أستخدام مستخلص البروبولس المحلي لعلاج ألتهاب الضرع في النعاج

كفاح عودة سلمان الجبوري حيدر فلاح حسن رشيد العبيدي
كلية الطب البيطري/ جامعة بغداد

الخلاصة

أجري هذا البحث بهدف استخدام المستخلص الكحولي للبروبولس المحلي كعلاج موضعي لالتهاب الضرع في النعاج ولتحقيق ذلك أجري مسح لالتهاب الضرع في الحقل الحيواني لكلية الطب البيطري وكلية الزراعة / جامعة بغداد ، تم خلاله ُ فحص 88 نعجة جُمِعت منها 168 عينة حليب ، حيث شكلت نسبة الإصابة بالتهاب الضرع السريري وتحت السريري (5.11% ، 14.20% على التوالي) من عدد الغدد الثديية المفحوصة ، وقد تم الحصول على 35 عزلة بكتيرية من حالات التهاب الضرع السريري وتحت السريري وبعد أجراء الفحوصات الكيموحيوية فضلاً عن الصفات التشخيصية المميزة لكل نوع من أنواع الجراثيم ، كانت المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* هي السائدة في التهاب الضرع السريري (44.44%) والمكورات العنقودية البشرانية *Staphylococcus epidemidis* هي السائدة في التهاب الضرع تحت السريري (53.84%)، وأظهرت نتائج الدراسة أن المكورات العنقودية الذهبية هي من أكثر الجراثيم أحداثا ً للارتفاع في عدد الخلايا الجسمية SCC في حليب النعاج مقارنة ً بباقي الجراثيم المعزولة في هذهِ التجربة ، وإن اختبار العد المجهري المباشر للخلايا الجسمية في الحليب هو أكفأ من اختبار كاليفورنيا الحقلي في تشخيص التهاب الضرع تحت السريري في النعاج ، هذا بالإضافة إلى عزل جرثومة *Pseudomonas aeruginosa* ولأول مرة من حالات التهاب الضرع في النعاج في العراق مقارنة ً بدراسات سابقة. وأثبتت هذهِ الخلاصة الكحولية للبروبولس فاعلية تجاه المكورات العنقودية الذهبية في الزجاج باستخدام طريقة الانتشار بالحفر ، وجُربت فاعليته ُسريرياً حيث أعطى التركيز 1% من البروبولس فاعلية في الشفاء البكتيري لـ 3 نعاج أصيبت طبيعياً بالتهاب الضرع تحت السريري في فترة الحلب والمتسبب عن (المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* ، والخمج الممزوج بين المكورات المسبحية يوبرس *Streptococcus uberis* و المكورات العنقودية البشرانية *Staphylococcus epidermidis*).

المقدمة

يعد التهاب الضرع من الأمراض المهمة في صناعة الأغنام لما يُسببهُ من خسارة اقتصادية تتمثل في : استبعاد النعاج المصابة قبل موعدها premature culling ، انخفاض في كمية الحليب المنتج ونوعيتهُ ، إضافة إلى كلفة الرعاية البيطرية (12). إن السيطرة على متبقيات المضادات الحيوية Antibiotic Residue في الحليب و منتجاته تمثل تحدياً كبيراً للجهات المسئولة عن صحة المجتمع ومصانع الألبان ،حيث أنه وتبعا لقانون منظمة توفير الغذاء و الدواء Food and Drug Administration FDA فأن الحليب أو منتجاته يعتبر مغشوش إذا احتوى على بقايا أدوية غير صالحه للاستهلاك البشري (23) . لذا كُرسِت جهود الباحثين في إيجاد البدائل العلاجية الناجحة للمضادات الحيوية و في محاوله لتقليل الاعتماد على الأدوية الكيميائية المنتجة صناعياً ومن ثم التخلص من الآثار الجانبية المرافقة لها ، ومن تلك البدائل : المستخلصات النباتية والأعشاب الطبية و المواد الطبيعية (22) . حيث أكدت البحوث فاعلية البروبولس العالية ضد البكتيريا الموجبة لصبغة كرام أكثر من البكتيريا السالبة لصبغة كرام وأن المكورات العنقودية الذهبية هي أكثر أنواع البكتيرية تحسساً لخلاصة البروبولس (18) . وتعتبر المكورات العنقودية الذهبية واحدة من أشد المسببات المرضية خطورة على الضرع في الأغنام ، حيث غالباً ما تقاوم المضادات الحيوية في النسيج الحي مما يرافقها فشل العلاج حقلياً (19) ، وأن البروبولس يزيد من فاعلية المضادات الحيوية ضد نمو المكورات العنقودية الذهبية تآزرياً (8). وفي العراق أثبت (27) فاعلية البروبولس المحلي تجاه بكتيريا *Staphylococcus aurues* و *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* و خميرة *Candida albicans* ، وكانت المكورات العنقودية الذهبية هي الأكثر حساسية للخلاصة الإيثانولية للبروبولس و بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli* هي الأقل تأثراً . لذا صممت هذه الدراسة من أجل أيجاد بدائل للمضادات الحياتية من البربولس والتي يمكن أستعمالها بمفردها أو مؤازرة بالمضادات الحياتية لعلاج التهاب الضرع في النعاج.

