الجمهوريّة العربيّة السّوريّة
جـــامـــعـة حـمـــــــاة
كليّة الطّـــــــــب البيطري
قسم أمراض الحـــيوان

دراسة انتشار الكيتوزس تحت السريري وعلاقته بالتهاب الضرع تحت السريري عند الابقار الحلوب في المنطقة الوسطى من سورية

أطروحة اعدت لنيل درجة الدكتوراه في العلوم الطبية البيطرية

اختصاص أمراض باطنة بيطرية

إعداد طالب الدراسات العليا

محمد نور علي هدلة

المشرف العلمي

أ.م.د. احمد القاسم

أستاذ مساعد في قسم أمراض الحيوان

المشرف المشارك

أ.م.د. أديب الزين

أستاذ مساعد في قسم أمراض الحيوان

1445هـ - 2024م

الإهداء

- إلى من وفقني ربي بدعائهما .. إلى من أوصاني ربي بهما ... **والداي** ... أدعوا لهما ما حييت
- إلى رفيقة دربي وسندي ...إلى من ضحّى بالكثير ، وأعطى بلا حدود .. إلى من تفانى وصبر من أجل بلوغ هدفي وتحقيق مقاصدي

.... **إلى أم بيتي** ... عرفاناً بالجميل .

- إلى قلبي النابض... أملي في الحياة.....

الى أبنائي الغالين...**ريما .غفران .علي .أحمد. بتول. ديما**

- إلى أختي التي أنارت دربي.
- إلى أصدقائي الذين كان لهم فضل كبير علي في تحقيق أمالي

الباحث

د.محمد نور هدلة

شكر و تقدير

الحمد لله رب العالمين و الصلاة و السلام على أشرف المرسلين و خاتم الأنبياء محمد (صلى الله عليه و سلم) و على آله و صحبه أجمعين . يسعدني و أنا اخط الأسطر الأخيرة في هذه الأطروحة أن أتقدم بشكري و تقديري لأساتذتي الدكتور **أحمد القاسم** والدكتور **أديب الزين** تقديراً لجهودهما ومتابعتهما المتواصلة لي وتوجيهاتهما العلمية طوال مدة البحث، وتقديم التسهيلات الممكنة لإتمام هذا البحث ، سائلاً الله عز وجل بدائم الصحة والتوفيق لهما.

كما أتقدم بالشكر الى **عمادة كلية الطب البيطري** و رئاسة قسم **أمراض الحيوان** و منتسبي القسم كافة ، و أتوجه بالشكر الجزيل الى جميع الأقسام في كلية الطب البيطري .

كما أتقدم بالشكر الجزيل للسادة أعضاء لجنة الحكم والمناقشة لما أبدوه من رحابة صدر أثناء المناقشة والأدلاء بالتوجيهات والتعديلات على هذه الرسالة وفقهم الله لما يحبه ويرضاه.

وفي الختام أتقدم بالشكر لزملائي الدكتور ياسر العمر، ياسين المحسن، علي حيدر، عمران فاعور، ضياء المحمد، وزملائي من طلاب الدراسات د.**عاصم د. صالح ،د بلال** ... و الى كل من أبدى المساعدة متمني للجميع التوفيق و النجاح.

محمد نور صدلة

تصريح

أصرح بأنَّ هذا البحثَ الموسومَ بعنوانِ :

((دراسة انتشار الكيتوزس تحت السريري وعلاقته بالتهاب الضرع تحت السريري عند الأبقار الحلوب في المنطقة الوسطى من سورية))

لم يسبق أن حصل على أيَّةِ شهادةٍ ولا هو مُقدمٌ حالياً للحصولِ على أيّةِ شهادةٍ أخرى.

المرشح

محمد نور علي هدلة

التاريخ / /2024

DECLARATION

It is hereby declared that this work under title:

Prevalence of Subclinical Ketosis and its Relationship to Subclinical Mastitis in Dairy Cattle in the Central Region in Syria

has not already been accepted for any degree, nor is being submitted concurrently for any other degree.

Candidate
M.NOUR ALI HADLA

Data: / / 2024

* شـهادة *

أشـهدُ بـأنَّ العمـلَ الموصـوفَ فـي هـذهِ الرسـالةِ هـو نتيجـةُ بحـثٍ قـامَ بـهِ المرشـح طالـب الدراسات العليا الطبيب البيطريّ **محمـد نـور هدلـة** تحتَ إشرافِ الدكتور احمد القاسم، استاذ مساعد في قسم امراض الحيوان– كليّةُ الطبِ البيطري – جامعةُ حماة، و الدكتور أديب الزين، استاذ مساعد في قسم امراض الحيوان– كلية الطب البيطري–جامعة حماة. وأيُّ رجوعٍ إلى بحثٍ آخرَ مُوثقٌ في النص.

المُرشح	المُشرف العلمي	المشرف المشارك
محمد نور هدلة	**أ.م.د. أحمد القاسم**	**أ.م.د. أديب الزين**

التاريخ: / /2024

CERTIFICATE

We witness that the described work in this thesis is the result of scientific search conducted by the candidate **M.NOUR ALI HADAL** under the supervision **Dr. AHMAD AL-KASEM** in Department of Animal Diseases and **Dr. ADEIB AL-ZAIN** in Department of Animal Diseases Faculty of Veterinary Medicine, Hama University and any other reference mentioned in this work are documented in the text of the thesis.

Supervisor	Supervisor	Candidate
Dr. AHMAD AL-KASEM	**Dr. ADEIB AL-ZAIN**	**M.NOUR HADAL**

Data: / /2024

فهرس المحتويات

التسلسل	الموضوع	الصفحة
	فهرس المحتويات	I
	قائمة الجداول	IV
	قائمة المخططات	V
	قائمة الأشكال	VI
	قائمة الاختصارات	VI
	الملخص	VIII
	Abstract	X
أولا:	**المقدمة**	1
	الأهداف	4
ثانيا:	**الدراسة المرجعية**	5
(1-2)	التهاب الضرع	5
(2-2)	أسباب المرض	6
(1-2-2)	المسببات المعدية	7
(2-2-2)	المسببات البيئية	7
(3-2)	عوامل الخطورة للإصابة بالتهاب الضرع	8
(4-2)	اشكال التهاب الضرع في الأبقار	11
(5-2)	تشخيص التهاب الضرع في الأبقار	15
(6-2)	الفترة الإنتقالية والأمراض الأستقلابية	22
(7-2)	الكيتوزس	24
(8-2)	تصنيف أشكال المرض	28
(9-2)	عوامل الخطورة للإصابة بالكيتوزس	30
(10-2)	تشخيص الكيتوزس	34
(11-2)	الخسارة الاقتصادية الناجمة عن الكيتوزس عند الأبقار	37

(12-2)	العلاقة بين التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي	38
ثالثا:	المواد وطرائق العمل	44
(1-3)	المواد والأجهزة المستخدمة	44
(1-1-3)	الأجهزة المستخدمة	44
(2-1-3)	المحاليل والمواد الكيميائية	45
(3-1-3)	الأوساط الزرعية	46
(4-1-3)	الكواشف	47
(2-3)	طرائق البحث	48
(1-2-3)	حيوانات الدراسة	48
(2-2-3)	جمع عينات الحليب	48
(3-2-3)	جمع عينات الدم	49
(4-2-3)	جمع عينات البول	49
(5-2-3)	العمل الجرثومي	49
(6-2-3)	الاختبارات التي أجريت على مصل الدم	56
(7-2-3)	الاختبارات التي أجريت على الحليب	61
(8-2-3)	الاختبارات التي أجريت على البول	64
(3-3)	التحليل الإحصائي	65
رابعا:	النتائج	67
(1-4)	انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي	67
(1-1-4)	انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي حسب اختبار كالفورنيا CMT واختبار الزرع الجرثومي	67
(2-1-4)	انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي حسب اختبار تعداد الخلايا الجسمية وقياس pH الحليب	69
(2-4)	تأثير التهاب الضرع دون الإكلينيكي على قيم الـpH وتعداد الخلايا الجسمية	70
(3-4)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي	70

(4-4)	انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي	74
(1-4-4)	انتشار الكيتوزس حسب اختبار قياس BHBA	74
(2-4-4)	نسبة الانتشار حسب اختبار وجود الأجسام الكيتونية في البول والحليب	75
(5-4)	تأثير الكيتوزس على المؤشرات الكيمياحيوية	76
(6-4)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي	76
(7-4)	العلاقة ما بين الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي	80
(8-4)	الأعراض الإكلينيكية الظاهرة على الحيوانات المصابة	82
خامساً:	المناقشة	83
(1-5)	نتائج الزرع الجرثومي	83
(2-5)	انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي	84
(3-5)	تأثير التهاب الضرع دون الإكلينيكي على قيم الـpH وتعداد الخلايا الجسمية	84
(4-5)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي	86
(5-5)	انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي	88
(6-5)	تأثير الكيتوزس على المؤشرات الكيمياحيوية	88
(7-5)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي	90
(8-5)	العلاقة ما بين الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي	92
(9-5)	الأعراض الإكلينيكية الظاهرة على الحيوانات المصابة	95
سادساً	الاستنتاجات	96
سابعا	التوصيات	97
ثامناً	المراجع العلمية	98
1-8	المراجع العربية	98
2-8	المراجع الأجنبية	101
	الملحق	130

قائمة الجداول

التسلسل	الجداول	الصفحة
(1-2)	تقييم درجة اختبار كاليفورنيا	16
(2-2)	متوسط تركيز المركبات البروتينية في الحليب وعلاقتها بمستوى عدد الخلايا الجسمية	19
(3-2)	تأثير التهاب الضرع في محتوى الحليب من العناصر المعدنية	20
(4-2)	نسبة الإصابة وفق عدد الأيام بعد الولادة	31
(5-2)	العلاقة بين SCC و SCK	40
(1-3)	الأجهزة المستخدمة لإجراء الاختبارات	44
(2-3)	المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات	45
(3-3)	الأوساط المزرعية والمواد المستخدمة في الاختبارات	46
(4-3)	الكواشف المستخدمة في الأختبارات	47
(1-4)	نتائج اختبار كاليفورنيا والزرع الجرثومي للكشف عن التهاب الضرع دون الإكلينيكي	67
(2-4)	نتائج التشخيص الجرثومي والنسب المئوية لتواجدها	68
(3-4)	تشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار باستخدام اختباري تعداد الخلايا الجسمية في الحليب وقياس قيمة pH الحليب	69
(4-4)	نتائج قياس pH الحليب وتعداد الخلايا الجسمية	70
(5-4)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي	73
(6-4)	نسبة انتشار الكيتوزس عند الأبقار في المنطقة الوسطى من سورية	74
(7-4)	تشخيص الكيتوزس عند الأبقار باستخدام اختباري الكشف عن الأجسام الكيتونية	75

	في البول والحليب	
(8-4)	معدل بعض المؤشرات الكيمياحيوية عند حيوانات الدراسة	76
(9-4)	عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي	79
(10-4)	معامل الخطورة النسبية ومعامل الأرتباط بين الكيتوزس والتهاب الضرع	81
(11-4)	بعض المؤشرات الحيوية في أبقار الدراسة	82

قائمة المختصرات

التسلسل	العنوان	الصفحة
(1-4)	نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب العمر	71
(2-4)	نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب عدد الولادات السابقة	71
(3-4)	نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الفترة بعد الولادة	72
(4-4)	نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الإنتاج	73
(5-4)	نسبة انتشار الكيتوزس عند الأبقار في المنطقة الوسطى من سورية	75
(6-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب العمر	77
(7-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب عدد الولادات السابقة	77
(8-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الفترة بعد الولادة	78
(9-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الانتاج	79
(10-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع عند الأبقار	80
(11-4)	نسبة الإصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع عند الأبقار	81

قائمة الأشكال

التسلسل	العنوان	الصفحة
(1-2)	التركيب الشكلي للحلمات	10
(2-2)	العلاقة بين دورة TCA وتكوين الأجسام الكيتونية	27
(1-3)	الإستبيان المتعلق بالحيوانات المفحوصة	66

قائمة المختصرات

المُختصرات Abbreviations	Terminology	المصطلح
CMT	California Mastitis Test	اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع
SCC	Somatic cell count test	اختبار العد المجهري للخلايا الجسمية
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay	المقايسة المناعية للأنزيم المرتبط
NEB	Negative energy balance	توازن الطاقة السلبي
PTH	Parathyroid hormone	هرمون جار الدرقية
Ac	Acetone	الأسيتون
AcAc	Acetoacetate	أسيتو اسيتات
βHBA	β-hydroxy butyric acid	بيتا هيدروكسي بيوترك اسد
AST	aspartate aminotransferase	أنزيم أسبارتات ناقلة الأمين
ALT	alanine aminotransferase	أنزيم ألآنين ناقلة الأمين

ALP	alkaline phosphatase	أنزيم الفوسفات القلوي
γGT	γGlutamyl transferase	أنزيم غاما غلوتاميك ترانسفيراز
TCA	Tricarboxylic acid cycle	دورة الحمض ثلاثي الكاربوكسيل
Kb	Ketone bodies	الأجسام الكيتونية
CK	Clinical ketosis	الكيتوزس الإكلينيكي
SCK	Subclinical ketosis	الكيتوزس دون الإكلينيكي
NEFA	Non Esterified Fatty Acid	الاحماض الدهنية غير المؤسترة
PMNs	Polymorphonuclear cells	الخلايا متعددة أشكال الانوية
CM	Clinical mastitis	التهاب الضرع الإكلينيكي

ملخص البحث

ABSTRACT

الملخص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم انتشار كل من التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار في ريف محافظتي حمص وحماة، والعلاقة فيما بينهما، إذ أجريت هذه الدراسة في مخابر كلية الطب البيطري في جامعة حماة (مخبر وظائف الأعضاء، مخبر الكيمياء الحديثة) ومخابر مديرية زراعة حماة (مخبر الأحياء الدقيقة والتشخيص المخبري) في الفترة الواقعة ما بين 2021/6/5 و 2022/2/16، حيث تم جمع عينات الدراسة من أبقار حلوب في ريف محافظتي حمص وحماة، وشملت العينات كل من (الدم، الحليب، البول)، كما تم ملئ استمارة استبيان لدراسة بعض عوامل الخطورة المرافقة لمرض التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي.

أجريت على عينات الدم الاختبارات التالية (تقييم تركيز كل من βHBA، الغلكوز، AST، ALT، TG) كما خضعت عينات الحليب (للزرع الجرثومي واختبار كاليفورنيا وقياس قيمة pH والكشف عن إيجابية تواجد الأجسام الكيتونية) أما في عينات البول فقد تم الكشف عن إيجابية تواجد الأجسام الكيتونية فيها.

أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع نسبة انتشار الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت 60% حسب اختبار كاليفورنيا، كما بينت النتائج ارتفاع نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت 35% حسب تركيز البيتا هيدروكسي بوترات.

كما بينت نتائج العزل الجرثومي أن المسببات المرضية الأساسية لالتهاب الضرع هي:

المكورات العنقودية الذهبية إيجابية المخثراز، المكورات العنقودية سالبة المخثراز، المكيرات الدقيقة، الإشريكية القولونية، العقدية الأجلكتية، المكورة المعوية البرازية، وأنواع من جنس العصيات إيجابية الغرام.

كما تشير نتائج الدراسة الحالية إلى الارتفاع المعنوي في نسب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي بتعداد الولادات، والتقدم في عمر الحيوانات وارتفاع الإنتاج من الحليب كما تزداد نسبة الإصابة في كلا المرضين في الفترة الأولى بعد الولادة (أقل من 3 أسابيع).

وبينت النتائج ارتفاع في تعداد الخلايا الجسمية وارتفاع في قيمة pH الحليب المأخوذ من أبقار مصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي. ووجود ارتفاع في قيمة كل من (AST و ALT) في مصل دم الأبقار المصابة بالكيتوزس وانخفاض في قيمة كل من (الغلكوز و TG).

كما بينت نتائج هذه الدراسة وجود علاقة مباشرة ما بين حدوث الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي.

Abstract

This study aimed to evaluate the prevalence of both subclinical mastitis and subclinical ketosis in cow in the countryside of Homs and Hama governorates, and the relationship between them. This study was conducted in the laboratories of the College of Veterinary Medicine at the University of Hama (Physiology Laboratory, Modern Chemistry Laboratory) and the laboratories of the Agriculture Directorate in Hama (microbiology and diagnosis laboratory) in the period between 6/5/2021 and 2/16/2022, where study samples were collected from milk cows in the countryside of Homs and Hama governorates, and the samples included (blood, milk, urine) A questionnaire form was also filled out to study some of the risk factors associated with subclinical mastitis and subclinical ketosis.

The following tests were also performed for blood samples (βHB, glucose, AST, ALT, TG), as well as for milk samples (bacterial culture, California test, pH, detecting the positive presence of ketone bodies). As for urine samples, the following tests were performed: About the positive presence of ketone bodies in it.

The results of this study showed a high prevalence of subclinical mastitis, reaching 60% according to the California test. The results also showed a high prevalence of subclinical ketosis, reaching 35%, according to the concentration of beta-hydroxybutyrate.

The results of bacterial isolation also showed that the main pathogens of mastitis are:

Coagulase-positive Staphylococcus aureus, Coagulase-negative Staphylococcus, Micrococcus, Escherichia coli, Streptococcus agalactiae, Enterococcus faecalis, Gram-positive bacilli spp.

The results of the current study also indicate a significant increase in the percentage of cows suffering from subclinical mastitis and subclinical ketosis with an increase in the number of births, an increase in the age of the animals, an increase in the number of repeated births, and an increase in milk production. The incidence of both diseases also increases in the first period after birth (less than 3 weeks).

The results showed an increase in the number of somatic cells and an increase in the pH value of milk taken from cows suffering from subclinical mastitis. There was an increase in the value of (AST, ALT) in the blood serum of cows suffering from ketosis and a decrease in the value of (glucose, TG) in the blood serum of cows suffering from ketosis.

The results of this study also showed that there is a direct relationship between the incidence of subclinical mastitis and subclinical ketosis.

