1431.
- 14-Smith, A.H.1951. Puffballs and their allies in Michigan Am. Arbor. University of Michigan press. 131p.
- 15-Thorberg,B,N.,and Brandstrom,B.2000.Evaluation of two commercial systems and a new identification scheme based on solid substrates for identifying coagulase – negative staphylococci from bovine mastitis . J vet Med B Infect Dis Vt public Health , Nov; 47(9) : 683-91.
- 16-Yazdankhah ,S.P.Sorum,H., Larsen,H.S. & Gogstad,G.2001. Rapid method for detection of gram – positive and gram – negative bacteria in milk from cows with moderate or sever clinical mastitis,*Journal of clinical Microbiology* , sept vol 39,No 9:3228-3233.
- 17-WHO/EMC1997. The medical of antimicrobial use in food animals ,Report of a WHO meeting ,Berlin,Germany ,13-17 October 1997.
- 18- Zar J.H.1984. Biostatistical analysis , 2 (ed) ., Prentice Hall Inc ., Englwood , N.J.

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

المصادر

- الراوي، خاشع محمود ٢٠٠٠. مدخل إلى الإحصاء . الطبعة الثالثة ، كلية الزراعة والغابات ، جامعة الموصل .
- الزهيري ، عهود عقيد راضي ، (٢٠٠٥) . دراسة عن أخماج المستشفيات الناتجة عن المكورات العنقودية الذهبية في محافظة ديالى . رسالة ماجستير ، كلية التربية أبن الهيثم ، جامعة بغداد .

- 1- Alexopoulos C.J , C.W. Mim, M .Blackwell. 1996.Introductory Mycology (4th ed .) . New York : John Willey and Sons .
- 2-Birgersson ، A.، Jonsson M.P. and Holmberg ,O. 1992.Species identification and some characteristics of coagulase – negative staphylococci isolated from bovi udders .veterinary Microbiology ,jun1; 31(2-3):181-9.
- 3-Bradly,S.F.1999.Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* :Long-term Care Concerns,,Am.J.med:106(5A): 25-10S.
- 4-Cullmann , W.1993.Importance of B-Lactamole Stability in treating today,s respiratory tract infections .Respiration .60(supp1.1):10-15.
- 5-Christensen , C.M. 1959. Common Fleshy Fungi , Second Printing. U.S.A.
- 6-Ellis , M.B. and J.P. Ellis. 1990. Fungi without Gills (*Hymenomycetes* and *Gasteromycetes*) Chapman and Hall , London
- 7- Davidson ,T.J., Dohoo, I.R.,and Donald ,A.W.1994.Comparative tow dairy com treatments on the new infection and elimination rates of coagulase negative staphylococci,CanVet j.Dec ,35(12):775-780.

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب

الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

عزلا في حالات التهاب الضرع البقري وأيضا تتوافق مع ما وجدته Jarp، (1991) و Thorberg and Brandstrom ، (2000) و Birgersson وآخرون، (1992) بأن العنقوديات عزلت بشكل متكرر من حالات التهاب الضرع البقري. كما تتوافق هذه النتائج مع ما وجدته Hamao وآخرون، (1975) بأن لحامض الكالفاتيك Calvatic acid المستخلص من نفس الفطر القدرة الفائقة على قتل المكورات العنقودية الذهبية والاشريكية القولونية .

لقد أظهرت العزلات المختلفة التي عزلت من قبل باحثين سابقين مقاومة مرتفعة نسبيا للمضادات الحيوية كالدراسة التي قام بها Linde and Lehn ، (2005) التي أظهرت بها المكورات العنقودية الذهبية قد أظهرت مقاومة واضحة للمضادات الحيوية من فئة بيتا لاكتام β -Lactam مثل Mcthicillin و Oxacillin . وأظهرت دراسة أخرى قام بها الزهيري ، (2005) مقاومة المكورات العنقودية الذهبية للأدوية ofloxacin و Gentamycin و Lincomycin وكانت حساسة لبعض الأدوية مثل Vancomycin ، Rifampicin. وتأتي مقاومة *Staph.aureus* للمضادات الحيوية من خلال انتاج المضادات الحياتية لأنزيم بيتا لاكتاميز Beta lactamase - (Bradley, 1999) ، أو من خلال التغير في موقع الهدف لعمل المضاد (Herwald, 1999) . وقد يعزى إرتفاع نسب المقاومة المتعددة لأكثر من مضاد حيوي نتيجة حصول طفرات بفعل الاستخدام المتكرر وغير المبرمج لتلك المضادات (Cullmann, 1993).

وهذا يؤكد دور استخدام المضادات الحيوية في انتقاء العزلات الجرثومية الأكثر مقاومة للمضادات الحيوية والتي يمكن أن تنتشر بشكل وبائي وتستوطن بقية الحيوانات السليمة إذا لم يكن العلاج تاما ويقضي بشكل نهائي على العامل الممرض المسبب (Davidson وآخرون 1994) . لذلك ارتأينا استخدام مستحضرنا هذا الذي يدخل ضمن المعالجة البايولوجية وتلافي المقاومة الجرثومية للأدوية وكان هذا واضحا من قيم أقطار دوائر التنشيط المبينة في الجدول ٢ اذ كانت جميع التراكيز قاتلة لجرثومة الاشريكية القولونية كما مبين في المستنبت الزراعي ٢ وكان التركيزين ٠,٢ و ٠,٣ % قاتلين لجرثومة المكورات العنقودية الذهبية كما مبين في المستنبت الزراعي رقم ١ .