المواد وطرق العمل

أجري المسح على 88 نعجة عائدة إلى كلية الطب البيطري وكلية الزراعة /جامعة بغداد، تربى بطريقة الرعي المفتوح وتراوحت أعمار النعاج من 3–9 سنوات وعدد ولاداتها من 1–7 ولادات.

جدول (1) يوضح عدد الحيوانات وعدد العينات لحالات التهاب الضرع في حقل كلية الطب البيطري والزراعة

الموقع	عدد النعاج	عدد عينات الحليب
كلية الطب البيطري	42	84
كلية الزراعة	46	84
المجموع	88	168

أجري الفحص السريري ا لملاحظة التغيرات على النعجة أو الضرع أو الحليب ، تم أجراء اختبار كاليفورنيا والعد المباشر للخلايا الجسمية في الحليب SCC للكشف عن حالات التهاب الضرع تحت السريري, وبذلك صنفت حالات التهاب الضرع اعتماداً على(16) إلى:

-التهاب الضرع السريري :

- التهاب الضرع فوق الحاد Peracute form
- التهاب الضرع الحاد Acute form
- التهاب الضرع تحت الحاد Subacute form
- التهاب الضرع المزمن Chronic form

– التهاب الضرع تحت السريري .

جمع العينات

تمَ جمع العينات وأجراء الفحص السريري وفحص الحليب حيث أخذت العينات لأجراء فحص كاليفورنيا والعد المجهري المباشر للخلايا الجسمية في الحليب بالأعتماد على طريقة (7).

الزرع البكتيري Bacterial culture

العزل الجرثومي تم من خلال زرع 0.01 مل من الحليب على سطح أكار الدم والماكونكي والأكار المغذي حيث يتم التشخيص الافتراضي من خلال نمو وشكل المستعمرات ، نوع التحلل على أكار دم الأغنام ، اختبار الأوكسيديزOxidase test، أختبار الكاتليز Catalase test ، زرعها على الأوساط الزرعية الانتقائية مثل الماكونكي وأكار المانتول الملحي ووسط ادوارد ، ومن خلال أجراء تفاعل Coagulase واختبار CAMP (19). وأجري أختبار الفعالية البايولوجية لخلاصة البروبولص في الزجاج تجاه العزلات البكتيرية بأستخدام طريقة الأنتشار بالحفر (14) .