المقدمة والأهداف

Introduction, & Objectives

المقدمة

Introduction

تُعد تربية الأبقار من الروافد المهمة في الاقتصاد العالمي لما توفره من منتجات ذات قيمة اقتصادية كبيرة وكذلك لما تمتاز به هذه المنتجات من قيمة غذائية عالية. تعد الأبقار المنتج الرئيسي للحليب من بين حيوانات المزرعة كونها تسهم بنحو 90% من الإنتاج الكلي في العالم إذ تقدر كمية إنتاج حليب الأبقار بحوالي 501.5 مليون طن سنوياً (FAO, 2002). وقد قادت هذه الميزة كثيراً من الباحثين إلى دراسة الأمراض و العوامل التي تؤثر في إنتاج ونوعية الحليب حيث تتسبب الأمراض في خسائر مادية كبيرة من خلال انخفاض الإنتاج وزيادة تكاليف المعالجة، حيث إن ما يقارب 75% من الأمراض تحدث عند الأبقار الحلوب خلال الشهر الأول من الولادة (LeBlan, 2010).

تُعد سلامة الضرع هدفاً أساسياً لإنتاج حليب صحي خالٍ من الملوثات (Amany *et al.*, 1996) وإن إصابة الضرع بالمسببات المرضية والبيئية المختلفة تعرض الحليب إلى تغيرات تؤثر في صلاحيته للاستهلاك البشري. ويحتل التهاب الضرع ولا سيما الشكل دون الإكلينيكي موقعاً مهماً في الاهتمام بوصفه أكثر الإصابات شيوعاً في مجال تربية الأبقار الحلوب ويعود ذلك إلى خواص المرض الوبائية وطبيعته غير المرئية والتي تشكل مصدراً خطيراً للمرض (Girma *et al.*, 2012) فضلاً عن ترافقه باضطرابات أيضية تزيد من خطورته (Hallen-Sandgren *et al.*, 1997).

يُعد انخفاض إنتاج الحليب من أكبر الخسائر الاقتصادية التي تنجم عن التهاب الضرع ولا سيما الحالات دون الإكلينيكية منها، إذ تؤدي تلك الحالات إلى انخفاض الشهية لتناول العلف فضلاً عن انخفاض كفاءة التحويل الغذائي (McDowell, 1994) وبالتالي انخفاض مستوى إنتاج الحليب بنسبة قد تصل إلى 70% (Gurbulak *et al.*, 2009). وقد يبقى الإنتاج منخفضاً حتى بعد شفاء الحيوان إكلينيكياً.

تناولت العديد من الدراسات الخسائر الاقتصادية جراء حالات التهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ أنها تنجم عن انخفاض انتاج الحليب نتيجة التهاب الضرع وبشكل كبير ويعود ذلك إلى إنتاج حليب ذو قيمة غذائية متدنية بسبب انخفاض محتوى البروتينات والدهون واحتواءه على نسبة عالية من الخلايا الجسمية وخلايا الدم البيض (Sung *et al.*, 1999; Rogers, 2002). فضلاً عما تقدم قد يعزى جزءً من هذه الخسائر إلى التكاليف المترتبة على الأدوية والمعقمات والخدمات البيطرية، إذ قد يكون العلاج غير مجدٍ (Philpot & Nickrson, 2003)، أو تنسيق الحيوان Culling (Shekhan, 2011;Radostits *et al.*, 2007).

من جانب آخر يتسبب الكيتوزس دون الإكلينيكي أيضاً في خسائر اقتصادية في مجال صناعة الألبان بسبب الانخفاض الملحوظ في إنتاج الحليب (Orsolya *et al.*, 2003) وزيادة معدلات الاستبعاد Culling (McArt *et al.*, 2012) وزيادة تكاليف المعالجة المرهقة (Detilleux *et al.*, 1994) ويمكن أن يزيد من فرصة حدوث حالات مرضية أخرى كانزياح المنفحة Abomasal displacement (Duffield, 2000) وتكيس المبايض Cystic ovary (Gustafsson & Emanuelson, 1996) فضلاً عن تسببه في ضعف الكفاءة التناسلية (Hanus *et al.*, 2017).

ولقد أهتمت الأبحاث خلال العقود الثلاث الماضية بالكيتوزس دون الإكلينيكي بشكل كبير في الولايات المتحدة وكندا وأوروبا الغربية (McArt *et al.*, 2012; Suthar *et al.*, 2013; Raboisson *et al.*, 2014) وتقدر الخسائر الاقتصادية في الولايات المتحدة جراء حالات الكيتوزس دون الإكلينيكي بنحو 78 دولاراً للبقرة الواحدة (Geishauser *et al.*, 2000).

بناءً على ما تقدم ونظراً لأهمية وكثرة حدوث الأمراض في الفترة الانتقالية ما قبل وبعد الولادة ولكون غالبية طبيعة الأمراض في بداية حدوثها تكون بشكل تحت إكلينيكي Subclinical لذا فإن تشخيصها المبكر يعد ذو أهمية اقتصادية كبيرة في قطعان إنتاج الحليب، ونتيجة لقلة وجود دراسات في

سورية وقلة المعلومات المتوفرة عن حالة الكيتوزس دون الإكلينيكي وعلاقتها بحدوث التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار الحلوب، لذا فقد جاءت الدراسة الحالية.

أهداف الدراسة:

Objectives of the study

تتلخص أهداف هذه الدراسة بما يلي:

1) إجراء مسح ميداني اختباري لمرض التهاب الضرع تحت السريري والكيتوزس تحت السريري في مناطق مختلفة من ريف محافظتي حمص وحماة.
2) دراسة العلاقة بين طرق الكشف عن التهاب الضرع تحت السريري واختبارات الكشف عن الكيتوزس تحت السريري.
3) دراسة ارتباط حدوث التهاب الضرع تحت السريري بالكيتوزس تحت السريري عند حيوانات التجربة.

الدراسة المرجعية

LITERATURE REVIEW

الدراسة المرجعية

Literature Review

2-1- التهاب الضرع:

اشتق مصطلح التهاب الضرع Mastitis من الكلمة اليونانية Mastos التي تعني الضرع، والمقطع itis الذي يعني الالتهاب، لذا تصبح الكلمة مجتمعة بمعنى التهاب الضرع (Philpot & Nickerson, 2003). ويُعد التهاب الضرع من أهم الامراض التي تصيب الأبقار الحلوب حول العالم (Girma *et al.*, 2012; FAO, 2014)، كما يعد هذا المرض من الأمراض المستوطنة في سورية (حاغور والياسينو، 1998) ويحدث الالتهاب إما نتيجة لاستجابة الضرع وأنسجتها المفرزة للضرر الناجم عن الإصابة بالرضح، أو غزو الأحياء الدقيقة عندما تجد طريقاً سالكاً إلى داخل الغدة والتي تُعد المسبب الرئيس للمرض(Heringstad *et al.*, 1997; Hallen-Sandgren *et al.*, 1997) . إذ تنمو هذه الأحياء المجهرية وتنتج ذيفانات Toxines تعمل على تنشيط الاستجابة الالتهابية في نسيج الضرع (Ahlner, 2004). ويتميز التهاب الضرع بتغيرات عدة منها الفيزيائية كظهور كتل الحليب المتخثر أو المصحوب بالدم أو ظهور الحليب بشكل مائي أو على شكل خيوط أو التغيرات الكيميائية التي تتمثل بتغير النسب الطبيعية لمكونات الحليب (Blowey & Edmondson, 1995; Mrode *et al.*, 2002)، فضلاً عن التغيرات الفسيولوجية المرضية Histophysiology التي تلاحظ من خلال تضخم الضرع وتليفه وضمور أسناخه المفرزة للحليب وتجمع الخلايا المتهتكة في قنوات الحليب وزيادة سمك جدران الأوعية الدموية الشعرية وبالتالي نقص تدفق الدم (Schukken *et al.*, 1997)، إضافة إلى ارتفاع درجة حرارة الضرع والألم والورم وقساوته عند الجس مع قلة ادرار الحليب أو انعدامه (Radostits *et al.*, 2000a) ويتميز المرض أيضاً بظهور كل من الجراثيم وخلايا الدم البيض والخلايا الظهارية بنسب عالية وغير طبيعية في الحليب (Ranjan *et al.*, 2010).

إذ أنه في بداية حدوث الالتهاب يزداد تدفق الدم إلى الشعيرات الدموية في الضرع ويترافق ذلك بزيادة نفوذية الأغشية ما بين الدم والحليب، كما يحدث ارتشاح البروتينات من البلازما إلى الفجوات بين الخلايا وتتسبب بحدوث وذمة (Sandholm *et al.*, 1995a) وإن هذه النفوذية والعبور يقود إلى تغيير في تركيب الحليب مثل انخفاض محتوى اللاكتوز والكازئين بينما يزداد محتوى الأملاح (Hallén-Sandgren *et al.*, 1997) ثم تبدأ هجرة كريات الدم البيض من الدم إلى أماكن الإصابة (Sandholm *et al.*, 1995b) وتكون الكريات البيضاء الرئيسية التي تتواجد في الحليب أثناء الإصابة بالتهاب الضرع هي الخلايا الظهارية متعددة النواة (Benites *et al.*, 2002,; Pyorala, 2003) أما عندما يصل إلى مرحلة الالتهاب المزمن فإن نسيج الضرع يتدهور وتتخرب الأنسجة المفرزة للحليب والذي بدوره يؤدي إلى انخفاض في إنتاج الحليب وتعتمد شدة التغييرات في كمية ونوعية الحليب على شدة الإصابة وامتدادها والتي تتراوح من التأثير الضعيف إلى الإعاقة التامة لإفراز الحليب (Hallén-Sandgren *et al.*, 1997,; Pyorala, 2003).

يعد التهاب الضرع من الأسباب المهمة للاستبعاد، وجد (الراشد والحافظ، 1994) أن نسبة الاستبعاد بسبب الإصابة بالتهاب الضرع في بعض المزارع وصل إلى 25% ، وفي دراسة أجراها (عويجان، 2010) في بعض مباقر القطر العربي السوري وجد أن نسبة الاستبعاد بسبب التهاب الضرع 17%، وفي مبقرة جب رملة كانت نسبة الاستبعاد 9.27%(مسوح وأخرون، 2015).

2-2- أسباب المرض:

ينتج التهاب الضرع عن طيف واسع من المسببات المرضية المختلفة، منها ما يكون جرثومياً، فطرياً ، خمائرياً ، فيروسياً ، وتعد الإصابات الجرثومية أكثرها حدوثاً (Atasever, 2012) ويوجد عدة مسببات:

2-2-1- المسببات المعدية Contagious pathogens:

يحدث التهاب الضرع بالمسببات المعدية عند انتقال الجراثيم من الغدد اللبنية المصابة إلى الغدد السليمة بطرائق مختلفة، منها أيدي الحلابين، وألات الحلابة الملوثة، وحتى العجول الرضيعة، ويحدث هذا النوع من الإصابة بسبب العديد من المسببات ومن أهمها :

Staphylococcus aureus , Streptococcus agalactiae , S.dysaglactiae , Corynebacterium bovis , Mycoplasma spp.

ويكون شكل هذا المرض بوساطة هذا النوع من المسببات غالباً وبائياً وينتشر في القطيع بسرعة كبيرة إذ تنتقل من الحيوان المصاب إلى السليم، تعد المسببات المعدية أكثر انتشاراً من باقي المسببات الجرثومية الأخرى (Radostits *et al*., 2000a).

2-2-2- المسببات البيئية Environmental pathogens:

تعمل على إحداث التهاب الضرع البيئي Environmental mastitis، بدخولها من الوسط الخارجي عن طريق الحلمة للضرع، ويحدث هذا الالتهاب بكثرة عندما تتم السيطرة على المسببات المعدية. إذ أن المسببات البيئية لا تحتاج لأن تتواجد في الغدد المصابة لتبقى داخل القطيع، فهي تتواجد في الماء الملوث أو في الروث أو الأدوات أي أنها متواجدة في محيط الحيوان وحول الضرع فتحدث تجمعات جرثومية مسببة المرض بعد دخولها الغدد اللبنية. ومن أهم هذه المسببات:

Citrobacter spp, Klebsiella spp, E. coli, Enterbacter spp, Serratia spp, Pseudomonas, Proteus spp.

فضلاً عن بعض أنواع الجراثيم الموجبة لصبغة غرام مثل *Streptococcus uberis* (Radostits *et al*., 2000a,; Atasever, 2012).

كما إن هناك بعض أنواع من الجراثيم التي تستوطن عادة قناة الحلمة وتصيب الغدد اللبنية وتسبب إصابة دون الإكلينيكية أو أمراضاً إكلينيكية خفيفة، تدعى مثل هذه المسببات بـ المسببات الثانوية .Minor pathogens

كما إن قطيع ماشية الحليب الصغير العمر لا يمكن اعتباره خالي من إصابات الغدد اللبنية، إذ أن الفحوصات الجرثومية لإفرازات الغدد اللبنية لهذه الأبقار ما قبل ولادتها أشارت إلى وجود نسبة (2-7%) من الأرباع المصابة بمسببات التهاب الضرع لهذه الأبقار في أول عملية حلب لها، والجراثيم المعزولة شملت: E. coli, Streptococcus spp , S. aureus, Staphylococcus spp C.bovis, وجراثيم أخرى (Byarugaba *et al*., 2011, ; Anri, 2012).

2-3- عوامل الخطورة للإصابة بالتهاب الضرع Risk Factor For Mastitis:

تتفاوت حساسية الأبقار للإصابة بالتهاب الضرع اعتماداً على تداخل عوامل وراثية وفسيولوجية وبيئية وإدارية عدّة، وكذلك إن قلة الرعاية الصحية وعدم تطبيق الإجراءات الصحية الوقائية قبل وبعد عمليات الحلابة مثل غسل الضرع والحلمات وتغطيس الحلمات بالمعقم قبل وبعد الحلابة يؤدي إلى العديد من المشاكل الصحية (Sampimon *et al*., 2008).

لقد درست عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع وربطها بكثير من المتغيرات المتعلقة بالحيوان وبيئته ولقد لوحظ تداخل كبير في العوامل مع بعضها وكثرة العوامل المؤدية إلى حصول الالتهاب، ومن العوامل المؤثرة عمر الحيوان وسلالته والعناية به والتغذية وسلامة العاملين، وكذلك تشريح الضرع والحلمة ومدة الحلابة فضلاً عن العوامل البيئية المحيطة بالحيوان (Nelson and Stephen, 2003; Perrin *et al*., 1997; Mrode *et al*., 1998). ومع زيادة مدّة التجفيف كون إطالة مدة التجفيف تزيد من احتمالية تعرض الحيوانات لمسببات المرض، كما إن الأبقار التي تجفف بصورة تدريجية تكون أكثر عرضة للإصابة بالمرض من الأبقار التي تجفف بطريقة التوقف الكلي (Natzke, 1975).

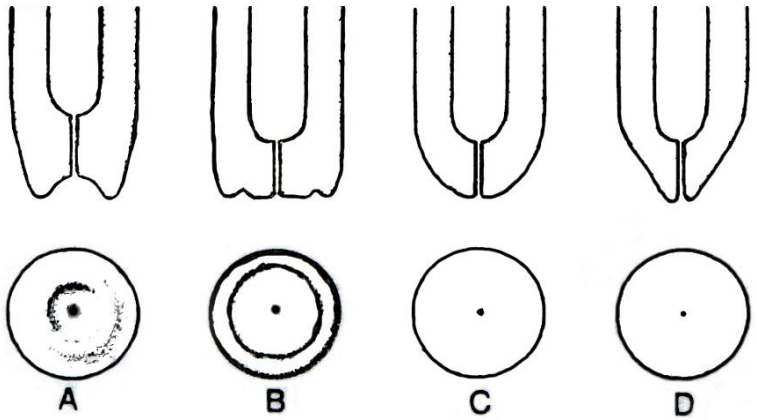
وقد لوحظ أن نسبة الإصابة بالأرباع الخلفية أكبر من نسبة إصابة الأرباع الأمامية (McDowell, 1994,; Philpot & Nickerson, 1999)، وقد وجد الباحثان (Kumar and Sharma, 2002) أن السبب في حساسية الأرباع الخلفية هو كثرة التعرض المباشر للأرض وكثرة إنتاج الحليب ، أو أن سبب كثرة إصابة الأرباع الخلفية هو كثرة التعرض للتلوث بالبول والروث (Bansal *et al*., 1995).

توصف سرعة جريان الحليب بأنها صفة وراثية تؤثر في حساسية البقرة للإصابة بالتهاب الضرع أو مقاومتها، وتعتمد سرعة تفريغ الحليب من الضرع إلى حد كبير على السهولة أو الدرجة التي يتم بها التغلب على مقاومة العضلة العاصرة، وإمكانية فتحها إلى سعتها القصوى (Philpot & Nickerson, 1999). إذ يؤدي تقدم العمر ومواسم الحلابة إلى ضعف العضلات العاصرة وبالتالي تسمح بتدفق الحليب قبل البدء بعملية الحلابة مما يعيق عمل العضلات العاصرة في منع الجراثيم من الدخول خلال فتحة الحلمة لذلك توصف الأبقار سهلة الحلابة بأنها أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع (عبد الكريم، 1986).

أما الحلابة غير التامة فتزيد فرصة حدوث التهاب الضرع ويوفر تآكل الحلمة وسطاً ملائماً لنمو الجراثيم والكائنات المجهرية الأخرى، فضلاً عن إمكانية نقل الجراثيم إلى الضرع غير المصاب من خلال أيدي الحلابين الملوثة أو من خلال بطانة كؤوس الحلمات (Azmi *et al*, 2008).

ويسهم شكل الحلمة في حدوث المرض فقد وجد (Shukla *et al*., 1997) أن نسبة إصابة الأبقار والجاموس بالتهاب الضرع عالية عندما يكون شكل الحلمة قمعياً Funnel-shaped إذ يؤدي إلى حصول احتباس في الحليب مما يسهل دخول الجراثيم وتكاثرها في الضرع ويسبب التهاب الضرع، كما أن الحلمات المدورة الشكل Rounded تكون حساسة للإصابة لأنها تتعرض للتلوث بالأحياء الدقيقة الموجودة في المحيط وكذلك الحلمات القصيرة أيضاً هي الأخرى حساسة للإصابة لأن قناة الحلمة تكون

قصيرة مما يسهل وصول المسببات المرضية الموجودة على الحلمة إلى داخل الضرع كما يوضح الشكل رقم (2–1).