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

جدول رقم ٢ : يبين التراكيز المحضرة من الفطر *Calvatia craniformis* وأنواع الأدوية المستخدمة للمقارنة مؤشرا أزانها أقطار دوائر
التثبيط الناتجة من تأثير المستحضرات والأدوية على جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

ت	التراكيز المحضرة من المسحوق المذاب بالميثانول / % مع أنواع الأدوية المستخدمة	قطر دائرة التثبيط / سنتيمتر
١	٠,١	٠
٢	٠,٢	٠,٧
٣	٠,٣	١,٣
٤	Amoxycillin	٠,٦
٥	Trimethoprim sulfathiazole	٠,٧
٦	Ampicillin	٠,٧
٧	Oxytetracycline	مقاوم
٨	Streptomycin	مقاوم

($P < 0.05$)

وتشير النتائج المبينة في جدول رقم-٢ الى قدرة مستحضر الفطر بالتركيزين (٠,٢ و ٠,٣) % في قتل جرثومة
المكورات العنقودية الذهبية اذ كان التركيز ٠,٢ % يقارب أو يشابه في تأثيره الدوائي تأثير الأدوية Amoxycillin و
Trimethoprim sulfathiazole و Ampicillin، بينما أظهر التركيز ٠,٣ % قدرة فائقة على قتل الجرثوم المسبب
للمرض اذ بلغ قطر دائرة التثبيط ١,٤ سنتيمترا، ولم يظهر التركيز ٠,١ % أي قدرة على قتل المسبب المرضي .وهذه
النتائج تتوافق مع ماوجده Yazdanthah وآخرون(2000) و Morin وآخرون (١٩٩٨) بأن العنقوديات هي الأكثر

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

١

مستنتب رقم 1- : تأثير المستحضر على جرثومة الإشريكية القولونية على وسط MacConkey

1- التركيز 0.1 . 2- التركيز 0.2 . 3- التركيز 0.3.

لقد تم تنظيم النتائج التي حصلنا عليها من عملية إجراء فحص الحساسية الدوائية والمبينة في المستنتب الزراعي رقم 2
المبين أدناه و جدول رقم 2 لاحقاً .



مستنتب رقم ٢- فحص الحساسية الدوائية لمستحضرات الفطر ضد جرثومة المكورات العنقودية الذهبية

والأدوية الأخرى المستخدمة في التجربة على وسط .

N.agar 0.3. ٣- التركيز 0.2 . ٢- التركيز ١0.1- التركيز

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب

الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

تم عزل ١٨ عزلة من المكورات العنقودية و ٢ عزلة من الأيشريكية القولونية وكانت جميع عزلات المكورات العنقودية

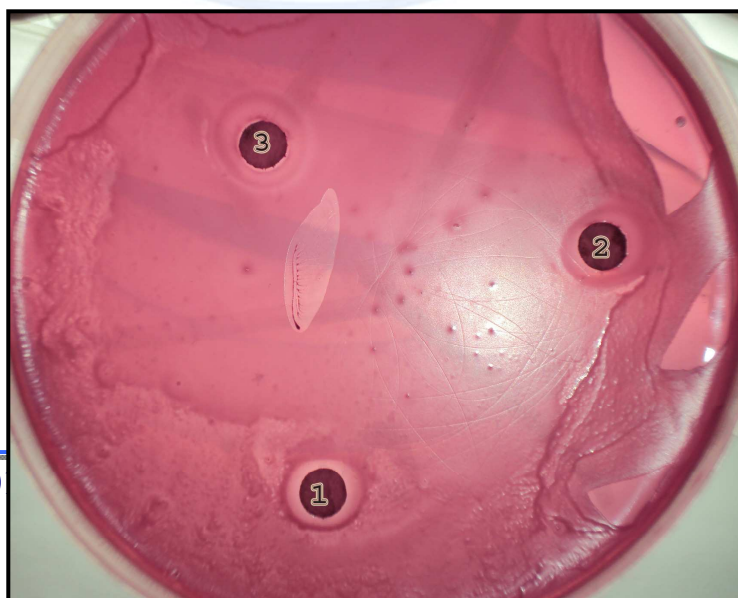
ذهبية *S.aureus*، ويبين جدول رقم ١ التراكيز المستخدمة من مسحوق الفطر المذاب بالميثانول المحضرة ضد

الأشريكية القولونية كما يوضع الجدول قطر دائرة التثبيط الظاهر في مستنبت الزرع رقم ١ .

جدول رقم- 1: - تأثير التراكيز المحضرة من مسحوق الفطر *Calvatia craniformis* بعد إذابته بالميثانول على عزلتين من المستنبت الزرع للأشريكية القولونية .