تحضير مستخلص البروبولس

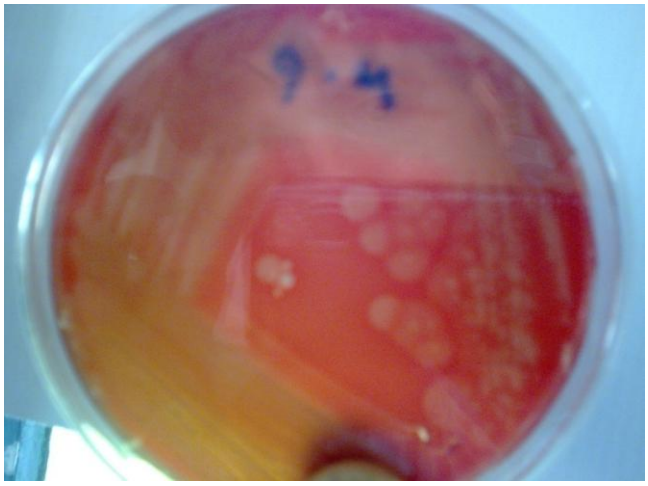
تم شراء 1 كغم من مادة البروبولس الخام من معشب في بغداد ، حيث جمع من مناطق حول الرضوانية في محافظة بغداد ، وتم تنظيفها من الأتربة و قطع الخشب العالقة بها ، ثم وضعت بالمجمدة لعدة ساعات بعدها طحنت باستعمال مطحنة كهربائية حتى أصبح بهيئة مسحوق ، ثم حفظت في عبوات نظيفة ومعتمة ومحكمة الغلق في درجة حرارة الغرفة لحين الاستعمال(10).تم تحضير الخلاصة الإيثانولية للبروبولس بمزج مسحوق البروبولس المحضر في الفقرة أعلاه مع الكحول الإثيلي ذو التركيز 70% بنسبة 9:1 (كل 1 غم من البروبولس يقابلهُ 9 مل من الكحول الأثيلي) في درجة حرارة الغرفة وهي المفضلة ، بعد ذلك تم تعديل الأس الهيدروجيني من 5 –6.4 (1) ، وباستعمال المازج المغناطيسي كان يرج يومياً لعدة مرات ولمدة عشرة أيام ، ثم رُشح المزيج باستعمال قطعة من القماش ، ثم باستخدام ورقة ترشيح من نوع (Whatman No. 1) ، ثم تم أحداث التصفية الباردة Cold Filtration وذلك بوضع الراشح في درجة حرارة – 20 C° ولمدة 24 ساعة تقريباً ثم يرشح باستخدام ورقة ترشيح من نوع (Whatman No. 50) بحيث يتم الحصول على راشح صافي خالي من المواد الشمعية Waxy material التي بقيت عالقة بورقة الترشيح ، ويتم أعادة عملية الترشيح الأخيرة في حال أذا كان الراشح ليس صافياً جداً ، بعد ذلك تمت تصفيتهُ باستخدام المرشحات ذات الثقوب الدقيقة 0.2 مايكروميتر (Milipore Filter Syringe) ، أزيلَ المذيب (الكحول الاثيلي) وذلك من خلال تبخيرهِ بوضعهِ في أطباق زجاجية في الفرن الكهربائي بدرجة C°70 ويجب مراقبتهِ جيداً ، علماً أن البروبولس يحترق بدرجة حرارة C° 80 ، وبذلك تم الحصول على خلاصة البروبولس الخالية من الكحول (propolis Ethanol Free Extract PEFE)،ثم تم وزنها وحفظها في عبوات زجاجية نظيفة ومعتمة ومعقمة في الثلاجة بدرجة C° 4 لحين الاستعمال(4).

النتائج والمناقشة

أظهرت نتائج فحص 88 نعجة عائدة للحقل الحيواني لكلية الطب البيطري وكلية الزراعة ، جمعت منها 168 عينة حليب وكما مبين في الجدول (2) إن 7 نعاج أصيبت بالتهاب الضرع السريري أي بنسبة(7.95%) من مجموع النعاج المفحوصة ، وأن نعجتين من هذه النعاج شملت الإصابة فيهما كلا الغدتين الثديتين فيكون عدد الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع السريري (9) غدد ثديية بنسبة (5.11%) من مجموع الغدد الثديية المفحوصة . أما التهاب الضرع تحت السريري ، فقد أصيبت (22) نعجة أي بنسبة (25%) وأن 3 نعاج شملت الإصابة فيها كلا الغدتين فيكون عدد الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري 25 غدة ثديية بنسبة (14.20%) من مجموع الغدد الثديية المفحوصة ، وكان عدد الغدد الثديية العمياء (المتليفة) 8 غدد أي بنسبة (4.54%) من مجموع الغدد الثديية.يوضح الجدول (2) أن نسبة الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع السريري