A: قمعية الشكل، B: على شكل الطبق المقعر، C: مدورة ، D: مدببة

الشكل رقم (2–1) التركيب الشكلي الحلمات. (Dyce *et al*., 2002)

أما نسبة الإصابة حسب مدة الحلابة فقد لوحظ وجود اختلاف في نسب الإصابة حيث وجد (Chand *et al*., 1995) أن الفترة الممتدة من 1–40 يوماً من بدء موسم الحلابة تعد الأكثر خطورة في حصول الإصابة أما (Kumar and Sharma, 2002) فقد وجدا أن الأشهر الثلاثة الأولى هي الأكثر حساسية للإصابة بالتهاب الضرع.

كما وجد كل من (Patil *et al*., 1995) زيادة في الإصابة في نهاية موسم الحلابة وفي الحيوانات ذات الإنتاج العالي. وأشار الباحثون (Chand *et al*., 1995) إلى أن الإنتاج العالي للحليب هو أيضاً عامل مؤهل لحدوث الإصابة. واستنتجت دراسة (Badran, 1985) أن عدد مواسم الحلابة له علاقة بحدوث المرض قد وجد أن نسبة التهاب الضرع الإكلينيكي كانت أعلى في الموسم الأول والخامس وأقل في الموسم الثاني، كما وجد أن مدة اراحة الحيوانات من الحلابة لها تأثير قليل نوعاً ما في حصول الإصابة ولاسيما إذا تم معالجة الحيوان خلالها، واستنتج أيضاً ان نسبة الإصابة تزداد في الصيف في حين تشير معظم البحوث العلمية إلى زيادة نسبة الإصابة بالتهاب الضرع في موسم الأمطار والرطوبة

العالية والتيارات الهوائية في فصل الشتاء، وتعرض الضرع للبرد عند ملامسة الأرضية الباردة (الخشاب، Chand *et al.*, 1995,; 1998)

2-4- أشكال التهاب الضرع في الأبقار:

2-4-1- التهاب الضرع الإكلينيكي Clinical mastitis:

يحدث التهاب الضرع الإكلينيكي بنسبة 20-25 % بقرة في السنة حتى في القطعان ذات الإدارة الجيدة (Schukken *et al.*, 1989) ويتميز بتغيرات ملحوظة في كل من الضرع وتركيب الحليب مصحوباً بارتفاع أعداد الخلايا الجسمية، ومؤدياً إلى تحطيم الأنسجة المنتجة (الفارزة) للحليب وبالتالي قلة إنتاج الحليب والتي تتفاوت اعتماداً على عوامل عدة منها عمر البقرة وشدة الالتهاب (Perrin *et al.*, 1997; Jones, 1998) ويصنف المرض إلى الأشكال الآتية:

2-4-1-1- الشكل فوق الحاد Peracute form:

يتميز هذا الشكل من المرض بزيادة حجم الضرع واحمراره والألم الشديد مع سخونة الضرع عند الجس وارتفاع درجة حرارة الجسم التي قد تصل إلى 42 مْ وارتفاع معدلات النبض والتنفس وتضخم العقد اللمفية فوق الضرع Supramammary lymph node مع تغير قوام الحليب الذي قد يصبح مصلياً أو حاوياً على كميات من الليفين Fibrin أو القيح pus (Radostits *et al.*, 2000a).

2-4-1-2- الشكل الحاد Acute form:

يتميز بحدوث التهاب شديد بدون ظهور علامات جهازية (Radostits *et al.*, 2000a) وحدوث وذمة Odema في الضرع بسبب زيادة نفاذية الأوعية الدموية وتقلص خلايا البطانة Endothelium وتبدأ الخلايا البيض بالالتصاق بالبطانة (Sandholm *et al.*, 1995b) مع حدوث تغيرات في تركيب الحليب (Ahlner, 2004).

2-4-1-3- الشكل دون الحاد Subacute form:

يكون الالتهاب في هذا الشكل بسيطاً يرافقه تغير في تركيب الحليب إذ يظهر الحليب حاوياً على خثرات، وقد يكون الضرع متورماً أو مؤلماً عند جس الربع المصاب فقط (Radostits *et al.*, 2000a) وقد تحدث في هذا الطور هجرة الخلايا البيض العدلة واللمفية والحمضة والبلعمات الكبيرة إضافة إلى الخلايا الطلائية للضرع من الدورة الدموية إلى الربع المصاب (Sandholm *et al.*, 1995a).

2-4-1-4- الشكل المزمن Chronic form:

يتميز هذا الشكل بعدم وجود ألم أو علامات جهازية عامة وقساوة الضرع وتضخمها وحدوث تنكس Degeneration وإعادة تكوين النسيج الليفي للضرع (Sandholm *et al.*, 1995b) وقد تتحول الإصابة بعد مدة إلى إصابة حادة (Philpot & Nickerson, 1999).

2-4-2- التهاب الضرع دون الإكلينيكي Subclinical Mastitis:

هي حالة التهاب ضرع غير ظاهرة تتميز بعدم ظهور تغيرات ملحوظة على الضرع والحليب (Gianneechini, 2001) وتزيد نسبة حدوثه عن التهاب الضرع الإكلينيكي بثلاثين إلى أربعين ضعف (Bachaya *et al.*, 2011). ويبقى الحيوان المصاب مصدراً للعدوى مؤدياً إلى خسائر اقتصادية كبيرة ناجمة عن انخفاض إنتاج الحليب ونوعيته (Sumathi *et al.*, 2008). فضلاً عن خطورته على صحة الإنسان وخاصة الأطفال، إذ إن الضرع يبدو سليماً والحليب طبيعياً بالعين المجردة إلا أنه يحوي على الجراثيم وذيفاناتها مثل جراثيم المكورات العنقودية *Staph aureus* التي تسبب التسمم الغذائي وجراثيم البروسيلة *Brucella* التي تسبب الحمى المالطية وجراثيم المايكوبكتريم *Mycobacterium* ، وجراثيم السلمونيلة (Radostits *et al.*, 2000a).

يتميز التهاب الضرع دون الإكلينيكي بارتفاع نسب حدوث الإصابة به في القطر العربي السوري وفي بعض بلدان العالم فقد بلغت في دراسة (رشود، 2013) نسبة انتشار التهاب الضرع في المنطقة

الوسطى من سورية في منطقة الغاب 66% وفي منطقة السلمية 50% بينما كانت في منطقة الحولة 73% في حين كانت في منطقة ديربعلبة والمشرفة 80%. أما في ريف دمشق تم جمع 800 عينة من 200 رأس من الأبقار الخالية من أية أعراض مرضية تم تشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي في 65% من الأبقار المدروسة (المسالمة وحداد، 2020) وفي دراسة أجريت في محطة بحوث جدرين بلغت نسبة أنتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند النعاج العواس باستعمال اختبار تعداد الخلايا الجسمية واختبار كاليفورنيا 38.93% و35.24% على التوالي (العمر وأخرون، 2016) وفي دراسة أجريت على قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى تبين أن نسبة التهاب الضرع دون الإكلينيكي 68.1%(ناجي الرفاعي، 2010).

بينما كانت في الجزائر 55.1% (Benhamed *et al.*,2011) وفي دراسة أخرى في الجزائر 29.6%(Saidi *et al.*, 2013) وفي الأردن 31.4%(Hawari & Aldabbas, 2008) وفي غرب الاورغواي نسبة الإصابة 55% (Gianneechin, 2001) أما في مصر فكانت النسبة 28.39% (El-Sagheer *et al.*, 1992) وأجريت دراسة في الفيوم على 720 عينة أخذت من 180 بقرة حلوب كانت نسبة الإصابة 44.4% (Amany *et al.*, 1996).

وبلغت نسبة الإصابة بالسويد 60–90% (Ahlner, 2004) وفي كينيا 64% (Mureithi and Nguguna, 2016) وفي أوغندا 86.2% (Abrahmsen *et al.*, 2014) وفي فيتنام (Ostensson *et al.*, 2013) وفي أثيوبيا 59,2% (Abebe *et al.*, 2016) و بلغت في بنغلادش 51.3% (Rahman *et al.*, 2010) أما الباحثان (Kumar & Sharma, 2002) فقد أجريا دراسة على 253 عينة حليب من الأبقار والجاموس في الهند كانت نسبة الإصابة 66.27% و 59.86% على التوالي.

وفي دراسة أجراها (McDougall *et al.*, 2000) على 110 رأس من الماعز و 153 نعجة في الولايات المتحدة الأمريكية كانت نسبة الإصابة 27.30% و 15.00%، على التوالي. وفي فرنسا

أظهرت نتائج مسح استمرت لمدة شهرين على ستة حقول لتربية حيوانات الحليب (الماعز والأغنام) كانت نسبة الإصابة بالمرض تتراوح بين 45–50% (Bergonier *et al.*, 2003).

2–4–3– التهاب الضرع الغنغريني Gangrenous Mastitis:

هو نوع من أنواع التهاب الضرع الذي يتميز بازرقاق الضرع وبرودته عند الجس وإمكانية ملاحظة وجود علامات السمدمية Toxaemia كالانخفاض الشديد في درجة حرارة جسم الحيوان وضعف وهبوط في القوة الحيوية للحيوان إضافة إلى أخذه وضع الرقاد الكامل، وعند فحص الحليب يكون متجبناً مصحوباً بلون وردي أو احمر قانٍ (Radostits *et al.*, 2000a) .

2–5– تشخيص التهاب الضرع عند الأبقار:

يشخص التهاب الضرع الإكلينيكي من خلال العلامات الإكلينيكية الواضحة على الحيوان والضرع والحليب، في حين أن تشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي يتطلب إجراء اختبارات على الحليب لمعرفة وجوده. وهنالك كثير من الاختبارات التي تستخدم للكشف عن التهاب الضرع دون الإكلينيكي تتباين دقتها من نوع إلى آخر، هنالك اختبارات عدة للكشف عن التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار والمجترات الأخرى

(قصقوص، 2000،2006 ;Sol, 2002; Krömker, 2007) وهي:

1– اختبار كاليفورنيا لالتهاب الضرع California Mastitis Test (CMT).

2– اختبار وايت ساید المحور Modified White side test.

3– اختبار الكارت الحقلي Card filed test.

4– اختبار تحديد الاس الهيدروجيني pH-determination test.

5– اختبار تقدير الكلورايد Chloride Determination test.

6– اختبار الكاتلاز Catalase test.

7- اختبار عد الخلايا الجسمية Somatic cell count test.

8- الكشف عن انزيم ن استيل-بيتا-دي غلكوز امينيديز في الحليب Milk NAGase test (N-acetyl-B-D-glucosaminidase)

9- اختبار ELISA المباشر Direct ELISA test.

10- اختبار قياس الناقلية الكهربائية لحليب Electrical conductivity test.

11- اختبار تقدير تركيز الصوديوم والبوتاسيوم Concentration of sodium and potassium.

12- اختبار تقدير سكر الحليب Lactose determination test.

2-5-1- اختبار كاليفورنيا California Mastitis Test (CMT):

يعد من أفضل الاختبارات لتشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي نظراً لإنه من الاختبارات الدقيقة والحساسة ويستفاد منه في برامج السيطرة على المرض كإنذار Prognosis للقطيع لمعرفة أسباب المرض في وقت مبكر، ويمكن استخدامه للحالات الفردية (MDC, 2007).

يتلخص عمل هذا الاختبار بتفاعل الكاشف CMT reagent مع مادة في أنوية الخلايا الجسمية في الحليب ليكون هلام يتم من خلاله تقييم عدد الخلايا الجسمية الموجودة في الحليب. عندئذ يمكن تسجيل النتائج المشاهدة وتفسيرها اعتماداً على كمية الهلام المتكون (Klastrup & Schimidt, 1974) ويعكس CMT عدد الخلايا البيض ومتعددة أشكال الأنوية Polymorphonuclear cells في الحليب إذ يزداد تماسك الكاشف بزيادة عدد الخلايا (جدول رقم 2-1). ويستفاد منه أيضاً في تشخيص المرض في الحالات الفردية وفي ربع معين من أرباع الضرع (Radostits *et al.*, 2000a).

استخدم (Amany *et al.*,1996) في مصر اختبار CMT في الكشف عن المرض في (720) عينة حليب جمعت من 180 بقرة حلوب وكانت نسبة الإصابة فيها 44.4% بدرجة (+2) ، أما في كينيا فقد جمعت عينات من 250 بقرة كانت نسبة إصابتها 19.6% (Shitandi & Kihumbu, 2004) وفي استراليا يعد CMT أسرع اختباراً لتشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي (Raza, 2005).

يتأثر فحص CMT بعدة عوامل منها مرحلة إنتاج الحليب إذ ترتفع درجة CMT بتقدم مرحلة الحلابة وخاصة في المرحلة الثالثة من دورة إنتاج الحلابة بسبب الإجهاد الناتج عن ارتفاع الإنتاج (Perrin *et al.*, 1997; Mrode *et al.*, 1998) ، ويذكر أن لتسلسل الدورة الإنتاجية تأثيراً معنوياً في قيم CMT إذ تصل أقصاها في دورة الحليب الرابعة وأدناها في دورة الإنتاج الأولى (الأنباري، 2003) بسبب التقدم في العمر وارتفاع مستوى الإنتاج والتعرض لإجهاد إفراز الحليب لمدة طويلة وزيادة احتمال تعرض البقرة إلى الأمراض في حياتها الإنتاجية ولاسيما أن بعضاً من الأمراض تكون مزمنة لذا تبقى الخلايا البيض في النسيج الفارز لحليب بصورة مستمرة وأن الحيوان يهيئ جهازه المناعي تحسباً للإصابة مرة أخرى بهذه الإمراض (Hand *et al.*, 2012; David *et al.*, 1995) , وتعد نتيجة CMT المدعومة بنتيجة SCC افضل طرق التشخيص (Guha & Gera, 2011).

الجدول رقم 2-1: تقييم درجة اختبار كاليفورنيا (Leachk *et al.*, 2008)

نتيجة الإختبار	شكل العينة	العدد التقريبي للخلايا في 1مل
سلبي N	عدم تشكل هلام	أقل من 200.000
مشتبه به T	تجلط خفيف	500.000 – 200.000
إيجابي ضعيف +	هلام خفيف وتجلط خفيف	1500.000– 500.000
إيجابي واضح++	هلام وتجلط واضح	5000.000 – 1500.000
إيجابي شديد +++	هلام قوي وتجلط شديد	أكثر من 5000.000

2-5-2- اختبار قياس الأس الهيدروجيني pH في الحليب:

أشارت البحوث إلى أن حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع يكون قاعدي التفاعل فيما لو قورن بحليب الأبقار السليمة التي تتراوح قيم pH لها مابين 6.80-6.40 (Sandholm *et al.*, 1995a)، وقد يعود هذا الارتفاع في قيم pH إلى زيادة تركيز الأملاح في حليب الضرع الملتهب نتيجة

لزيادة نضوح مكونات الدم إلى الحليب فيصبح تركيز ايون الهيدروجين مقارباً لتركيزه في الدم ، وقد يسهم ارتفاع pH في زيادة فعالية الإنزيمات المحللة للدهن من خلال توفيره وسطاً قاعدياً مثالياً لعمل تلك الإنزيمات (Henna *et al.*, 2018).

يعطي اختبار pH نتائج موجبة كاذبة عندما يكون الحليب أكثر قاعدية في المدة الأخيرة من الرضاعة (Radostits *et al.*, 2000a) ويتأثر الأس الهيدروجيني بأشهر السنة إذ تبلغ أعلى معدلاته في حليب الأبقار في أشهر كانون الأول وكانون الثاني وأيلول (Shukri *et al.*, 1981).

2-5-3- تقدير مستوى سكر الحليب في الحليب:

يعد سكر اللاكتوز من أهم الكربوهيدرات الأساسية في الحليب. وهو سكر ثنائي مكون من اتحاد جزيئة غلكوز مع جزيئة غالاكتوز، ويصنع اللاكتوز في الضرع، حيث تستعمل الخلايا الافرازية في الضرع غلكوز الدم لتصنيع الغالاكتوز الذي يتحد فيما بعد مع الغلكوز لتصنيع اللاكتوز في الضرع، ويتم الحصول على الغلكوز في المجترات عن طريق تصنيعه من مصادر غير كربوهيدراتية بعملية Gluconeogenesis (Frandson *et al.*, 2003). تحصل العمليات التصنيعية لسكر اللاكتوز في جهاز غولجي للخلايا الإفرازية للغدة اللبنية ثم يتم حجزه في أوعية الغدد الإفرازية (Ebner & Schaubacher, 1974).

أما عند الإصابة بالتهاب الضرع فيحدث تليف في أنسجة الغدة وتنخفض قابلية أنزيمات خلاياها الإفرازية مما ينعكس على إنتاج اللاكتوز المتوافر في الضرع لاضطراب التوازن الاستقلابي أثناء الإصابة بالتهاب الضرع لذا تترافق الإصابة عادة مع انخفاض اللاكتوز وتصل نسبته إلى 4.4% في حين ان النسبة الطبيعية للاكتوز في حليب الأبقار السليمة هي 4.85% (Kitchen, 1981). كما يحتوي اللبأ على نسبة قليلة من اللاكتوز، وترتفع هذه النسبة بعد بداية مرحلة الإنتاج (شمدت، 1982).