ت	التراكيز المحضرة من المسحوق المذاب بالميثانول %	قطر دائرة التثبيط/ سنتيمتر
1	0.1	0.7
	2.0	0.8
	3.0	0.9

($P < 0.05$)



تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب

الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

١. تم أخذ ٢٠ عينة من حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع من محطة أبقار أبو شعير ووضعت في أنابيب

مختبرية معقمة سعة ١٠ مليلتر وحفظت بالثلاجة بدرجة حرارة ٢ - ٨ مئوي .

٢. حضرت الأوساط الزرع الخاصة بعزل وتشخيص المسببات المرضية المسببة لالتهاب الضرع في الأبقار

في مختبرات قسم علوم الحياة / كلية التربية الرازي والتي هي عبارة عن الآكار المغذي Nutrient agar

وآكار الدم Blood agar وآكار مكنوكي MacConkey agar.

٣. تم أخذ مسحات من عينات الحليب بوساطة Swap معقمة ، وبظروف صحية تم عمل مسحات على الأوساط

الزرعية المحضرة في الفقرة ٢ ووضعت الأطباق في الحاضنة في درجة حرارة ٣٧ مئوي لمدة ٢٤ ساعة

ثم أجريت تنقية للمستعمرات اذ نقلت على أوساط زرعية نوعية .

٤. تم وضع الأقراص المحضرة وحسب التراكيز على المستعمرات التي حصلنا عليها و كذلك وضعت أقراص

الأدوية لغرض إجراء فحص الحساسية الدوائية .

٥. بوساطة المسطرة تم قياس أقطار دوائر التثبيط Zone of inhibition الناتجة عن تأثير المستحضرات

والأدوية .

التحليل الإحصائي

تم إجراء التحليل الإحصائي باستخدام جدول تحليل التباين وفق التصميم التام التعشبية C.R.D وقورنت الفروقات

باستخدام اختبار اقل فرق معنوي LSD عند مستوى ٠,٠٥ (الراوي ، ٢٠٠٠) .

النتائج والمناقشة

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب

الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى

Christensen ، (1959) ، Ellis ، Ellis ، (1990) و Alexopoulos وآخرون (1996) حسب تشخيص الأستاذ

الدكتور كامل سلمان جبر .

تهدف الدراسة إلى تحديد فاعلية الفطر *C. craniformis* ضد المسببات المرضية التي تسبب التهاب الضرع في محطة أبقار أبو شعير إضافة إلى إجراء اختبارات حساسية الجراثيم المعزولة للمضادات الحيوية في الخارج *Invitro* لتلافي الهدر المفرط في مبالغ الأدوية التي قد لا تنفع في علاج التهاب الضرع لوجود المقاومة العالية من قبل المسبب المرضي .

المواد وطرائق العمل

أولاً : الفطر *Calvatia craniformis*

١. تم سحق مكونات الجسم ألثري الجاف للفطر بواسطة جفنة خزفية بصورة تامة بعد التخلص من الأتربة المرتبطة به ، وبواسطة منخل تم نخل المسحوق للتخلص من الأجسام الصلبة التي لم تقبل السحق .
٢. باستخدام الميزان الحساس تم وزن ٢٥ غم من المسحوق الناتج من عملية النخل وتمت إذابته ب 75 مليلتر من الميثانول ذي التركيز ٩٩ % لكون المسحوق غير قابل للذوبان في الماء ولو كان مغلياً Hamao *etal*,1975 .
٣. تم خلط المزيج ثم أجري ترشيحه بواسطة ورق الترشيح قياس ٠,١ مليلتر . أخذ الراشح وأهمل الراسب إذ يعد الراشح المستخلص النقي من مسحوق الفطر .
٤. تم أخذ (٣,٢,١) مليلتر من الراشح وخلط كل منها مع ١٠ مليلتر من الماء المقطر للحصول على ثلاث تراكيز هي (٠,١% و ٠,٢% و ٠,٣%) .
٥. أخذت قطع مستديرة يصل قطرها من ٣- ٤ مليلتر من ورق الترشيح وعقمت بجهاز المعقم الذاتي Autoclave وغمرت في التراكيز المحضرة وحفظت حين الاستعمال في درجة حرارة المختبر .

ثانياً : جمع العينات

تقويم فاعلية الفطر *Calvatia craniformis* في علاج التهاب
الضرع السريري في محطة أبقار أبو شعير / ديالى



(Smith, 1951)

صورة 1- a : تمثل شكل الفطر الجاف عند اكتشافه في محافظة ديالى

b . تمثل شكل الفطر قبيل جفافه كما موجود في المصادر العلمية



(Smith, 1951)

صورة 2- a : تمثل مقطعاً طولياً للفطر المكتشف وهو جاف

B. تمثل مقطعاً طولياً للفطر الجاف كما مثبت في المصادر العلمية

جرى تشخيص الفطر إلى مستوى الجنس والنوع المذكورين في مختبر أبحاث الفطريات وأمراض النبات في كلية

الزراعة - جامعة بغداد اعتماداً على صفات الفطر التشريحية والمظهرية وبأستبعاد المفاتيح التصنيفية المعتمدة