والتهاب الضرع تحت السريري هي أقل من ما وجدتهُ (23) 6.4% ،18.51 % على التوالي و (25) 13.17% ، 36,09 % على التوالي بنسبة ، وقد يعزى الانخفاض في نسبة التهاب الضرع السريري وتحت السريري إلى كثرة العلاجات الوقائية Prophylactic Treatment . ومن خلال الفحص السريري لمجموع 88 نعجة تبين أن 3 نعاج أصيبت بالتهاب الضرع السريري فوق الحاد وبنسبة 55.55% من عدد الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع السريري ، وكانت الإصابة للنعاج المذكورة تشمل الشطرين عدا نعجة واحدة أصيب احد شطريها ، حيث امتازت الحالة الأولى بازرقاق الضرع وبرودته وكانت إفرازات الضرع دموية وخلال عزل الجرثومي تبين أن المكورات العنقودية الذهبية هي المسبب المرضي لهذه الحالة والتي أدت إلى هلاك الحيوان بعد 24 ساعة ، بينما كانت الحالة الثانية لنعجة أصيب كلا شطري ضرعها بتورم واحمرار وسخونة وألم وتضخم الغدة اللمفية فوق الثديية مع ارتفاع درجة الحرارة وازدياد معدل التنفس واضطجاع الحيوان وكان الحليب المأخوذ من غدتها الثديية بلون اخضر فاتح حيث أشارت نتائج الزرع الجرثومي إلى بكتريا *Pseudomonas aeruginosa* والحالة الثالثة تعود إلى نعجة أصيب احد شطري ضرعها ببكتريا *Pasteurella haemolytica* مع ظهور التلون باللون الأزرق على سطح الضرع ووجود علامات جهازيه على النعجة حيث انه تم معالجتها واستجابة للعلاج كليا .عزلت بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* من حالة التهاب الضرع السريري فوق الحاد وفي كلا الشطرين ، حيث أن هذهِ الجرثومة لم يسبق عزلها في الدراسات السابقة في العراق (24 , 26) ، وهذا يتفق مع (17,16) في قابلية هذهِ الجرثومة على أحداث التهاب الضرع السريري فوق الحاد والحاد في النعاج .

شكل (1). نمو لبكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* المعزولة من حليب الأغنام على أكار الدم .



التهاب الضرع الحاد

من خلال الفحص السريري تبين إن نعجتين أصيبتا بالتهاب الضرع الحاد ، وكانت الإصابة في شطر واحد وبنسبة 22.22% من عدد الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع السريري وأظهرت نتائج الزرع الجرثومي أن بكتريا *Actinomyces pyogenes* هي المسبب المرضي لهاتين الحالتين حيث امتاز الشطر المصاب بتورمه وإفرازات تقيحية شديدة .

التهاب الضرع تحت الحاد :

كان عدد الغدد الثديية المصابة بهذا النوع هو غدتين في نعجتين وبنسبة 22.22% من عدد الغدد الثديية المصابة بالتهاب الضرع السريري وكان المسبب المرضي وراء هاتين الحالتين هي بكتريا المكورات العنقودية الذهبية حيث امتازت بالقوام المائي للحليب .

التهاب الضرع تحت ألسريري

إن العزل الجرثومي لعينات حليب الأغنام السليمة ظاهرياً أشار إلى وجود عزلتين من المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* وبنسبة (7.69%) وعزلة واحدة من كل من بكتريا *Streptococcus uberis* و *Streptococcus dysagalactia* و *Streptococcus fecalis* وبنسبة (3.84%) لكل منها ، بالإضافة إلى 19 عزلة للأنواع الأخرى من المكورات العنقودية *Staphylococcus species* بنسبة (73.03%) وبواقع 14 عزلة من *Staphylococcus epidermis*) (بنسبة (53.84%) و3 عزلات من بكتريا (*Staphylococcus chromogenes*) بنسبة (11.54%) و عزلتان من بكتريا (*Staphylococcus simulans*) بنسبة (7.69%) ، وتم عزل عزلتين من بكتريا *Corynebacterium pseudotuberculosis* وبنسبة (7.69%) من مجموع المسببات المرضية المعزولة من حالات التهاب الضرع تحت السريري البالغ 26عزلة وكما مبين في الجدول (3) .علما إن هناك حالة واحده من الخمج الجرثومي الممزوج بين المكورات العنقودية البشرانية ومسبحيات يوبرس .لم

تُعزل جرثومة الايشريكيا القولونية *E. coli* في أي حالة من التهاب الضرع السريري أو تحت السريري وهذا لم يتوافق مع ما وجدتهُ (24) ويتفق مع ما وجدهُ (26) حيث قد يعزى ذلك إلى امكانية الضرع على التخلص من الجرثومة في غضون 24 –48 ساعة حيث تكمن خطورة هذهِ البكتيريا في السموم الداخلية Endotoxin المفرزة والتي قد تؤدي إلى حدوث حالة الصدمة (Ziv,1992) .

جدول رقم (2). يبين عدد النعاج التي تم فحصها ونسب الإصابة بالتهاب الضرع.