2-5-4- اختبار العد المجهري للخلايا الجسمية SCC:

يعد اختبار تعداد الخلايا الجسمية Somatic cells في الحليب من الأعمال الروتينية المنفذة في البلدان المتطورة ضمن برامج مراقبة إنتاج الحليب وجودته للكشف عن سلامة الحليب الناتج ومراقبة جودته (قصقوص، 2000، Krömker, 2007)، إذ أن الخلايا الجسمية Somatic cell هي خلايا يطلقها الجسم وتختلط بالحليب وتخرج من خلال القنوات الحليبية خلايا ظهارية (Philpot & Pankey, 1973) مؤدياً إلى زيادة تعدادها في الحليب خاصة في بداية الحلابة ونهايته إذ تهدم الخلايا الطلائية وتبنى من جديد كجزء من الوظيفة الطبيعية في الجسم أما الخلايا البيض فيزداد عددها في الحليب عند حدوث إصابة مرضية في الضرع، إذ تعد وسيلة دفاعية ضد المسببات المرضية (Philpot & Nickerson, 1999)

ولعل من أهم الخلايا الجسمية في الحليب هي من نوع الخلايا البلعمية الكبيرة Macrophages والخلايا اللمفية Lymphocytes والعدلات Neutrophiles والخلايا القاعدية Basophile (Silva *et al.*,2018) وتختلف نسب الخلايا الجسمية في حليب الأبقار السليمة عنها في حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي (Kelly *et al.*, 2000)، كما تختلف نسب الخلايا الجسمية باختلاف نوع الحيوان، وتتواجد الخلايا الجسمية بشكل طبيعي في الحليب إلا أن زيادتها عن الحد المسموح به يعني خللاً في النسيج المتني للضرع مما يؤثر في عملية إفراز الحليب وإنتاجه (Jones, 2004).

تتأثر أعداد الخلايا الجسمية في الحليب بعدة عوامل، فالمجموعة الوراثية (السلالة) تؤثر معنوياً في أعداد الخلايا الجسمية وذلك من خلال تباين التراكيب الوراثية الذي يؤدي إلى الاختلاف في القدرة على مقاومة الإجهاد الناتج من التأثيرات البيئية وإدارة الحيوان (الجاف، 2004).

تتناسب أعداد الخلايا الجسمية طردياً مع عمر الحيوان وتسلسل الولادة (Hand *et al.*,2012) . وقد وجد (Afifi, 1973) أن عدد خلايا كريات الدم البيض في الحليب يزداد بتقدم العمر وأن البكاكير

تحوي أقل عدد من تلك الخلايا وبشكل معنوي مقارنة مع الأبقار في الدورة الإنتاجية الثالثة وأن تعدادها في حليب الأمهات بعمر 7 سنوات فأكثر كان أكثر بالمقارنة مع قريناتها الأصغر عمراً والأقل تسلسلاً في الولادات (الجنابي، 2002 ; Jones, 2004). هذا وبينت بعض الدراسات وجود علاقة وثيقة ما بين قيم الخلايا الجسمية في الحليب ونوعية الحليب الناتج والجدولان التاليان (2-2) و(2-3) يظهران ذلك بوضوح.

جدول رقم (2-2) متوسط تركيز المركبات البروتينية في الحليب (ملغ/100 مل حليب) وعلاقتها بتعداد الخلايا الجسمية (Feagan, 1979).

البروتينات	عدد الخلايا الجسمية/مل $x10^3$		
	250>	1000-500	1000<
البروتين الكامل	3610	3590	3560
الكازئين	2790	2650	2250
بروتينات مصل الحليب	820	1100	1310
ألفا – س1 كازئين	1330	1090	890
بيتا – كازئين	1000	920	650
كا – كازئين	160	200	190
بيتا- لاكتوغلوبين	250	310	220
ألفا – لاكتا ألبومين	280	300	230
سيروم ألبومين	150	230	350
بروتينات المناعة	140	260	510

جدول رقم (2-3) تأثير التهاب الضرع في محتوى الحليب من العناصر المعدنية (ملغ/100 مل حليب)(Feagan, 1979).

العنصر المعدني	بلازما الدم	حليب من ضرع سليم	حليب من ضرع مصاب
Na^{+}	340.0	43.6	60.3
Cl^{-}	350.0	91.0	147.0
K^{+}	30.0	172.9	157.3
Ca^{++}	9.0	129.8	124.3
P^{++}	4.5	69.5	64.2
Mg^{++}	2.2	12.1	12.8

ومن الجدير بالذكر، تعد الطريقة المستخدمة للجهاز المسمى Fussomatic instrument من الطرق العلمية المستخدمة لقياس تركيز SCC في الحليب إذ يمكن تقدير 500 عينة حليب في الساعة فضلاً عن إمكانية تقدير نسبة البروتين واللاكتوز والدهن في ذات العينة لكل مللتر من الحليب (Ahlner, 2004).

2-5-5- اختبار وايت سايد المعدل Modified white side test:

كان (White side, 1939) أول من توصل إلى طريقة سريعة للكشف عن التهاب الضرع، أما (Murphy & Hansen, 1941) فقد كانا أول من طور هذا الاختبار. ويعتمد أساس الاختبار على ترسيب الخلايا البيض باستخدام هيدروكسيد الصوديوم. إذ أن درجة الترسب تتناسب طردياً مع شدة الإصابة بمرض التهاب الضرع، إذ يترسب الحليب الناتج من البقرة المصابة. أما الحليب الطبيعي فلا يترسب كما وصف اختبار وايت ساید بأنه تقنية سريعة وبسيطة غير مكلفة (Coles, 1989)، وأشار

إلى أن هذا الاختبار ذو كفاءة عالية في تشخيص حالات التهاب الضرع دون الإكلينيكي، ووجد إن درجة توافقه بلغت 89.2% مع نتائج الفحوصات الجرثومية، ولكن عند مقارنة نتائج هذا الاختبار مع نتائج اختبار كاليفورنيا ومقارنة نتائج هذين الاختبارين مع نتائج الفحوصات الجرثومية، وجد إن اختبار وايت ساید أقل كفاءة من اختبار كاليفورنيا في تشخيص حالات التهاب الضرع دون الإكلينيكي (Cho & Cheong, 1970) .

2-5-6- اختبار الكلوريد:

أشارت الدراسات إلى زيادة نسبة الكلوريد في حليب الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع، إذ يؤدي الالتهاب إلى هجرة الخلايا البيض من الدم إلى الضرع لمهاجمة المسبب المرضي وهذا يؤثر في الخلايا المفرزة وحصول زيادة في نفاذية أغشية خلايا الغدة، وبالتالي يؤدي إلى زيادة انسياب مكونات بلازما الدم من الشوارد كالصوديوم والكلوريد إلى الحليب ونتيجة لإحلال هذه المواد محل الحليب في قنوات وصهاريج الغدة ستمتلئ قنوات الحليب بخثرات وجلطات الحليب مما ينعكس سلباً في إنتاج الحليب (Schallibaum, 2001) .

يحتوي الحليب الطبيعي على كلوريد بنسبة 0.08-0.14% وعند زيادة هذه النسبة يعد دليلاً على وجود دم في الحليب إذ يحتوي الدم على كميات عالية من الكلوريد تفوق ما يحويه الحليب (عبود وآخرون، 1999)، إن تواجد الكلوريد بمقدار 0.14% أو أكثر يعد دليلاً على الإصابة بالتهاب الضرع إلا أن الاختبار يعطي نتائج موجبة كاذبة أثناء فترتي بدء موسم الحليب وانقطاعها وذلك لزيادة نسبة الكلوريد فسيولوجياً في هاتين الفترتين (Coles, 1989).

2-5-7- اختبار مستوى البوتاسيوم والصوديوم:

يحوي حليب الحيوانات السليمة على كميات ثابتة من سكر الحليب والصوديوم والبوتاسيوم والكلور وتعد ثبوتية هذه الكميات بمثابة ميزة خاصة بالحيوان الوأحد وضمن السلالة الوأحدة (شمدت،

(Zadnik *et al.*, 2001; 1982) . من جانب آخر هنالك علاقة عكسية بين محتوى الحليب من اللاكتوز والمجموع الجزيئي لمحتويات الحليب من الصوديوم والبوتاسيوم، وعليه فإن الإصابة بالتهاب الضرع وحدوث تغير في نفاذية الأغشية والتوازن النفاذي يتسبب في انخفاض مستوى اللاكتوز والبوتاسيوم مع ارتفاع تركيز الصوديوم (Zadnik *et al.*, 2001).

2-6- الفترة الانتقالية والأمراض الاستقلابية:

إن الفترة الانتقالية هي الأكثر أهمية بالنسبة للأبقار الحلوب وتستمر 21 يوماً قبل الولادة و21 يوماً بعدها وخلال هذه الفترة تمر الأبقار بالعديد من التغيرات الهرمونية والاستقلابية المتعلقة بنهاية الحمل وبداية الرضاعة، وتعاني مما يقارب 50% من الأبقار من اضطرابات استقلابية وتغذوية مختلفة خلال هذه الفترة (Çolakoğlu *et al.*,2019) . أما الأمراض الاستقلابية فهي تلك الأمراض الناتجة عن التوازن السلبي للطاقة والعناصر المعدنية Negative energy balance (NEB) أو بمعنى آخر عدم التوازن بين الطاقة المأخوذة من الغذاء المتناول وطاقة الإنتاج وتعرف أيضاً بأمراض الإنتاج وتكون قمة حدوث هذه الأمراض في الفترة الانتقالية للأبقار (Deniz *et al.*, 2020).

قد تواجه الأبقار انخفاضاً في تناول المادة الجافة خلال الفترة الانتقالية، مما يؤدي عموماً إلى توازن طاقة سلبي قبل أو بعد الولادة والذي يؤثر بشكل مباشر في حالة التمثيل الغذائي لدى الأبقار، كما إن نقص الطاقة في الفترة الانتقالية قد يؤدي إلى تعبئة الدهون وما يترتب على ذلك من زيادة في الأحماض الدهنية غير المؤسترة في الدم والتي قد تكون سامة للجسم عند التراكيز المفرطة (Sharif *et al.*, 2017).

يرتبط حدوث الأمراض الاستقلابية بالتغير الشديد للسوائل والأملاح والمواد العضوية أثناء المرحلة الأولى من مراحل ادرار الحليب، إذ يحدث تغيراً مفاجئاً في معدل تبادل الماء والأيونات كالصوديوم والكالسيوم والمغنسيوم والكلوريد بسبب التغيرات في نوعية الغذاء والهضم والامتصاص

(Radostits *et al.*, 2000b). وعند استمرار عدم التوازن سوف تحدث تغيراً في كميات خزائن الجسم من بعض المستقلبات Metaboli عن المستويات الحرجة Critical levels مؤدياً بذلك إلى حدوث المرض (Thiruvengadam *et al.*, 2019). إن العنصر الضروري الأساسي الذي يهبط إلى أقل من المستوى الحرج هو الذي يحدد الحالة المرضية التي ستحدث، حيث يؤدي هبوط مستوى الكالسيوم عن المستوى الحرج إلى حدوث خزل الولادة Parturient Paresis (حمى الحليب Milk fever) (Roy *et al.*,2007) إذ يحدث خزل الولادة الإكلينيكي بنسبة 5–10% في قطعان الأبقار وبنسبة أكبر عند الابقار ذات الإنتاج العالي عند الولادة أو بعدها بفترة قصيرة (Hutjens, 2003) أما خزل الولادة دون الإكلينيكي بنسبة 33 – 50% (Constable *et al.*,2017). إذ يحدث بسبب فقدان كميات كبيرة من الكالسيوم في اللبأ بحيث يكون تحريك الكالسيوم من خزائنه في الهيكل العظمي غير كافٍ للمحافظة على مستواه الطبيعي في مصل الدم (Biswal *et al.*, 2006; Simonov &Volizlo, 2014).

يؤدي انخفاض مستوى الكالسيوم إلى حدوث حماض استقلابي Metabolic Acidosis تحفز عمل هرمون جار الدرقية Parathyroid hormone; PTH لأداء دوره في المحافظة على مستوى أيون الكالسيوم (Hutjens, 2003). ونظراً لأهمية أيون الكالسيوم في المحافظة على الشد العضلي فإن الإصابة بحمى الحليب (الخزل الولادي) تتميز بالوهن العضلي والخزل العام فضلاً عن العلامات الأخرى كبرودة الأطراف والجلد وقلة إنتاج الحليب (Radostits *et al.*, 2000b).

أما النقص الحاد في مستوى أيونات المغنسيوم في الدم، ابتداءً من الأسبوع الأول بعد الولادة فيؤدي إلى حدوث مرض تكزز العشب Grass tetany أو Hypomagnesemia بسبب قلة قابلية الحيوانات على الاستفادة من خزين المغنسيوم في الجسم، وعليه تحتاج الأبقار إلى تناول كميات ثابتة من المغنسيوم في الغذاء للمحافظة على مستويات مغنسيوم الدم (Lucey *et al.*, 1998). يتميز الشكل الحاد من المرض بعلامات عصبية واختلاجات، في حين يؤدي الشكل المزمن أو الخفيف من المرض إلى انخفاض إنتاج الحليب (Grohn, 2000)، فيما يؤدي انخفاض مستويات كل من الغلكوز

وغليكوجين الكبد إلى رفع مستوى الأسيتون في الدم أو ما يسمى بخلونية الدم Acetonemia .

(Gustafsson *et al.*, 1993 ; Cook *et al.*, 2001).

تترافق الأمراض الاستقلابية عادة مع أمراض أخرى قد تؤدي إلى تعقيد الإصابة الأولية وبصورة عامة فإن هناك علاقة موجبة بين حدوث الأمراض الاستقلابية في الفترة الانتقالية مع بعضها حيث تزيد نسبة الإصابة بحمى الحليب الإصابة بأمراض أخرى كانزياح المنفحة Displaced abomasums واحتباس المشيمة Retained placenta والتهاب الرحم Metritis وزيادة فرصة الإصابة بالكيتوزس عند نقص كالسيوم الدم (Itoth *et al.*, 1998; Rohrbach *et al.*, 1999; Leblanc *et al.*, 2004) فضلاً عن تأثير العوامل البيئية كالإدارة وآلية الحلابة وأماكن إيواء الحيوانات والاجهاد الحراري والرطوبة (Ruegg, 2001) والتغذية إذ تزداد نسبة حدوث حمى الحليب عندما يقل تناول المادة الجافة (Hutjens, 2003).

تتأثر نسبة الإصابة بالأمراض الاستقلابية بالحالة المناعية للجسم، فمن المحتمل أن تكون إصابة الضرع في الحيوانات ذات الجهاز المناعي القوي قليلة، بينما يعد التثبيط المناعي Immunosuppression الذي يحدث بعد الولادة عاملاً مهيئاً لإصابة الأبقار بالتهاب الضرع والأمراض المعدية الأخرى، إذ يعمل الضرع والقناة الهضمية للأبقار على إيواء الجراثيم لمدة طويلة دون ظهور العلامات الإكلينيكية للمرض، ثم تبدأ ثورة المرض بعد مدة قصيرة من الولادة ولا سيما التهاب الضرع (Uyarlar *et al.*, 2018).

2-7- الكيتوزس Ketosis:

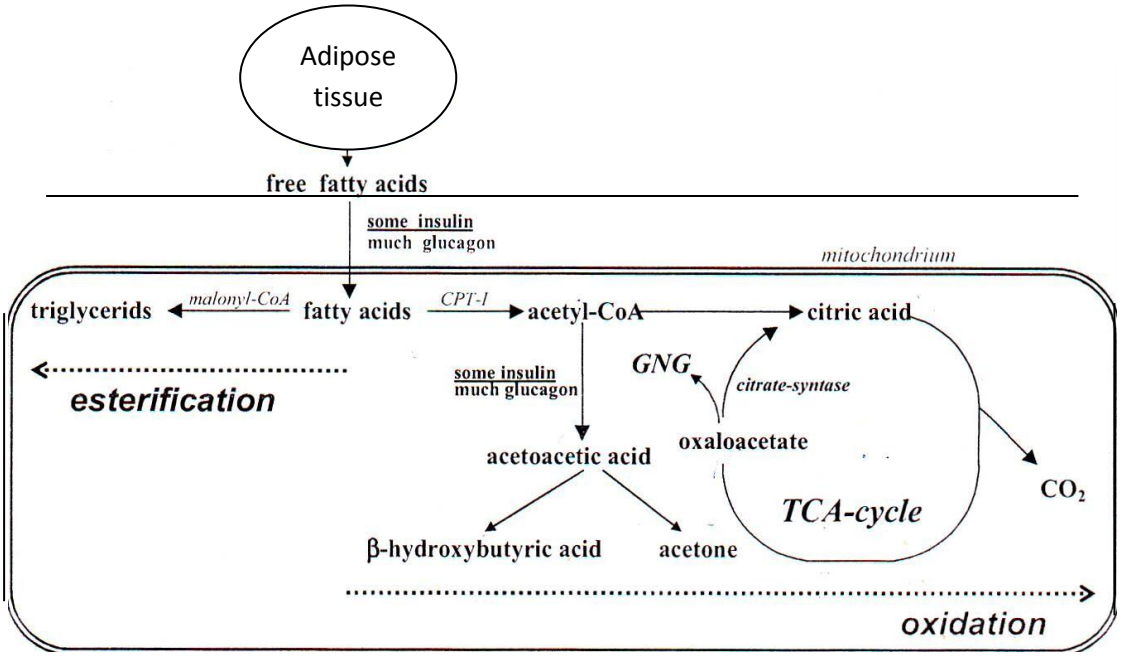
يُعرَّف الكيتوزس Ketosis على أنه أحد الأمراض الاستقلابية ويندرج تحت الأمراض الإنتاجية، والأمراض المرتبطة بالتغذية شائعة الانتشار بين قطعان الأبقار وخاصة الأبقار ذات الإنتاج العالي من الحليب، ويحتل المرتبة الأولى بين أمراض الأبقار الحلوب حيث إن هذه الأمراض تؤثر سلباً بشكل مباشر أو غير مباشر في ربحية مزارع الأبقار من خلال الخسائر الاقتصادية الناجمة عن هذه الامراض

(Jezek *et al.*, 2017; Brunner *et al.*, 2019) وينتج الكيتوزس عن عوز الطاقة في العليقة وبالتالي اضطراب استقلاب الكربوهيدرات والدهون ويتميز بزيادة الأجسام الكيتونية في الدم كالأسيتون Acetone; Ac والاسيتواسيتات Acetoacetate; AcAc وحمض بيتاهيدروكسي بيوتريك β-hydroxy butyric acid; βHBA عن مستوياتها الطبيعية التي تبلغ 2% و28% و70% على التوالي (Dar *et al.*,2014). و بصورة عامة تكون تراكيز الأجسام الكيتونية في بلازما دم الحيوانات المجترة أعلى مما هو عليه في الحيوانات وحيدة المعدة بسبب النواتج النهائية لأيض الكربوهيدرات وأهمها BHBA الذي ينتج عن الهضم الميكروبي في ظهارة الكرش وتبقى هذه التراكيز مرتفعة في المجترات التي تعاني من الكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي (Samiei *et al.*, 2010). ويطلق مصطلح خلونية الدم Acetonemia عند ارتفاع تركيز الأجسام الكيتونية في الدم أو Ketonemia أما ظهورها في الحليب فيسمى Ketolactia أو ظهورها في البول بيلة كيتونية Ketonurea (Tadesse, 2019 ; Deniz *et al.*, 2020).