أ . النعاج :

عدد النعاج المفحوصة		88
عدد النعاج المصابة	التهاب الضرع السريري (%)	7 (%7.95)
	التهاب الضرع تحت السريري (%)	22 (%25)

ب . الغدد الثديية :

عدد الغدد الثديية المفحوصة		176
عدد الغدد الثديية المصابة	التهاب الضرع السريري (%)	9 (%5.11)
	التهاب الضرع تحت السريري (%)	25 (%14.20)
عدد الغدد الثديية السليمة		134 (%76.14)
عدد الغد الثديية العمياء		8 (%4.54)

أظهر الفحص ألسريري الإصابة بالتهاب الضرع ألسريري في (9) غدد ثديية ، في حين كانت (159) غدة ثديية سليمة ظاهرياً اعتماداً على نتائج الزرع الجرثومي وتم تقسيم العينات المأخوذة من هذهِ الغدد السليمة ظاهرياً إلى عينات مصابة وعينات سليمة حيث كانت 25 غدة ثديية سليمة ظاهرياً موجبة للزرع الجرثومي و 134 غدة ثديية سليمة ظاهرياً سالبة للزرع الجرثومي ، وتم تقييم كفاءة الاختبارات اعتماداً على نسبة النتائج الموجبة الصادقة إلى مجموع النتائج الموجبة ، وعلى نسبة النتائج السالبة الصادقة إلى مجموع النتائج السالبة كل على حده ، وحسبت الكفاءة النسبية لكل اختبار. يبين الجدول (3) كفاءة الاختبارات الحقلية التي استعملت في فحص (25) عينة حليب مصابة و(134) عينة حليب سليمة وهو عدد العينات السليمة ظاهرياً كذلك يبين عدد العينات المصابة التي أظهرت نتيجة موجبة صادقة (23) عينة أي بنسبة (92%) ، مقابل ذلك أظهرت عينيتين مصابة نتيجة سالبة كاذبة أي بنسبة (8%) في حين كان عدد العينات السليمة التي أظهرت نتيجة سالبة صادقة (98) أي بنسبة (73.13%) ، بينما أظهرت (36) عينة سليمة نتيجة موجبة كاذبة أي بنسبة (26.86%) . وبذلك تكون كفاءة هذا الاختبار في تشخيص العينات المصابة (92%) وكفاءتهُ في تشخيص العينات السليمة (73.13%) . أظهرت النتائج أن اختبار العد المجهري المباشر للخلايا الجسمية في الحليب Direct Microscopic Somatic Cell Count أكفأ في تشخيص التهاب الضرع تحت السريري من اختبار كاليفورنيا الحقلي وهذا تقريباً مقارب لما وجدتهُ (24) حيث ذكرت أن كفاءة اختبار العد المجهري المباشر للخلايا الجسمية في الحليب كانت (87.74%) ، بينما كانت كفاءة اختبار كاليفورنيا كانت أقل من ما وجده (24 , 26) .

جدول (3). كفاءة الاختبارات الحقلية المستعملة في تشخيص التهاب الضرع تحت السريري .

الغدد الثديية	عدد العينات المختبرة	اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع		العد المجهري المباشر للخلايا الجسمية SCC في الحليب	
		سالبة	موجبة	سالبة	موجبة
الغدد الثديية المصابة(%)	25	2 (%8)	23 (%92)	0 (%0)	25 (%100)
الغدد الثديية السليمة (%)	134	98 (%73.13)	36 (%26.86)	113 (%84.32)	21 (%15.67)
كفاءة الاختبار		% 65.13		% 90.32	

يبين الجدول (4) العلاقة بين المسببات المرضية المختلفة وعدد الخلايا الجسمية في الحليب SCC حيث يمكن ملاحظة إن بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية هي السائدة في التهاب الضرع السريري (44.44%) وهذا يتفق مع العديد من الباحثين (2,3,5,6,15,17,21) .ونلاحظ من الجدول (5) إلى وجود فروق معنوية بمستوى 5% في عدد الخلايا الجسمية في الحليب بين المسببات المرضية لالتهاب الضرع تحت السريري و إن المكورات العنقودية الذهبية Staphylococcus aureus أحدثت أعلى ارتفاع في عدد الخلايا الجسمية في الحليب ، بينما أحدثت بكتيريا *Corynebacterium psuedotuberculosis* أقل ارتفاع في عدد الخلايا الجسمية في الحليب ، ونلاحظ أيضاً إن المكورات العنقودية البشرانية Staphylococcus epidermis هي السائدة في التهاب الضرع تحت السريري وبنسبة (53.84%) من مجموع عدد الجراثيم المعزولة من هذا الشكل من التهاب الضرع، بينما تشكل بكتيريا Streptococcus dysagalactia و Streptococcus uberis و Enterococcus fecalis أقلية وبنسبة (3.84%) من مجموع المسببات المرضية لالتهاب الضرع تحت السريري في النعاج .