تنجم الزيادة في الأجسام الكيتونية خلال فترة الرضاعة عن نقص الطاقة المتناولة من العليقة عن المستوى الطبيعي المطلوب للحفاظ على أنسجة الجسم وإنتاج الحليب، لذا تقوم الأبقار ذات الصحة الجيدة بتعبئة احتياطي من مستودعاتها نحو الكبد لإنتاج الطاقة، ونتيجة للاستمرار بهذا التوازن السلبي للطاقة سيكون تعويض الطاقة من تمثيل الأحماض الدهنية المتزايد الذي ينتج عنه تراكم نواتج أيضية تتجمع في الخلايا الكبدية على شكل غليسريدات ثلاثية Triglycerides فيما يتحول قسم أخر إلى أجسام كيتونية متزامناً مع انخفاض في تركيز غلوكوز الدم، ويرتفع تركيز البيتا هيدروكسي بوترات في الدم إلى أعلى من 1200 – 1400 ميكروليتر/ ليتر وهو معيار شائع يستخدم لتشخيص حالة الكيتوزس (Senthilkumar *et al.*, 2015) . وقد يكون الكيتوزس أولياً عندما يكون المسبب لحدوثه اضطراب عملية الهضم أو الأيض نتيجة لنقص سكر الغلكوز المتاح available glucose بينما تؤدي زيادة الطلب على مصادر الطاقة، خصوصاً في المدة الأخيرة من الحمل والمرحلة الأولى من الرضاعة (الفترة الانتقالية)، إلى تحريك الدهون من مخازنها مؤدية بذلك إلى زيادة عملية تصنيع الغلكوز في الكبد من

مصادر غير كربوهيدراتية (Tadesse, 2019) و بدلاً من الاعتماد على Propionic acid مصدراً لتجهيز الغلكوز يكون المصدر البديل استحاث الغلكوز هو (gluconeogenesis) من مصادر غير كربوهيدراتية كالأحماض الدهنية و والغليسيريدات الثلاثية، إلا إن هذا المصدر يؤدي إلى زيادة الطلب على خلات الاوكزالات Oxaloacetate الذي يعد العامل لاستكمال مسار دورة الحمض ثلاثي الكاربوكسيل Tricarboxylic acid cycle; TCA الذي يتواجد بتركيز عالٍ في الحليب أثناء المدة من 6–10 أسابيع بعد الولادة ليشترك بصورة رئيسة في الدورة (Illek *et al.*, 1997) .

أما العامل الآخر المهم في الدورة فهو حمض الليمون Citric Acid; CA الذي ينظم أيض Acetyle CoA في متقدرات الخلايا الكبدية وقد أثبتت العديد من البحوث أن تركيز CA يكون عالياً في المرحلة المبكرة من الرضاعة من 10–20 يوماً من الولادة إلا انه يقل تدريجياً مع تقدم مرحلة الرضاعة (Khaled *et al.*, 1999; Illek *et al.*, 1997)، لذا تكون فعالية TCA قليلة في هذه المرحلة، وطالما أن خلات الأوكزالات هي العامل الرئيس لتكوين الأجسام الكيتونية Kb وحمض الليمون بوجود Acetyl CoA لذا فان قلة خلات الأوكزالات تفسر حدوث قلة تراكيز CA وزيادة مستويات Kb معاً في الوقت ذاته (Illek *et al.*, 1997; Souci *et al.*, 1994)، وبالإمكان توضيح العلاقة بين دورة TCA وتكوين الأجسام الكيتونية في الشكل الآتي (Holtenius & Holtenius, 1996) الشكل رقم (2–2).



TCA=Tri Carboxylic Acid

CPT-1=Carnitine-PalmitoilTransferase-1

GNG=Gluconeogenesis

الشكل (2-2): العلاقة بين دورة TCA وتكوين الأجسام الكيتونية

(Holtenius & Holtenius, 1996**)**

وقد يكون سبب الكيتوزس ثانوياً عندما يصاب الحيوان بأمراض أخرى تهيئ للإصابة كتعرض الحيوان للإصابة بالتهاب الرحم Metritis (Radostits *et al.*, 2000b) أو التهاب الضرع Mastitis أو انزياح المنفحة Abomasal displacement (Oltenacu & Ekeesbo, 1994) أو التهاب البريتون Peritonitis (Goff & Horst, 1997).

2-8- تصنيف المرض:

إن العديد من الباحثين صنفوا الكيتوزس إلى شكلين حسب تركيز البيتا هيدروكسي بوترات ووجود العلامات الإكلينيكية للمرض إلى:

2-8-1- الكيتوزس الإكلينيكي Clinical ketosis CK

وهو الشكل الأكثر وضوحاً للمرض، إذ يمكن تمييز الاضطرابات الوظيفية المرتبطة بالمرض بسهولة من خلال العلامات الإكلينيكية التي تظهر على الأبقار المصابة والمتضمنة نوعين من العلامات بعضها عصبية والأخرى تتعلق بفقدان وزن الجسم (Gordon *et al.*, 2013) .

يكون الشكل العصبي Nervous form أقل شيوعاً ويتميز بظهور علامات عصبية كالمشي بشكل دائرة وتباعد القوائم عن بعضها وخاصة الأمامية أو تقاطعها، والعمى الظاهري، والحركة بدون هدف، واللحس القوي للجلد، وحركات المضغ القوية، وتحدث العلامات العصبية هذه بشكل نوبات قصيرة Episodes تستمر لمدة ساعة أو ساعتين ثم يعاد ظهورها في المدة بين 8-12 ساعة ويعتقد بان العلامات العصبية المصاحبة للكيتوزس بسبب إنتاج كحول الايزوبروبيل Isopropyl والناتج من تحلل حمض Acetoacetate في كرش الأبقار (Constable *et al.*, 2017).

أما النوع الثاني هو الشكل الهضمي الذي يتميز بفقدان الوزن Wasting form الذي يتميز بالعلامات الجهازية العامة كالإسهال وفقدان الوزن وفقدان معتدل وتدريجي للشهية وانخفاض إنتاج الحليب خلال يومين إلى أربعة أيام والرفض الكلي أو الجزئي لأكل العلف المركز وعلى الرغم من استمرارها في تناول الأعلاف المالئة كالتبن Hay (القش Straw) وبعد مدّة تصبح خاملة ويتوقف الاجترار عملياً ويصبح الروث جافاً وصلباً مع ظهور رائحة الأسيتون من خلال التنفس والحليب. ونتيجة لفقدان الوزن وقلة الحليب يؤدي المرض إلى خسائر اقتصادية في قطعان أبقار الحليب. (Ruegg, 2001; Constable *et al.*, 2017; Ghanem *et al.*, 2017)

ويؤثر الكيتوزس كذلك في الكفاءة التناسلية إذ يلاحظ طول المدة من الولادة إلى أول حمل بشكل معنوي في الأبقار المصابة بالكيتوزس فضلاً عن زيادة معدلات الاستبعاد بسبب الفشل في الإخصاب (Cook *et al.*, 2001) إلى جانب ما يسببه المرض من ضعف المناعة (Sartorelli *et al.*, 2000).

2-8-2- الكيتوزس دون الإكلينيكي SCK Subclinical ketosis

يمثل الكيتوزس دون الإكلينيكي الشكل الأكثر شيوعاً وأهمية مرض الكيتوزس ويحدث بنسبة 40-50% في معظم قطعان الأبقار الحلوب (Duffield, 2000, 2003) ويتميز هذا الشكل بصعوبة الكشف عن الاضطرابات الوظيفية المرافقة له، إلا عن طريق الاختبارات التشخيصية المخبرية (Ruegg, 2001) إذ يتصف هذا الشكل من المرض بارتفاع مستوى الأجسام الكيتونية في سوائل الجسم بغياب العلامات الإكلينيكية وتبدأ خطورته في الشهرين الأولين من الرضاعة إلا أن قمة حدوثه تحصل أثناء الشهر الأول منها أو خلال الأسبوعين الأولين من الرضاعة (McArt *et al.*,2015).

يعد تطور حالة الكيتوزس دون الإكلينيكي قبل الولادة غير اعتيادي لأن سبب ظهورها في تلك المدة يعتمد على السيطرة المنسقة لتنظيم العمليات الاستقلابية لتلبية حاجة فيزيولوجية معينة من الاستتباب Homeorhesis أثناء التمهيد لإنتاج الحليب. وقد تحصل هذه الحالة عند بعض الأبقار التي تعاني عجزاً في إنتاج الطاقة قبل الولادة فتقوم بتحريك احتياطي الطاقة في أجسامها أثناء الأسبوع الأخير من مدة الحمل (Duffuield, 2003).

وجد (Brunner et al., 2019) في دراسة أجراها في 12 بلد حول العالم أن نسبة حدوث SCK في روسيا 14.1%، اوكرانيا 39%، الصين32.9%، تايلند 24.1%، المكسيك 14,1%، كولومبيا 8.3%، البرازيل 10.7%، جنوب أفريقيا 17%، الأرجنتين18.8%، استراليا 9.6%، نيوزيلاندا40.1% وتشيلي 14.8% في الفترة الأولى من الرضاعة، وفي الهند 23.5% (Mohammed *et al.*,2019) . وفي صربيا 19.5%(Suthar *et al.*,2013).

وفي دراسة (Voyvoda & Erdogan, 2010) في تركيا بلغ نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 33.3%، ووجد (Sentürk *et al.*, 2016) في تركيا أن نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 22.3%، كما وجد (Vince *et al.*, 2017) في كرواتيا أن نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 15.8%، ووجد (Berge and Vertenten, 2014) في كل من ألمانيا و هولندا وفرنسا أن نسبة

انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 43% ، 46% ، 53% على التوالي، في حين وجد (Al-Gorabi *et al.*, 2010) أن نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي في العراق بلغ 59% حسب اختبار Roos test و65% حسب اختبار Rothera test كما وجد (Mohammed &Mohsin, 2013) في العراق في محافظة البصرة 97%.

تكون الأغنام أكثر استعداداً للإصابة من الأبقار، وبصورة عامة تكون الإناث أكثر حساسية للمرض من الذكور في مختلف الفصائل طالما أنها تكون عرضة للإجهاد أثناء المدة الأخيرة من الحمل والمرحلة الأولى من الرضاعة الذي يزيد من فرصة حدوث المرض لديها (Swenson & Reece, 1993).

تؤدي الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي SCK إلى خفض معدلات إنتاج الحليب للأبقار المصابة بمعدل 1–4 لترات يومياً (Duffield *et al.*, 1997) مقترناً بزيادة نسبة الدهون في الحليب، بسبب وجود زيادة في تركيز βHBA والأحماض الدهنية اللازمة لتصنيع دهن الحليب (Miettene, 1994) وانخفاض نسبة البروتين وبالتالي قلة الطاقة، إذ أن نسبة بروتين الحليب تتناسب طردياً مع توازن الطاقة الصافي Net Energy Balance (Duffield, 2003).

2-9- عوامل الخطورة للإصابة بالكيتوزس:

يصيب هذا المرض الأبقار الحلوب عالية الإنتاج بعد الولادة في مختلف الأعمار، ولا سيما في الحمل الثالث حتى السادس حيث قمة الإنتاج، وتعد الأبقار المرباة في الحظائر والمغذاة على الأعلاف المركزة الغنية البروتين والفقيرة بالطاقة أكثر استعداداً للإصابة بالكيتوزس من الأبقار الطليقة، إضافة إلى أن الأبقار المرباة في الحظائر تكون حركتها محدودة مقارنة بالأبقار الطليقة في المراعي، مما يؤدي إلى عدم استهلاك الأجسام الكيتونية كمصدر للطاقة وتراكمها في الدم وظهورها في البول، ومع هذا فقد شوهدت حالات قليلة من هذا المرض بين الأبقار الطليقة في المراعي، وكذلك أيضاً فإن السمنة المفرطة

Obesity تؤدي دوراً في حدوث المرض (طباع ونيشكاوا، 2002)، وتشكل نسبة الإصابة وفق عدد الأيام بعد الولادة كما يلي في الجدول رقم 2-4:

الجدول رقم(2-4): نسبة الإصابة وفق عدد الأيام بعد الولادة (طباع ونيشكاوا، 2002)

عدد الأيام بعد الولادة (يوم)	نسبة الإصابة
7-1	%18
14-8	%42
21-15	%20
28-22	%13
42-29	%5

يرتبط معدل انتشار الكيتوزس ارتباطاً وثيقاً بالنظام الغذائي وإدارة المزرعة، إذ أنه مرض استقلابي شائع ومهم في الأبقار عالية الأنتاج وتحدث عادة في أول 60 يوم بعد الولادة (Zhang *et al.*, 2012). كما أشارت العديد من الدراسات أن فترة الرضاعة الأولى وخصوصاً الأسابيع الثلاث الأولى بعد الولادة هي الأكثر خطراً في حدوث المرض (Oetzel, 2004).

ومن المعروف أن نسبة انتشار الكيتوزس مرتبط بشكل كبير بسلالات الماشية حيث تكون أعلى في الأبقار المستوردة النقية/الهجينة من النقية الأصلية، وكذلك في الحيوانات ذات الأمكانات الوراثية العالية، حيث أن هذه الحيوانات غير قادرة على تحمل الضغوط الناتجة عن المتطلبات الغذائية العالية الناتجة عن إنتاج الحليب، والتي تؤدي في النهاية إلى تطور نقص سكر الدم عند الحيوان (Thirunavukkarasu *et al.*, 2010).

كما أشار الباحثون (Vince *et al.*, 2017) في دراستهم إلى أن للأبقار متعددة الولادات فرصة أكبر 1.41 مرة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي من الأبقار الوالدة لمرة وأحدة. وأشار الباحثون (Berge and Vertenten., 2014) في دراستهم إلى أن انتشار الكيتوزس قد يختلف من بلد إلى آخر إذ بلغ معدل انتشار فرط كيتون الجسم على مستوى القطيع أدنى مستوى في المملكة المتحدة وإيطاليا 30% وفي ألمانيا 43% وفي هولندا 46% وفي فرنسا 53%، وفي البلدان الخمسة كان متوسط انتشار الكيتوزس في الأبقار الوالدة من أسبوع إلى ثلاثة أسابيع بعد الولادة 41%، بينما تم تشخيص 1.6% فقط من الأبقار مصابة بالكيتوزس بعد 35 يوم من الولادة، كما لاحظا أن الأبقار التي ولدت في الفترة من كانون الثاني إلى آذار معرضة لخطر الإصابة بالكيتوزس 1.5 مرة مقارنة بالأبقار التي ولدت في تموز إلى أيلول. بينما ذكر الباحثون (Asrat *et al.*, 2013) من خلال فحص 151 بقرة والدة حديثاً في أثيوبيا أن 11.26% مصابة بالكيتوزس، وقد تم تسجيل أعلى معدل انتشار في شهر كانون الثاني 30.7% ويليه تشرين الثاني 18.1%، شباط 7.5%، آذار 5% وكانون الأول 4.7%. كما أشاروا إلى أن غالبية الإصابات بالكيتوزس تحدث في فصل الشتاء وعزي ذلك إلى أنه عادة يتم إيواء الحيوانات في فصل الشتاء وعدم خروجها إلى المراعي. كما سجل الباحثون أعلى نسبة حدوث للكيتوزس حسب العمر في الأبقار في الحيوانات بعمر 8–9 سنوات. وعزي السبب إلى اقتران زيادة العمر بعدد الولادات، حيث أشارو إلى أن أكثر حالات الإصابة بالكيتوزس كانت في الرضاعة الرابعة، ويمكن أن يكون ذلك بسبب توازن الطاقة السلبي المتوقع في الفئات العمرية الأعلى.

يتاثر حدوث الكيتوزس دون الإكلينيكي بعدة عوامل منها العمر وتسلسل الولادة إذ يزداد حدوث المرض بتقدم العمر حيث وجد أن النسبة الأكبر من SCK تحدث في عمر 7–9 سنوات (Jagtap, 2015; Meena, 2016; Meena, 2017).

ويتأثر حدوث الـ SCK بعدد الولادات حيث وجد أن النسبة الأكبر بعد الولادة الرابعة والأقل بعد الولادة الأولى (Radostits *et al.*, 2010). ويزداد في الأيام 8–14 الأولى بعد الولادة (Duffield *et al.*, 2009) وخلال أوقات معينة من فصول السنة (Tveit *et al.*, 1992) وتكون الأبقار ذات الإنتاج العالي من الحليب ونسبة الدهون المرتفعة هي الأكثر حساسية للإصابة بالمرض (Miettene, 1994) .

كما أشار (Elise , 2016) إلى أن أقل انتشار للكيتوزس كان من تموز إلى تشرين الثاني وأعلى نسبة انتشار كانت في الشهر الخامس، فضلاً عن زيادة احتمالات الإصابة بالكيتوزس في الأبقار متعددة الولادات بنسبة أرجحية 1.45، حيث كان احتمال إصابة سلالة الجيرسي بالمرض أعلى بـ 1.46 مرة للإصابة مقارنة بسلالة ماشية الهولشتاين. وفي دراسة لتحديد عوامل الخطورة المرتبطة بحدوث الكيتوزس دون الإكلينيكي والإكلينيكي في هولندا لاحظ الباحثون (Vanholder *et al.*, 2015) أن نسبة الإصابة في الأشهر من كانون الثاني إلى تموز كانت أعلى من الأشهر تشرين الأول إلى كانون الأول، فضلاً عن ارتباط زيادة انتاج اللبأ في الحلابة الأولى بزيادة مخاطر الإصابة بالشكلين الإكلينيكي والتحت إكلينيكي، وقد يعزى سبب دور الموسم في حدوث الكيتوزس إلى حقيقة ان المزارعون الهولنديون خلال النصف الأول من من العام يلجأون إلى تغذية قطعانهم من سيلاج العشب والتي غالباً ما تكون جودته أقل مقارنة مع تلك المستخدمة في الأشهر الاخيرة من السنة.

2–10– تشخيص الكيتوزس Diagnosis of Ketosis:

وجد بعض الباحثين (Rehage *et al.*, 1999) و (Aslan, 2001) وجود انخفاض معنوي في تركيز كل من البروتين الكلي والألبومين عند الأبقار المصابة بالكيتوزس.

وذكر (West, 1990) ن تركيز الألبومين في دم الأبقار المصابة بالكيتوزس يتناقص تدريجياً حسب شدة الحالة المرضية وان هذا التناقص يصل إلى حده الأعظمي عند الأبقار المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي.

وأشار (Reid, 1980) و(Dunn, 1992) إلى انخفاض في تركيز اليوريا في مصل دم الأبقار المتأثرة بالكيتوزس وهذا الانخفاض يكون متناسباً تناسباً ايجاباً مع اشتداد الحالة ويعزى السبب إلى انخفاض كفاءة الكبد على تخليق البروتينات (الوظيفة البروتينية)

ويعد قياس نشاط انزيمات الكبد في مصل الدم (AST,ALT,ALP) مؤشراً جيداً في التشخيص المبكر عند الأبقار التي تعاني من الكيتوزس (Li *et al.*, 2016) وكذلك أنزيم (γGT) (خلف، 2014) من خلال الارتفاع المعنوي لمستوى هذه الأنزيمات في مصل دم الأبقار، وقد لاحظ (Akamatsu *et al.*, 2007) انخفاض في الكوليسترول والشحوم الثلاثية (TG) عند الإصابة بالكيتوزس.

2-10-1- اختبار قياس مستوى الأحماض الدهنية غير المؤسترة

Non Esterified Fatty Acid ; NEFA

يطبق هذا الاختبار خلال الأسبوع الأخير من الحمل والأسبوع الأول بعد الولادة، وتعد نسبة 0.5 ميليمول/لتر في المصل هي الحد الحرج للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي (Duffield, 2003)، وقد وجد في دراسة حديثة أجريت في كندا على قطيع أبقار حليب مكون من 1060 بقرة بأن نحو 30% منها كانت نسبة NEFA في مصلها أعلى من الحد الحرج في الأسبوع الأخير من الحمل (Leblance *et al.*, 2004). ولوحظ أن هناك علاقة معنوية بين تركيز NEFA في الأسبوع الأخير قبل الولادة وتركيز βHBA في الأسبوع الأول بعد الولادة إذ تزداد خطورة SCK بمقدار خمسة أضعاف عندما يكون تركيز NEFA في المصل أكثر من 0.7 مليمول/لتر (Duffield, 2004) .

2-10-2- اختبار قياس مستوى βHBA في المصل:

يشخص الكيتوزس عند المجترات باستخدام العديد من الاختبارات الكيميا حيوية لقياس الأجسام الكيتونية (في الغالب بيتاهيدروكسي بوترات βHBA) في السوائل الفيزيولوجية للجسم، حيث يبلغ تركيز βHBA في مصل دم الأبقار السليمة أقل من 1000 ميكرومول/ليتر، وفي الأبقار المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي تزيد عن 1200 ميكرومول/ليتر، ويعد هذا التركيز هو العتبة لتشخيص مرض الكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار، بينما يبلغ تركيز بيتاهيدروكسي بيوترات في مصل دم الأبقار المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي أعلى من 2900 ميكرومول/ليتر (Dokovic *et al.*, 2019).

أظهرت العديد من الدراسات أن ارتفاع تركيزات βHBA و NEFA ترتبط بزيادة خطر الإصابة بأمراض مختلفة واضطرابات تناسلية وتغيرات في انتاج الحليب (Duffield *et al.*, 2009; McArt *et al.*, 2012) .

يجرى هذا الاختبار خلال الأسبوعين الأولين بعد الولادة فقط لأنها تمثل المرحلة الحرجة لحدوث SCK . ويعتبر تركيز βHBA في المصل في الحالة الطبيعية أقل من 1000 ميكرومول / لتر (Ospina *et al.*, 2010) بينما في حالة الكيتوزس دون الإكلينيكي ≤ 1200ميكرومول/لتر (Vanholder *et al.*, 2015) بينما (Oetzel, 2004) أوضح أن التركيز ≤ 1400 ميكرومول/لتر حالة كيتوزس تحت إكلينيكي ،في حين يبلغ تركيز βHBA في المصل ≤ 2600 ميكرومول/لتر بحالة الكيتوزس الإكلينيكي (Duffeld, 2000). ويعد βHBA أكثر الأجسام الكيتونية ثباتاً إلا أنه قد يتغير حسب طبيعة الغذاء. ويجب أخذ العينات في نفس اليوم من الوقت لأن العينات المتحللة تعطي نتائج خاطئة مرتفعة، ويعد هذا الاختبار مكلفاً ويحتاج إلى 24 ساعة لإتمامه إلا أن النتائج المتحصل عليها من هذا الاختبار تعد جيدة وممكن مقارنتها مع نتائج اختبار Cow-Side Test (Jacobs *et al.*, 1992).

2-10-3- اختبار قياس الكيتون في الحليب Milk Ketone Test (Ross Test).

تعتمد معظم اختبارات الكيتون في الحليب على قياس الاسيتون AC و خلات الاسيتون AcAc استناداً إلى التفاعل الكيميائي بمادة نتروبروسايد الصوديوم Sodium Nitroprusside التي تسبب تغير في اللون من الأبيض إلى الوردي أو الأرجواني. وعلى الرغم من أن الاختبار يعد ضعيف الحساسية 60% إلا انه عالي النوعية 90% (Geishauser *et al.*, 1998; Duffield *et al.*, 1997)، بينما يكون الاختبار عالي الحساسية عند قياس βHBA 70-90% ويعرف هذا الاختبار بعدة أسماء ففي أوربا يسمى Ketolack βHBA وفي اليابان يسمى Sanketopaper اما في كندا فيسمى Keto-Test (Belanger *et al.*, 2003).

2-10-4- اختبار Cow Side Test.

هي مجموعة اختبارات تجرى على الحليب لتحقيق هدفين أولهما التنبؤ بالحالات الإيجابية ومعالجتها وبالتالي تفادي ظهور الأمراض الإكلينيكية والتي تعقب SCK وعدم ضرورة معالجة الحالات الطبيعية. وثانيهما مقارنة رد الفعل الموجب للاختبار بهدف تحديد التأثير الناتج من تغير العليقة أو تأثير بعض الوسائل الوقائية في تقليل حدوث SCK (Geishauser *et al.*, 2000). يعد اختبار Cow Side Test السريع (الشرائط أو المسحوق) بأنه اختبار مطور من اختبار Rothera، الذي استخدمه لأول مرة عام 1908، وهو اختبار حساس للكميات القليلة من الأسيتوأسيتات AcAc وبدرجة أقل الأسيتون AC إلا انه غير حساس لقياس βHBA (Nielen *et al.*, 1994).

توافرت حديثاً أنواع متعددة من Cow Side Test بأسماء تجارية مختلفة باختلاف الدول أو الشركات المصنعة منها βHBA strip Ketolac في المانيا Ketostix في كندا أما في هولندا فيسمى Utercht. وقد ظهرت اختبارات أخرى متخصصة لقياس AcAc في الحليب مثل Pink Test و Uriscan و Rapignost (Carrier *et al.*, 2004).

2-10-5- اختبار الكيتون في البول Urine Keton Test

يعتمد اختبار قياس الكيتون في البول على تفاعل نفس المادة السابقة نتروبروساید الصوديوم كما في الاختبار الذي يجري على الحليب، وهو اختبار عالي الحساسية (إذ تصل 100%) تقريباً إلا انه ضعيف النوعية (Osborne, 2003).

2-11- الخسارة الاقتصادية الناجمة عن الكيتوزس دون الأكلينيكي عند الأبقار:

لتقييم إدارة الأبقار في المرحلة الانتقالية وتوجيه الاستراتيجيات لتحسين الصحة والخصوبة في مزارع الأبقار، من الضروري استخدام مراقبة الاضطرابات الاستقلابية بشكل مستمر (Van der Drift *et al.*, 2012).

يعد الكيتوزس دون الإكلينيكي أحد الاضطرابات الاستقلابية الرئيسية عند الأبقار الحلوب (LeBlanc, 2010)، كما إنه يزيد من احتمال الإصابة بإمراض أخرى حيث تبين في دراسة أجراها (Raboisson *et al.*, 2014) أن الكيتوزس دون الإكلينيكي يسبب في زيادة الخطورة النسبية للإصابة باضطرابات استقلابية وتغيرات في انتاج الحليب، وأمراض مختلفة مثل انزياح المنفحة، والكيتوزس الإكلينيكي، والاستبعاد المبكر، أو النفوق، والتهاب الضرع، واحتباس المشيمة، والعرج.

يتسبب ارتفاع معدل حدوث الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي في خسارة اقتصادية لمزارع الأبقار الحلوب بسبب التدني في انتاج الحليب بالإضافة إلى الانخفاض الحاد في قيم العناصر الموجودة في الحليب وفشل الحيوانات المصابة في العودة إلى الإنتاج الطبيعي بعد الشفاء (Conistable *et al.*, 2017) ، كما أشار الباحثون (Littledike *et al.*,1981) إلى أن الخسائر المالية الناتجة عن نقص الحليب، وانخفاض وزن الجسم، وتكلفة المعالجة، واستبعاد الأبقار التي لديها حالات متكررة للكيتوزس قد يقارب خسارة سنوية تقترب من 150 مليون دولار أمريكي لصناعة الالبان في الولايات المتحدة. وإن

الخسائر الناجمة عن الكيتوزس دون الإكلينيكي غير المشخصة تتجاوز الخسائر الناتجة عن الكيتوزس الإكلينيكي (Sharma *et al.*, 2009).

كما أشار الباحثون (Benedet *et al.*, 2019) إلى ان الكيتوزس دون الإكلينيكي يسبب ضعفاً في صحة الأبقار الحلوب من خلال زيادة خطر ظهور أمراض الرضاعة المبكرة الأخرى، كما أنه يؤثر سلباً على الأداء الانجابي، إذ تعود الكلفة الاقتصادية لهذا المرض بشكل أساسي إلى ضعف الأداء التناسلي وهبوط انتاج الحليب. وبالتالي فإن الإصابة بالكيتوزس تزيد من معدل التنسيق (Seifi *et al.*, 2011)، والتكاليف المادية على مستوى القطيع (Liang *et al.*, 2017; Mostert *et al.*, 2018).

أشارت العديد من الدراسات إلى التكلفة الإقتصادية الناتجة عن الإصابة بالكيتوزس، إذ تم تقدير التكلفة الإقتصادية بين 77 دولار (Liang *et al.*, 2017) و289 دولار (McArt *et al.*, 2015) لكل حالة سنويا في الولايات المتحدة.

كما أشار الباحثون (Mostert *et al.*, 2018) في دراسة لتقدير الخسائر الاقتصادية الناجمة عن الكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت وسطياً 130 يورو لكل حالة مصابة في السنة، إذ نتيجة التكاليف عن فترة بين الولادة الطويلة 36%، وانخفاض انتاج الحليب 24%، والعلاج 19%، والحليب المهمل 14%، والتنسيق، 6%. وقد تختلف التكاليف لكل مزرعة حسب الظروف الخاصة بالمزرعة.

2-12- العلاقة بين التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي

يرتبط حدوث الكيتوزس دون الإكلينيكي ارتباطاً وثيقاً بالعديد من الأمراض التي تحدث بعد الولادة. ومن بين هذه الأمراض التهاب الضرع بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي (Leslie *et al.*, 2000). وقد أكدت بعض الأبحاث العلمية على العلاقة الإيجابية بين المستويات المرتفعة للأجسام الكيتونية ودرجة حدوث التهاب الضرع (Suriyasathporn *et al.*, 2000) في حين لم يتوصل (Emanuelson et al.,1993) إلى تأكيد تلك العلاقة. وفي دراسة أجريت في السويد وجد

(Oltenacu & Ekeesbo, 1994) أن الكيتوزس يزيد من احتمالية حدوث التهاب الضرع إلى الضعف، إذ تعاني الأبقار أثناء فترة توازن الطاقة السلبي عجزاً في آليات الدفاع في الضرع، ويفترض أن يكون الارتفاع في مستوى الأجسام الكيتونية بأنه أحد العوامل التي تؤدي إلى انخفاض دفاعات الضرع (Uyarlar *et al.*, 2018) وبالإمكان توضيح تلك التأثيرات على الاستجابة المناعية من خلال ما يأتي:

1- هبوط قابلية البلعمة Phagocytosis الذي تقوم به الخلايا متعددة أشكال الانوية Polymorphonuclear cells PMNs في الأبقار المصابة بالتهاب الضرع المترافق وارتفاع مستوى الأجسام الكيتونية (Roitt, 1991). وإن انخفاض وظيفة كل من العدلات واللمفاويات عند الأبقار قبل الولادة وأثنائها (Kehrli *et al.*, 1989) يعود إلى التحدي الكبير الذي تجابهه الآليات المسؤولة عن تنظيم الطاقة والبروتين والمعادن، إذ أن توازن كل من الطاقة السلبي والبروتين والمعادن، المرتبط ببداية ادرار الحليب قد يكون هو المسؤول جزئياً عن هبوط المناعة لدى الأبقار كما لوحظ أن تلك التغيرات يرافقها هبوط في نشاط إنزيم Neutrophil myeloperoxidase قبل الولادة والتي تستمر إلى ما بعد الولادة (Goff & Kimura, 2003).

2- ضعف قابلية الكريات البيض على الهجرة Migration إلى الضرع المصابة (Suriyasathaporn *et al.*, 2000) فضلاً عن انخفاض قابليتها في تحفيز إعادة تجديد خلايا الضرع عند حصول إصابات داخله، وهذا ما يلاحظ عند الإصابة بالكيتوزس الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي بسبب قلة كمية Cytokines المنتج من قبل الخلايا اللمفية الذي يكون بأشكال عدة مثل Tumer Nicrotic Factor و Interleukin و Interferon (Suriyasathaporn *et al.*, 1999) ، مع قلة تصنيع عوامل الجذب الكيميائي Chemotaxic cytokines وزيادة شدة الإصابة داخل الضرع في وسط محيط ترتفع فيه الأجسام الكيتونية (Kremer *et al.*, 1993 ; VanWerven *et al.*, 1999).

3- زيادة تعداد الخلايا الجسمية SCC في حليب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع التي يكون اغلبها من نوع محببة PMNs وتعزى هذه الزيادة إلى وجود عوامل الجذب Chemotaxic cytokines في الضرع المسؤولة عن زيادة SCC وارتشاح PMNs إلى افرازات الضرع (Callard & Gearing, 1994) . وهذا مماثل لما يمكن ملاحظته في المدة المبكرة من الولادة 4-6 أسابيع بعد الولادة وفي المرحلة الأخيرة من الرضاعة (Zeng & Escobar, 1995) وبالتالي يحصل فقدان للخلايا الجسمية في الحليب والتي تعد أهم آليات دفاع الضرع (Manlongat *et al.*, 1998) .

4- لقد وجد (Pritchard, 2005) في بحثه بأن الكيتوزس دون الإكلينيكي له علاقة إيجابية مع زيادة عدد الخلايا الجسمية حيث أن نسبة الأبقار التي تعاني من ارتفاع عدد الخلايا الجسمية SCC عن المستوى المثالي كان مرتفعاً، إذ بلغت 29.4% من مجموع الأبقار التي تعاني من الكيتوزس دون الإكلينيكي مقارنة مع 21.4% من مجموع الأبقار الخالية من الكيتوزس دون الإكلينيكي. والجدول الآتي(2-5) يبين العلاقة بين SCC و SCK في أبقار الحليب (Leslie *et al.*, 2000).

جدول رقم (2-5) العلاقة بين SCC و SCK

Weeks positive for ketosis	% of Ketotic cows with elevated SCC	%Non-Ketotic cow with elevated SCC
Once in any weak of 1,2,3,6 or 9	29.4(59/197)	21.4(76/355)
Tow or more weeks positive	21.6(31/134)	13.6(57/418)

وبما أن ارتفاع عدد الخلايا الجسمية، يعد اختباراً معتمداً للاستدلال على التهاب الضرع دون الإكلينيكي، فعليه أن للكيتوزس دون الإكلينيكي تأثيراً في التمهيد للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي. ويمكن تفسير هذه العلاقة على أساس أن توازن الطاقة السلبي وظهور الأمراض الاستقلابية ومنها الكيتوزس دون الإكلينيكي، قرب أو بعد الولادة بقليل، مع زيادة نسبة الإصابة بالتهاب الضرع بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي يعود إلى ارتفاع تركيز الأجسام الكيتونية التي تعد سبباً أساسياً في هبوط قدرة الضرع لمقاومة غزو الجراثيم بسبب هبوط قدرة عملية البلعمة Phagocytosis من قبل البلاعم داخل أنسجة الضرع (Kehrli & Shuster, 1994; Leslie *et al.*, 2000).

5- يؤدي عوز الطاقة وتدني نسبة البروتين خلال المرحلة المبكرة من الرضاعة إلى تأثيرات سلبية في المناعة الخلوية Cell mediated Immunity، إذ يحصل ضمور في الأنسجة اللمفية Lymphoid tissue الذي يؤدي بدوره إلى انخفاض أعداد خلايا T في الدورة الدموية Circulating T cells إلى النصف (Roitt, 1991) هذا فضلاً عن هبوط تركيز الغلوبيولينات المناعية التي تستنزف بسبب طرحها مع اللبأ في بداية ادرار الحليب (Goff & Kimura, 2003)

6- وجود حمض βHBA بتراكيز عالية في حليب الحيوانات المصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي يقلل فعالية الخلايا البيض القاتلة للجراثيم Bacteriocidal activity (Sartorelli *et al.*, 2000).