جدول (4). نوع وعدد العزلات المعزولة من حليب النعاج في حالة التهاب الضرع السريري.

المسبب المرضي	عدد العزلات	النسبة %
1. *Staphylococcus aureus*	4	%44.44
2. *Pasteurella haemolitica*	1	%11.11
3. *Pdeudomonas auerginosa*	2	%22.22
4. *Actinomyces pyogenes*	2	%22.22
المجموع	9	%100

جدول (5). تأثير المسبب المرضي على عدد الخلايا الجسمية في الحليب في حالة التهاب

المسبب المرضي	عدد العزلات	النسبة %	S.D. ± in Mean SCC	
1. *Staphylococcus aureus*	2	%7.69	0.52 ± 15.07	A
2. *Streptococcus uberis*	1	%3.84	. . . ± 14.47	A
3. *Streptococcus dysagalactia*	1	%3.84	. . . ± 14.52	A
4. *Corynebacterium psuedotuberculosis*	2	%7.69	0.23 ± 11.96	B
5. *Enterococcus fecalis*	1	%3.84	. . . ± 14.14	A
6. *Staphylococcus epidermidis*	14	%53.84	1.01 ± 13.31	AB
7. *Staphylococcus chromogenes*	3	%10.54	0.33 ± 13.87	AB
8. *Staphylococcus simulans*	2	%7.69	0.03 ± 14.50	A
المجموع	26	%100	LSD = 1.63	

#الحروف المختلفة تشير إلى وجود اختلافات معنوية بمستوى 5 %

الضرع تحت السريري .

أظهرت نتائج العلاج استجابة لخلاصة البروبولس تجاه 6 عزلات من المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب الأغنام باستخدام طريقة الانتشار بالحفر في الزجاج In Vitro حيث تناسبت الفاعلية تناسباً طردياً مع الزيادة في تركيز الخلاصة Conentration dependant drug حيث كانت معدلات أقطار تثبيط النمو ± الخطأ القياسي SE هي :

جدول (6). العلاقة بين التراكيز المختلفة لخلاصة البروبولس والتثبيط لنمو 6 عزلات من المكورات العنقودية الذهبية

التركيز / القطر	10 مغ / مل	25 مغ / مل	50 مغ / مل	75 مغ / مل	100 مغ / مل
أقطار تثبيط النمو بالملم ± الخطأ القياسي	0.2 ± 9.86	0.2 ± 12.3	0.3 ± 13.72	0.4 ± 18.05	0.3 ± 20.4

وتتفق هذهِ النتائج مع ما وردَ في العديد من الدراسات التي أشارت إلى إن لخلاصة البروبولس فعل مثبط ضد نمو المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من عينات حليب الأبقار (13) و (25) والذي يعود إلى

كونهُ مضاد بكتيري قوي نتيجة احتوائهِ على العديد من المواد الفعالة (11) في حين أثبتت هذهِ التجربة فاعلية البروبولس المضادة لجرثومة المكورات العنقودية الذهبية المعزولة من حليب الأغنام في الزجاج أولا . واتفقت هذهِ النتائج مع ما أكدهُ (27) ما لهذهِ المادة من تأثير مثبط لنمو المكورات العنقودية الذهبية باستخدام طريقة الانتشار بالحفر عند استعمال تراكيز متدرجة من (10 ، 20 ، 30 ، 40 ، 50 ، 60 ، 70 ، 80 ، 90 ، 100) مغ / مل حيث أظهرت معدلات أقطار تثبيط النمو ضد بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية (8 ± 0.3 ، 9.7 ± 0.2 ، 11.5 ± 0.3 ، 12.1 ± 0.5 ، 13 ± 0.6 ، 14.8 ± 0.2 ، 16.6 ± 0.2 ، 17.1 ± 0.2 ، 17.5 ± 0.3 ، 17.6 ± 0.4) ملم على التوالي في حين لم تتفق نتائجنا مع (25) حيث ذكر أن تركيزاً مقدارهُ 5 مغ / مل من الخلاصة الكحولية للبروبولس العراقي والهنكاري أحدث تثبيطاً لنمو بكتيريا *Staphylococcus aureus* ، *E. coli* ، *Klebsiela pneumonia* بمعدلات أقطار تثبيط (22.3 ، 22.5) ، (20 ، 21.3) ، (19.3، 20.3) ملم على التوالي حيث أن هذا التركيز قليل مقارنة بهذهِ الدراسة والدراسة التي أجراها (27) .