إن نسبة الإصابة بالكيتوزس ترتفع في المراحل التي يزداد فيها إنتاج الحليب (مجيد، 1979). مؤدياً إلى توازن الطاقة السلبي ومن ثم تحريك احتياطي الطاقة في الجسم مسبباً في حدوث تغيرات استقلابية أهمها ارتفاع مستوى الكيتونات في الجسم (Illek *et al.*, 1997) فضلاً عن ضعف مقاومة الحيوان بسبب تعرضه للإجهاد طيلة مدة ادرار الحليب، والتي تهيئ الضرع للإصابات المختلفة وظهور حالات التهاب الضرع (Grummer, 1993; Orsolya *et al.*, 2003). من جانب آخر التقدم بالعمر وزيادة عدد مرات الولادة يؤديان إلى ضعف استجابة الجهاز المناعي وتأخر انتقال خلايا الدم البيض من

الدم إلى أنسجة الضرع (Bradly & Green, 2001). ونتيجة للهبوط المناعي تزداد فرصة الإصابة بالأمراض الاستقلابية بعد الولادة (Burvenich *et al.*, 1994) وخاصة الكيتوزس دون الإكلينيكي (Detilleux *et al.*, 1994). حيث إن الأبقار المتقدمة بالسن تكون أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع في نفس الوقت حيث أنها تكون أقل مقاومة للأمراض وتزداد حساسيتها للمرض بسبب تكرار الحمل وتعرضها للكثير من الامراض كالتهاب الرحم واحتباس المشيمة (Schukken *et al.*, 1988)، كما أن زيادة عدد الولادات يؤدي إلى زيادة الإجهاد الذي تتعرض له أنسجة الضرع بسبب تكرار إنتاج الحليب الذي يؤدي إلى ارتخاء العضلات العاصرة وزيادة كبر فتحة الحلمة وبالتالي ضعف عملها في منع دخول المسببات المرضية (Philpot & Nickrson, 1999).

تم بحث العلاقة بين حالات الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي من خلال دراسة أجريت في مدينة Guelph بكندا، اشتملت على فحص 25 قطيعاً تجارياً لأبقار الحليب وقد وجد أثناء الأسبوعين الأولين بعد الولادة أن 15% من الأبقار التي شخصت إصابتها بـ SCK تظهر لديها إصابة بالتهاب الضرع الإكلينيكي أيضاً، وأن أكثر من 27% منها مصابة بـ SCK فقط (Leslie *et al.*, 2000; Pritchard, 2005).

وفي دراسة أجريت حديثا حيث أكد (Deniz *et al.*, 2020) ان الكيتوزس دون الإكلينيكي يزيد من خطر الإصابة بأمراض التمثيل الغذائي والأمراض التناسلية مثل التهاب الضرع واحتباس المشيمة وخلل في فترة الشبق. حيث أن هناك ارتباط بين SCK وأمراض ما بعد الولادة (Brunner *et al.*,2019).

وفي دراسة أجريت في مدينة Ontario بكندا أيضاً تم فحص 951 بقرة حلوبة بعد الولادة وكانت نسبة الإصابة بالحالتين الكيتوزس دون الإكلينيكي SCK والتهاب الضرع الإكلينيكي CM معاً هي 15.1% مقارنة مع نسبة الأبقار المصابة بـ CM وغير المصابة بـ SCK التي بلغت نسبتها 10.1%. أما في

الأسبوع الأول بعد الولادة فإن نسبة الإصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع دون الإكلينيكي معاً كانت 18.1% (Leslie *et al.*, 2000).

كما قام الباحثون (Zadnik *et al.*,2001) بجمع عينات من خزانات الحليب من 8 حقول تضم 177 من أبقار الحليب لتقييمها باعتماد مستويات Na و K و βHBA و SCC والأسيتون واليوريا كمؤشرات حساسة لتشخيص الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي، إذ أشارت نتائجهم إلى أن نسب الإصابة كانت: ارتفاع الكيتون في الحليب Hyperketolactia كانت بنسبة 23.5% وانخفاض مستوى الكالسيوم في الدم Hypocalcemia بنسبة 35.2% والتهاب الضرع الإكلينيكي Clinical mastitis بنسبة 21.38%.

المواد والطرائق

MATERIAL & METHODS

مواد وطرائق البحث

Material and Methods

أجريت هذه الدراسة في مخبر وظائف الأعضاء ومخبر الكيمياء الحديثة في كلية الطب البيطري التابعة لجامعة حماة وفي مخابر التشخيص المخبري التابعة لمديرية الزراعة في محافظة حماة، واستخدمت فيها الاجهزة والمواد الأتية:

3-1. المواد والأجهزة المستخدمة:

3-1-1. الأجهزة المستخدمة:

استخدمت في هذه الدراسة الأجهزة الموضحة في الجدول (3-1):

الجدول رقم (3-1): الاجهزة المستخدمة لإجراء الاختبارات

ت	اسم الجهاز	الشركة المصنعة
.1	حمام مائي	Yamato (Japan)
.2	مجهر ضوئي	Nikon (Japan)
.3	فرن حراري كهربائي	Memmert (Germany)
.4	ميزان حساس	Sartorius
.5	جهاز قياس pH	
.6	جهاز المطياف الضوئي	
.7	كبينة الزرع البكتيري	Sanyo
.8	ماصات دقيقة	Benchmate

9.	جهاز تقطير	Exelo (England)
10	مؤصدة	Yamato (Japan)
11	حاضنة	Yamato (Japan)
12	مرشحه غشائية	Gelman
13	مثقلة	Gallen Kamp (England)

3-1-2. المحاليل والمواد الكيميائية :

استخدمت مجموعة من المحاليل والمواد الكيميائية في هذه الدراسة وهي مبينة في الجدول (3-2).

الجدول رقم (3-2): المواد الكيميائية المستخدمة في الاختبارات

ت	المادة	الشركة المصنعة
.1	آغار آغار	HiMedia (India)
.2	أحمر المثيل	England (BDH)
.3	بنفسجية الكريستال	England (BDH)
.4	يود	England (BDH)
.5	كحول ايتيلي	England (BDH)
.6	نتروبروساید الصوديوم	England (BDH)
.7	هيدروكسيد الأمونيوم	England (BDH)
.8	زايلول	England (BDH)
.9	صبغة أزرق الميثيلين	England (BDH)
.10	سفرانين	England (BDH)
.11	لاكتوز	England (BDH)
.12	فركتوز	England (BDH)
.13	سكروز	England (BDH)

.14	آرابينوز	England (BDH)
.15	مالتوز	England (BDH)

3-1-3 الأوساط المزرعية :

استخدمت العديد من الأوساط المزرعية والمبينة في الجدول (3-3).

الجدول رقم (3-3): الأوساط المزرعية المستخدمة في الاختبارات

ت	اسم الوسط أو المادة	الاستخدام	الشركة المصنعة
.1	الآغار المغذي Nutrient agar	العزل البكتيري والكشف عن انتاج الصباغ	HiMedia (India)
.2	آغار المانيتول المالح Mannitol salt agar	عزل العنقوديات وتنميتها	HiMedia (India)
.3	آغار الماكونكي MacConkey agar	الكشف عن بكتريا الكوليفورم	HiMedia (India)
.4	وسط EMB	عزل الإشريكية القولونية	HiMedia (India)
.5	المرق المغذي Nutrient broth	تنشيط العزولات البكتيرية وحفظ العزولات	HiMedia (India)
.6	الآغار الدموي Blood agar	الكشف عن البكتريا المحلله للدم	HiMedia (India)
.7	آغار سترات سيمون Simmon citrate agar	التحري عن قابلية البكتريا على استخدام السترات كمصدر للكربون	HiMedia (India)
.8	آغار كليجلر Kligler iron agar	التحري عن قابلية البكتريا على إنتاج H_2S	HiMedia (India)
.9	آغار اليوريا Urea base agar	الكشف عن أنزيم اليورياز	HiMedia (India)

.10	وسط الأكسدة والتخمير Oxidation and Fermentation Medium	للتميز بين البكتريا على أساس قدرتها على تأكسد أو تخمير سكر الغلكوز	HiMedia (India)
.11	وسط الجيلاتين Gelatin Medium	قابلية البكتريا على تحلل الجيلاتين	حضر مخبرياً
.12	وسط ماء الببتون Peptone water Medium	الكشف عن تكوين حلقة الأندول	HiMedia (India)
.13	وسط تخمر السكريات Sugar fermentation Medium	الكشف عن قابلية البكتريا على تخمر السكريات	حضرا مخبريا (الويناوي وزوين،2020)
.14	وسط الحركة Motility Medium	الكشف عن قابلية البكتريا على الحركة	حضر مخبرياً (Atlas,2004)
.15	وسط الأسكولين والصفراء	لعزل المكورة العقدية البرازية	HiMedia (India)

3-1-4. الكواشف The Reagents

استخدمت في هذه الدراسة مجموعة من الكواشف وهي مبينة في الجدول رقم (3-4).

الجدول رقم (3-4): الكواشف المستخدمة في الأختبارات

الكاشف	الاستخدام
أحمر المثيل Methyl red	الكشف عن قدرة البكتريا على تخمر الغلوكوز إنتاج الاحماض العضوية
كالشف فوكس بروسكأور (هيدروكسيد البوتاسيوم، ألفانفثول)	الكشف عن قدرة البكتريا على تكوين Diacetyl carbinol
كوفاكس Kovac's	الكشف عن قدرة البكتريا على تكوين حلقة الأندول
كاشف الأوكسيداز Oxidase	الكشف عن إنتاج أنزيم الأوكسيداز من قبل البكتريا

الماء الأوكسجيني	H_2O_2	الكشف عن إنتاج أنزيم الكاتالاز من قبل البكتريا
اليوريا	Urea	الكشف عن إنتاج أنزيم اليوريز من قبل البكتريا
أندريد	Andrade´s indicator	للكشف عن تخمر السكاكر

3-2. طرائق البحث:

3-2-1. حيوانات الدراسة:

اجريت هذه الدراسة على 200 رأس من أبقار الحليب في الفترة الواقعة ما بين 2021/6/5 الى 2022/2/16 حيث تم جمع المعلومات عن الأبقار التي خضعت للدراسة من المربين في مناطق مختلفة من ريفي حماه وحمص، وأُعدّت استمارة خاصة بذلك دوّن فيها كل من اسم المربي، ورقم البقرة، ونوعها، وعمرها، وعدد الولادات السابقة، وتاريخ آخر ولادة، ومعلومات أخرى عن الحيوان، كما تم قياس كل من درجة الحرارة والنبض وتردد التنفس وحركات الكرش شكل رقم (3-1).

بعد ذلك تم اجراء فحص سريري على الأبقار عن طريق الجس باليد للتعرف على طبيعة الضرع وتركيبه وتحسس حجم العقد اللمفية فوق الضرع. وفحص الحليب عيانياً الذي يشتمل على كل من لون الحليب وقوامه ورائحته.

3-2-2. جمع عينات الحليب:

تم غسل الضرع والأجزاء المجاورة في كل بقرة بالماء أولاً ومن ثم بمحلول اليود بتركيز (1:100) وتم مسح الحلمات بقطعة شاش معقمة، ثم أخذ 800 عينة حليب من 200 بقرة بأعمار مختلفة وبفترات إرضاع مختلفة وتجمع عينات الحليب بطريقة يدوية بعد إهمال الدفقات الأولى Strips من الربعين الأماميين والخلفيين بحجم 50 مل. ووضعت العينات في أنابيب معقمة ومحكمة الإغلاق دوّن عليها رقم

البقرة ورقم العينة وتاريخ اخذ العينة. ثم وضعت في الثلج لضمان تبريدها والمحافظة عليها عند درجة حرارة منخفضة أثناء النقل إلى المخبر في اقصر مدة وبأقصى سرعة ممكنة لإجراء الفحوصات الكيميائية عليها.

3-2-3. جمع عينات الدم

تم أخذ عينة دم بمقدار 10 مل من الوريد الوداجي باستخدام محاقن طبية عقيمة بعد حلاقة المنطقة والتعقيم بالكحول الأيثيلي 70% في فترة الصباح وقبل تناول الحيوان للعليقة، ووضعت عينات الدم في أنابيب معقمة غير حاوية على مانع تخثر، و ثم وضعت ضمن حافظة تحتوي على ثلج لنقلها الى المخبر، حيث ثفلت العينات بسرعة /3000/ دورة في الدقيقة في المثفلة لمدة 5-10 دقائق بغية الحصول على مصل دم نقي، ثم تم وضعه في أنابيب اختبار / Eppendrof / وحفظت في الثلاجة عند درجة 20 درجة مئوية تحت الصفر لحين اجراء الاختبارات البيوكيميائية المطلوبة (Coles, 1989).

3-2-4. جمع عينات البول:

تم جمع عينات البول من المثانة مباشرة بواسطة القثطرة البولية بعد تعقيمها بواسطة محلول اليود (1:100) ثم ادخالها في الفتحة المبالية حتى وصول المثانة وسحب عينة البول بمعدل 20 مل.

3-2-5. الاختبارات الجرثومية:

تم تثفيل عينات الحليب المعدة للاختبارات الجرثومية في جهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة / دقيقة ثم أخذت مسحة من الراسب والطافي وتمت زراعتها على منابت مختلفة مثل منبت الآغار الدموي ومنبت ماكونكي ومنبت شابمان ومنبت إدوارد، وتم التحضين لمدة 48 ساعة بدرجة حرارة 37 درجة مئوية (Nada,1994).

ومن ثم تم التعرف على الجراثيم المعزولة اعتماداً على الطريقة الموصوفة من قبل (Carter & cole 1990) إذ تم إجراء دراسة للخواص الشكلية والتلوينية والصفات المزرعية ونتائج الاختبارات الكيمياحيوية.

3-2-5-1. الأوساط المزرعية التركيبية:

3-2-5-1-1. وسط آغار اليوريا Urea agar

حضر هذا الوسط حسب تعليمات الشركة المصنعة بإضافة (5مل) من محلول اليوريا المحضر بتركيز 40% بعد تعقيمه بالترشيح باستخدام مرشحة غشائية دقيقة 0.22 ميكرون إلى 95 مل من آغار اليوريا الأساس Urea agar base المعقم بالمؤصدة والمبرد إلى 50 مْ. و بعد مجانسة الوسط في أنابيب اختبار معقمة وترك ليتصلب بشكل مائل.

أستعمل هذا الوسط للتحري عن قابلية البكتريا على إنتاج أنزيم اليورياز Urease.

3-2-5-1-2 وسط الجيلاتين Gelatine Medium

حضر بإضافة 12 غم من مادة الجيلاتين إلى 100 مل وسط المرق المغذي، وزع الوسط في أنابيب اختبار بمعدل (5 مل) لكل أنبوبة، عقمت الأنابيب بالمؤصدة (الويندواوي وزوين، 2020). وأستعمل هذا الوسط لتحديد قدرة البكتريا على تمييع الجيلاتين.

3-2-5-1-3 وسط تخمر السكريات Sugars fermentation

حضرت بإضافة كاشف (Andrade´s indicator) بنسبة 1%إلى وسط ماء الببتون وعقم بالمؤصدة بدرجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة وبعد التبريد أضيف السكر (لاكتوز، الآرابينوز، السكروز، مالتوز، الفركتوز) المعقم بالترشيح إلى الوسط بنسبة 1% ووزع المحلول على أنابيب بواقع 5 مل مع إضافة أنبوب (Durham) بشكل مقلوب (الويندواوي وزوين، 2020). أستعمل هذا الوسط لتحديد قدرة البكتريا على تخمير السكريات وإنتاج غاز CO_2.

3-2-5-1-4 وسط الحركة Motility Medium

تم إضافة 5 غ من مادة الآغار إلى 100 مل من المرق المغذي وعقمت بالمؤصدة (Atlas , 2004). أستعمل هذا الوسط لدراسة قدرة البكتريا على الحركة.

3-2-5-1-5 وسط الآغار المدمى Blood Agar Medium:

تم تحضيره تبعاً لتعليمات الشركة المنتجة، وتم إضافة 5% دم أغنام منزوع الفبرين وذلك بعد التعقيم والتبريد لدرجة حرارة 50 مْ، ومن ثم صب الوسط في أطباق بيتري معقمة، حيث تم استخدامه في الكشف عن قدرة البكتريا على تحليل كريات الدم الحمراء.

كما حضرت باقي الأوساط المستخدمة حسب تعليمات الشركة المصنعة وذلك بوزن الكمية المطلوبة وحلها بالماء المقطر، ثم التسخين حتى الذوبان وعقمت بالمؤصدة على درجة حرارة 121 مْ لمدة 15 دقيقة وعلى ضغط 1.5 بار .

3-2-5-2 تحضير الكواشف والمحاليل Solutions and reagents

3-2-5-2-1 كاشف الكاتلاز Catalase reagent

حضر هذا الكاشف بتركيز 3% وذلك بإضافة 1 مل من بيروكسيد الهيدروجين H_2O_2 المركز 30% إلى 9 مل من الماء المقطر (MacFaddin, 2000).

3-2-5-2-2 كاشف أحمر المثيل Methyl red reagent

حضر الكاشف بإذابة 0.1 غم من أحمر المثيل في 300 مل من كحول اثيلي 95% ويكمل الحجم إلى 500 مل بالماء المقطر. أستعمل هذا الكاشف للكشف عن قدرة البكتريا على إنتاج حمض كناتج نهائي للتحلل الكامل للسكريات (Benson, 2002).

3-2-5-2-3 محلول اليوريا.Urea Solution

أُذيب 40 غم يوريا في 50 مل ماء مقطر معقم وأكمل الحجم إلى 100 مل، عقم المحلول بالترشيح (ISO, 2002).

3-5-2-3 تنقية العزولات وحفظها :

تم نقل بعض العزولات النامية إلى وسط الآغار المغذي الصلب بواسطة ناقل معقم وبشكل تخطيط Streaking ثم حضنت في درجة حرارة 37°م لمدة 24 ساعة مرحلة التنقية بنقل العزولات المنقاة لعدة مرات متتالية (Collee *et al.*, 1996).