شكل (2). الفاعلية العالية لخلاصة البروبولس بتركيز 10% تجاه بكتيريا المكورات العنقودية الذهبية في المختبر باستخدام طريقة الانتشار بالحفر، بينما يمثل التثبيط في الحفر إلى اليمين واليسار فاعلية مزيج المادة الحاملة Glycerin والمادة المذيبة Polyethylene Glycol 200فقط

عولجت 3 نعاج أصيب أحد شطريها بالتهاب الضرع تحت السريري المتسبب ببكتيريا المكورات العنقودية الذهبية *Staphylococcus aureus* (نعجتين) ، و بالخمج المزدوج من بكتيريا المكورات المسبحيات *Streptococcus uberis* والمكورات العنقودية البشرانية *Staphylococcus epidermidis* (نعجة واحدة) ، وتم العلاج الموضعي بمستحضر البروبولس بتركيز 1% داخل الضرع عبر فتحة الحلمة Intramammary Infusion بعد تفريغ الضرع كليا من الحليب وتعقيمهِ باليود والكحول 70% ، حيث استخدمت الجرعة القياسية في العلاج والتي تمثلت بجرعة مقدارها 5 مل ، بعد كل عملية حلب (كل 12 ساعة) ولمدة 3 أيام (9) وتم تقييم الأستجابة العلاجية من خلال المراقبة الدورية للنعاج بأجراء 3 سحبات متتالية لعينات الحليب بعد (أسبوع وأسبوعين و 3 أسابيع) من بدء فترة العلاج . حيث أظهرت النتائج حدوث شفاء بكتيري في النعاج الثلاث وذلك من خلال الزرع الجرثومي الأسبوعي ولثلاث سحبات متتالية ، في حين حدثت بعض التغيرات على الضرع والحليب والتي اختفت فيما بعد وهذا يستوجب اجراء فحص السلامة للمستخلص الكحولي للبروبولس على النعاج السليمة .

المصادر

1.Aga, H. ; Shibuya, T. ; Hamada, S. ; Iritani, S. and Miyake, T. (1999). Propolis extract with improved water Solubility. United state patent, Number 5,922,324.

2.Ariznabarreta, A. ; Gonzalo, C. and San porimitivo, F. (2002). Microbiological Quality and Somatic Cell Count of Ewe milk with Special Reference to Staphylococci. J. Dairy Science 85 : 1370-1375.

3.Bergonier, D. ; de Cremoux, R. ; Lagriffoul, G. and Berthelot, X. (2003). Mastitis of dairy small ruminants. Veterinary Research. 34:689-716.

4.Bizarre Patent (2001). US Patent 4382886 Method for extraction propolis and water soluble dry propolis . United State Patent , Number 4382886 .

5.Bünger, L. ; Conington, G.O. and Stott, A. (2005). Towards a better understanding of using breeding to control mastitis in sheep and cattle.

6.Contreras, A. ;Sierra, D. ;Sanchez, A. ;Corrales, J.C. ;Marco, J.C. ;Paape, M.J. and Gonzalo, C. (2007). Mastitis in small ruminants. Small Ruminant Research. 68:145-153.

7.Ewbank, R. (1962). An Evaluation of the California Mastitis Test & Negretti field test as indicator of Subclinical Bovine Mastitis. Vet. Record 74(38)1017.

8.Junior, A.F. ;Balestrin, E.C. ;Betoni, J.E.C. ;Orsi, R.O. ;Cunha, M.R. Montelli, A.C. (2005). Propolis : anti. Staphylococcus aureus and synergism with antimicrobial drugs and Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Vol 100(5) : 563-566.

9.Keefe, J.T. (1984). Dose Determination studies with antimicrobial Drugs. Bovine mastitis. Published by Ohio state university, press Columbus , Ohio.

10. Krell, P.V. (1996). Value-Added products form Beekeeping . Food and Agriculture Organization, Rome, Italy, services bulletin. No. 124.

11. Kilic, A. ;BAysaller, M. ;Besirbellogln, B. ;Salth, B. ;Sorkun, K. ;Tanyuksel, M. (2005). In vitro antimicrobial activity of propolis

12. Kretschmer, E. ;Holcombe, D. ;Huether, E. ;Redelman, D. ;Fernandez, G. (2007). Study of The PORTASCC Milk test to estimate Somatic Cell Count (SCC) and Detect subclinical mastitis in sheep. American Society of Animal Science. Vol. 58.

13. Metersa, E. and Metersa, T. (1985). An attempt to use propolis extract in the treatment of mastitis in Cows. Medycyna Weterynaryjana 41: 92-489.

14. National Comminute for Clinical Laboratories Standers (NCCLS) (1997). Method for dilution antibacterial susceptibility test for bacteria that grow aerobically. Approved standers M7-A4-Wayne , P A.USA.

15. Ogilvie, H.T. (1998). Large animal internal medicine, 1st ed. Published by Williams and Wilkins Company.

16. Quinn, P. J. ; Carter, M. E. ; Markey, B. and Carter, G. R. Clinical Veterinary Microbiology. London : M.Wlofe. Reprinted 2004.

17. Radostits, O.M. ; Gay, C.C. ; Hinchclift K.W. and Constable, P.D. Veterinary Medicine, 10th edition. London, W.B. Saunders Company Limited. Reprint 2007 .

18. Salamoa, K. ;Pereira, P.S. ;Compos, L.C. ; and Castro, S.L. (2007). Brazilian propolis : Correlation between Chemical composition and Antimicrobial Activity. Evidence Based Complement Alternative Medicine 5(3) : 317-324.

19. Sears, P.M. and McCarthy, K.K. (2003). Management and treatment of staphylococcal mastitis in: Symposium on Mastitis. Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice. 19: 171-185.

20. Talley, M.R. (1999). The National Milk Safety Program and Drug Residues in Milk in: Symposium on Chemical Food Borne Hazards and Their Control. Veterinary Clinic of North America: Food Animal Practice.15:63:73.

21. Watjins, G.H. and Jones, J.E. (2007). Disease of sheep edited by I.D. Aitken. 4th ed.

22. Ziv, G. (1992). Treatment of peracute and acute mastitis in symposium

الرئة في الأبقار . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .
26. الكبيسي ، صلاح محمود عاشور (2000) . التهاب الضرع الجرثومي والفطري في النعاج في منطقة القائم – محافظة الأنبار . رسالة ماجستير–كلية الطب البيطري– جامعة بغداد .
27. المحنه ، علي محمد غازي . (2004) . دراسة فاعلية خلاصة مادة البروبولس الكحولي المحلي في علاج الجروح الخارجية المخموجة ببعض الجراثيم والفطريات الممرضة في الفئران . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .

on Applied Pharmacology and Therapeutics II. Vet. Clinic of North America. 8: 1-15.
23. الدليمي ، إبراهيم جابر عبد (2005) . دراسة تأثير التثبيطي لبعض المستخلصات نبات الكلغان *Silybum marianum* في نمو بعض الأحياء المجهرية الممرضة . رسالة ماجستير – كلية العلوم – جامعة بغداد .
24. العزي ، عفاف عبد الرحمن (1982) . دراسة بعض جوانب التهاب الضرع الجرثومي في الأغنام . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد .
25. السلماني ، علاء كامل محمود (2007) التأثير الحياتي لمركبات البروبولس العراقي والهنكاري على إصابات الضرع وذات

Usage of local propolis formulae for treatment of mastitis in ewes

Abstruct.

The aim of this research was to use of ethanol extract Local propolis (EEP) in treatment of mastitis in ewes Locally as Intra-mammary Infusion To carry out this aim , Survey was made for mastitis in the animal fields of veterinary and Agriculture college of Baghdad University ,Where 88 ewes were examined and 168 milk samples were collected , and the results show that : The percentage of clinical mastitis was 5.11% while the percentage of subclinical mastitis was 14.20% from the total udder halves that examined , Thirty five bacterial strains were isolated from clinical and subclinical mastitis in ewes , After confirmed each strain by morphological and biochemical Characteristics , *Staphylococcus aureus* was the most prevalent pathogens in the clinical mastitis (44.44%) while *Staphylococcus epidermidis* was the most prevalent pathogens in the subclinical mastitis (53.84%), *Staphylococcus aureus* was the most pathogens causing elevating of Somatic Cell Count in ewe's milk , also the result showed that Direct Microscopic Somatic Cell Count was more confident than California Mastitis Test in detection of subclinical mastitis in ewes , In addition to isolate *Pseudomonas aeruginosa* for the first time in Iraq compared with previous studies. This Propolis Ethanolic Extract show antibacterial activity against Staphylococcus aureus in Vitro by Agar Diffusion Method. The antibacterial activity of propolis preparation 1% were proved clinically with bacterial Cure in 3 cases of ewes naturally infected with subclinical mastitis caused by *Staphylococcus aureus* and mixed infection between *Streptococcus uberis and Staphylococcus epidermidis* .