وبعد تنقية المستعمرات المراد تشخيصها تم حفظ العزولات في المرق المغذي و الآغار نصف صلب إذ حضنت في درجة حرارة 37 مْ لمدة 24 ساعة وبعدها حفظت في الثلاجة إلى حين إجراء الاختبارات الكيمياحيوية عليها مع مراعاة تجديد الزرع كل (1 –3) أشهر (Grosu-Tudor & Zamfir, 2011).

4-5-2-3 تنشيط العزولات:

نشطت العزولات الجرثومية في المرق المغذي عند درجة حرارة 37°م لمدة 18 ساعة باخذ جزء من البكتريا النامية باستخدام الناقل المعدني البكتيري بغية الحصول على معلق بكتيري وأستعمل هذا المعلق للعزولات المنشطة في جميع الاختبارات اللاحقة (Collee *et al.*, 1996).

5-5-2-3 دراسة الخواص المزرعية والشكليائية والتلوينية:

تم دراسة الخصائص المزرعية للنموات أو عدم النمو على الأوساط التفريقية (Differential media) و الأوساط الانتقائية (Selective media). كما تم دراسة الخصائص الشكلية والتلوينية للخلايا البكتيرية من خلال طبيعة أخذها لصبغة غرام وشكلها وانتظامها مع بعضها.

(Macfaddin, 2000)

3-2-5-6 اختبار الحركة Motility test

تم زرع وسط الحركة بالنمو الجرثومي بتقنية الوخز (Stab technique) في مركز الوسط وذلك باستعمال إبرة ناقلة معقمة ويحضن عند درجة حرارة 37م لمدة 24-48 ساعة. أن انتشار النمو خارج خط الوخز وحدوث عكارة في الوسط دلالة على النتيجة الموجبة أي ان البكتريا متحركة. أما بقاء النمو في محور الوخز فإنه يدل على سلبية الاختبار. وأعيد حضن الأنابيب ذات النتيجة السالبة عند درجة حرارة 25 م لمدة 5 أيام لتأكيد صحة الاختبار (Macfaddin, 2000).

3-2-5-7 الاختبارات الكيمياحيوية Biochemical tests

اختبرت المستعمرات النقية النامية على وسط الآغار المغذي بعمر 18-24 ساعة لإجراء الاختبارات الكيموحيوية الاتية:

3-2-5-7-1 اختبار الأندول Indol test

لقح وسط ماء الببتون بالمستعمرات البكتيرية وحضن على درجة حرارة 37 م لمدة 24-48 ساعة بعدها أضيف لكل أنبوبة 5 قطرات من كاشف كوفاكس ورجت الأنبوبة بهدوء. إن النتيجة الموجبة لهذا الاختبار هي ظهور حلقة حمراء في أعلى الوسط إذ تدل على انفصال جذر الأندول من الببتون (ISO, 2002).

3-2-5-7-2 اختبار المثيل الأحمر –فوكس بروسكأور Methyl red-voges proskaur test

زرعت مجموعتان من الأنابيب الحاوية على وسط MR-Vp السائل بالمستعمرات البكتيرية وحضنت كلتا المجموعتين عند درجة حرارة 37م لمدة 48 ساعة للمجموعة الأولى و 24 ساعة للمجموعة الثانية. وبعد عملية الحضن أضيف للمجوعة الأولى من الأنابيب 5 قطرات من كاشف أحمر المثيل ويدل تحول لون الوسط من الاصفر الشاحب إلى الأحمر على التحلل الكامل للسكر وإنتاج الحمض، في حين أضيف للمجموعة الثانية من الأنابيب 0.6 مل من كاشف ألفا نفثول و 0.2 مل من محلول هيدروكسيد البوتاسيوم 40% ويدل تحول لون الوسط من الاصفر الشاحب إلى الكرزي بعد مرور 15-30 دقيقة على التحلل الجزئي للسكر وإنتاج مركب diacetyl carbonil (MacFaddin, 2000)

3-2-5-7-3 اختبار استهلاك السترات Citrate utilization test:

تم اجراء هذا الاختبار بزرع بيئة آغار سيمون سترات والمحضرة في أنابيب بشكل مائل بالنمو البكتيري وتحضن عند درجة حرارة 37 م لمدة 24-48 ساعة. النتيجة الموجبة بتحول لون الوسط من الأخضر إلى الازرق ويدل التغير باللون على قدرة البكتريا على النمو بوجود سترات الصوديوم كمصدر وحيد للكاربون والطاقة (AOAC, 2005).

3-2-5-7-4 اختبار الأكسدة والتخمير Oxidation – Fermentation Test:

تم زرع مستعمرات البكتريا المنقاة المراد اختبارها في أنبوبين من هذا الوسط، وغطي سطح أحد الأنبوبين بطبقة من زيت البرافين المعقم والآخر يترك بدون زيت ووضع أنبوب ثالث بدون زرع كشاهد سلبي واستخدم هذا الاختبار للتميز بين البكتريا على أساس قدرتها على تأكسد أو تخمير سكر الغلكوز، حيث يدل تحول لون الأنبوبتين إلى الأصفر على ان البكتريا مخمرة ومؤكسدة للغلوكوز، اما في حالة كون الأنبوبة المغطاة بالزيت المعدني ذات لون أخضر والأخرى ذات لون اصفر فهذا يعني ان البكتريا مؤكسدة للغلوكوز، بينما في حالة بقاء الأنبوبتين باللون الأخضر فهذا يعني ان البكتريا لا تستهلك الغلوكوز (الويناوي وزوين، 2020).

3-2-5-7-5 اختبار الكاتلاز Catalase test:

تم نقل مستعمرة بواسطة لوب معقم إلى شريحة زجاجية نظيفة وجافة ووضع فوقها قطرة من كاشف بيروكسيد الهيدروجين 3% .إن تكوّن فقاعات هوائية نتيجة تحرر غاز الأوكسجين من على النمو البكتيري المختبر دليل على إيجابية الاختبار (Talaro & Chess, 2018).

3-2-5-7-6 اختبار الأنزيم المؤكسد Oxidase test:

تم نقل مستعمرة من النمو البكتيري الحديث إلى الأقراص المحملة بالكاشف. إن ظهور اللون البنفسجي الغامق في خلال 10 ثوان يدل على نتيجة موجبة للاختبار (Hemraj *et al.*, 2013).

3-2-5-7-7 اختبار تخمر السكريات وإنتاج غاز كبريتيد الهيدروجين

H2S production and sugers fermentation test

زرعت بيئة آغار كليجلر والحديد والمحضرة في أنابيب بشكل مائل بالنمو البكتيري بتقنية الوخز والتخطيط باستعمال إبرة ناقلة معقمة وحضنت عند درجة حرارة 37م لمدة 24 ساعة وبعدها تم قراءة التغيرات الحاصلة في القعر والسطح المائل ويلاحظ التخمر بتغير لون كاشف أحمر الفينول من الأحمر إلى الاصفر وإن تكون الغاز غالباً ما يلاحظ على شكل فقاعات أسفل وبداخل الوسط، أما البكتريا المنتجة لغاز كبريتيد الهيدروجين يلاحظ تكوينها لهذا الغاز على شكل راسب اسود (Macfaddin, 2000).

3-2-5-7-8 اختبار أنزيم تجلط البلازما Coagulase test:

تم مزج 0.5 مل من بلازما دم أرنب في أنبوب اختبار ثم أضيف 0.5 مل من المرق المغذي المزروع بالبكتريا المراد فحصها، ثم يحضن في ظروف هوائية بدرجة حرارة (35 – 37مْ) لمدة 4 ساعات والنتيجة تكون إيجابية عند تشكل خثرة في الأنبوب (الوينداوي وزوين، 2020).

3-2-5-7-9 الهيمولايسين Hemolysin:

تم اختبار قابلية إنتاج الهيمولايسين من قبل العزولات البكتيرية وذلك عن طريق نقل مستعمرة مفردة وزرعها على وسط آغار الدم. وحضنت الأطباق بدرجة 37 م° ولمدة 24–48 ساعة مع ملاحظة طبيعة تحلل الدم حول منطقة النمو (الوينداوي و زوين،2020).

3-2-5-7-10 اختبار كامب CAMP test:

أجري هذا الاختبار لغرض التفريق بين جراثيم المكورات العقدية من نوع Streptococcus agalactiae عن باقي أنواع جنس المكورات العقدية واجري الاختبار بتلقيح جرثومة Staphylococcus aureus المحللة للدم نوع بيتا على طبق أغار دم الاغنام بخط مستقيم ثم لقحت جراثيم المكورات العقدية المراد اختبارها عمودياً على خط الجرثومة الأولى بدون ان تلامسها ثم حضنت بدرجة حرارة 37 م° لمدة 24 ساعة وقرئت النتائج الموجبة بملاحظة وجود منطقة من التحلل تشبه السهم في منطقة التقاء زرع الجرثومتين (Baron & Fenigold, 1990) .

3-2-5-7-11 اختبار أنزيم اليورياز Urease test:

تم زرع موائل آغار اليوريا بالنمو البكتيري وحضن على درجة حرارة 37 م وتم الفحص بعد مرور 24 ساعة. النتيجة الموجبة هي تغير لون الوسط نتيجة إفراز أنزيم اليورياز من اللون الاصفر إلى اللون الوردي (Dahlen *et al.*, 2018).

3-2-5-7-12اختبار تخمر السكاكر:

لُقِحَ وسط تخمر السكاكر بالنمو البكتيري وحضن على درجة حرارة 37م وفحصت الأنابيب بعد 24 ساعة، النتيجة الموجبة هي تغير لون الوسط إلى الوردي، ووجود فقاعة هواء داخل أنبوب درهام دليل على إطلاق غاز (الوينداوي وزوين، 2020).

3-2-6 الاختبارات التي أجريت على مصل الدم:

3-2-6-1.تقدير مستوى تركيز البيتا هيدروكسي بيوتريك أسيد BHBA:

تم إجراء قياس تركيز حمض البيتا هيدروكسي زبداوات (βHBA) في مصل الدم باستخدام جهاز المطياف الضوئي (spectrophotometer) و حسب تعليمات الشركة المصنعة باستخدام كيت جاهز من شركة (Randox LRD).

3-2-6-2: تقدير مستوى تركيز الغلوكوز في مصل الدم:

قدر تركيز الغلكوز في البلازما باستخدام عتيدة جهزتها شركة AGAPPE DIAGNOSTICS السويسرية اعتماداً على طريقة (Trinder, 1969) . وتتضمن الطريقة المحاليل الآتية :

1 – كاشف الغلكوز الذي يتكون من 15000 وحدة / لتر من Glucose oxidase ، 92 ملي مول / لتر Tris buffer (pH 7.40) ، 0.03 ملي مول / لتر Phenol و 2.6 ملي مول / لتر 4- Aminophenazone .

2 – غلكوز قياسي (100 ملغم / ديسيلتر) .

مبدأ الطريقة:

في هذه الطريقة يتم أكسدة الغلوكوز الذي يظهر بلون وردي يتناسب مع تركيز الغلوكوز وفق المعادلة التالية:

Glucose + O2 + H2O $\xrightarrow{\text{Glucose oxidase}}$ **gluconic acid + H2O2**

2H2O2 + Phenol + 4-amino-antipyrine $\xrightarrow{\text{peroxidase}}$ **Quinonimine +4H2O**

طريقة العمل

1-اتبعت الخطوات الآتية في تقدير تركيز الكلوكوز:

	أنبوبة عينة البلازما	أنبوبة العينة القياسية	أنبوبة العينة الضابطة
كاشف الغلكوز	2 مل	2 مل	2 مل
البلازما	20 مايكروليتر	-	-
غلكوز قياسي	-	20 مايكروليتر	-
خُلطت الأنابيب جيداً ثم حضنت في حمام مائي بدرجة حرارة 37 م° لمدة 10 دقائق			

2- قرأت الكثافة الضوئية للعينات على طول موجي قدره 505 نانوميتر(490-550 نانوميتر).

3- تم حساب كمية الغلكوز في البلازما استناداً إلى المعادلة الآتية :

$$\text{Concentration of glucose (mg /dl)} = \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of standard}} \times 100 \text{ (mg/dl)}$$

إذ أن :

امتصاصية العينة = Absorbance of sample

امتصاصية الكلوكوز القياسي = Absorbance of standard

3-6-2-3: قياس نشاط أنزيم الكبد (أسبارتات أمينوترانسفيراز) AST :

يقوم الأسبارتات أمينوترانسفيراز (AST أو GOT)، بنقل زمرة الأمين NH2– من الأسبارتات إلى الأوكسوغلوتارات oxoglutarate، مُشكلاً الأوكسالوأسيتات oxaloacetate و الجلوتارات Glutarate، إذ ترجع الاوكسالوأسيتات بوجود المرافق الأنزيمي(NADH) النيكوتين أميد ثنائي نيكلوتيد الهيدروجين، وبوساطة الأنزيم MDH، معطية المالات وتميم الأنزيم NAD (نيكوتين أميد أدنين نيكلوتيد)، وذلك وفق التفاعل الكيميائي التالي الموضح أدناه:

$$L-Aspartate + Oxoglutarate \xrightarrow{AsT} Oxoaloacetate + L.Glutarate$$

$$Oxoaloacetate + NADH + H \xrightarrow{MDH} Malate + NAD^{+}$$

ويعتمد مبدأ الكشف عن نشاط أنزيم (AST) باستخدام المقايسة اللونية، على قياس معدل انخفاض(NADH) الذي يستهلك في هذا التحويل، ويتناسب هذا الاستهلاك بشكل مباشر مع نشاط الأنزيم في العينة حسب طريقة (Gella *et al.*, 1985)، إذ يُجرى الاختبار باستخدام عتيدة تحليل جاهزة (Kit) المُصنع من قبل شركة (BioSystem) ، وتقرأ الكثافة الضوئيَّة (OD) على طول الموجة 334 نانو متر ودرجة الحرارة 30 م°، إذ تُقرأ الكثافة الضوئيَّة كل دقيقة لمدة 3 دقايق متتالية، فيعطى تركيز الأنزيم بالعلاقة الآتية:

U/L= Δ O.D./min X F

$\Delta O.D$ = معدل امتصاصية NADH في الدقيقة.

F : عامل ثابت= 1780.

3-2-6-4: قياس نشاط أنزيم الكبد (ألانين أمينوترانسفيراز) ALT:

اعتمدت المقايسة اللونية التي تعتمد المبدأ الآتي: يقوم أنزيم الألانين الناقل لزمرة الأمين (ALT أو GPT) بتحفيز نقل مجموعة الأمين $-NH_2$ من الحمض الأميني الألانين (Alanine) إلى مركب 2- Oxoglutarate، مُشكلاً البيروفات (Pyruvate) والجلوتامات (Glutamate)، وتتحول الجلوتامات بدورها إلى اللاكتات (Lactate) وفق ما يوضح التفاعل الكيميائي الآتي:

$$\text{Alanine} + 2 - \text{Oxoglutarate} \xrightarrow{\text{ALT}} \text{Pyruvate} + \text{Glutamate}$$

$$\text{Pyruvate} + \text{NADH} \xrightarrow{\text{LDH}} \text{Lactate} + \text{NAD}^+$$

ويعتمد مبدأ الكشف عن نشاط أنزيم ALT، بناءً على معدل الانخفاض الحاصل في تركيز المرافق الأنزيمي (النيكوتين أميد أدنين ثنائي نكليوتيد الهيدروجين) NADH، الذي يتم في وسط قلوي (PH=7.3) إذ إنَّ تركيز الأنزيم الكبدي يتناسب مع معدل انخفاض تركيز المرافق الأنزيمي حسب طريقة (Gella *et al.*,1985) وتمَّ ذلك من خلال قياس الكثافة الضوئيَّة على طول الموجة 340 نانو متر، باستخدام عتيدة تحليل جاهزة (Kit)المُصنعة من قبل شركة (BioSystem)، بتسجيل الامتصاص الأولي intial absorbance ثم بعد كل دقيقة لمدة 3 دقائق متتاليَّة.

ويعتمد قياس تركيز الأنزيم على العلاقة الآتية:

$$U/L = A/min \frac{Vt \times 10^6}{\sum x\, l \times VS}$$

A/min: معدل الامتصاصية لـ NADH في الدقيقة.

Vt: حجم التفاعل الكلي.

$\sum x\, l$: امتصاصية الـ NADH.

Vs: حجم العينة.

3-2-6-5 تقدير الغلسريدات الثلاثية TG (Triglycerides)

قُدرت الغلسريدات الثلاثية بإتباع خطوات عدة أنتجتها شركة AGAPPE DIAGNOSTICS السويسرية وذلك استناداً إلى تعليمات الشركة. وتتألف العدة من المحاليل الآتية:

1- كاشف الغلسريدات الثلاثية الذي يتكون من 50 ملي مول / لتر (pH 7) Pipes-buffer ، 5.3 ملي مول/ لتر من p-Chlorophenol ، 10 ملي مول من Potassium ferrocynate ، 17 ملي مول / لتر من Magnesium salt ، 0.9 ملي مول / لتر من 4-Aminoantipyrine ، 3.15 ملي مول / لتر من ATP ، 1800 وحدة / لتر من Lipoprotein Lipase ، 450 وحدة / لتر من Glycerol Kinase ، 3500 وحدة/ لتر من Glycerol-3-phosphate oxidase و 450 وحدة/ لتر Peroxidase .

2- الغلسريدات الثلاثية القياسية (Standard Triglycerides) 200 ملغم / ديسيلتر .

تتحلل الغلسريدات الثلاثية بشكل إنزيمي إلى الكلسيرول والأحماض الدهنية الحرة وان الكلسيرول الناتج يتفاعل مع Glycerol-3phosphate لينتج H_2O_2 ، إن تركيز الغلسريدات يتعين من خلال التفاعلات الآتية :

$$\text{Triglycerides} + H_2O \xrightarrow{\text{Lipase}} \text{Glycerol} + \text{Fatty acids}$$

$$\text{Glycerol} + ATP \xrightarrow{\text{Glycerokinase}} \text{Glycerol-3-phosphate} + ADP$$

$$\text{Glycerol-3-phosphate} + O_2 \xrightarrow[\text{oxidase}]{\text{Glycerol-3-phosphate}} \text{Dihydroxyacetone phosphate} + H_2O_2$$

$$2H_2O_2 + \text{Parachlorophenol} + \text{4-aminoantipyrine} \xrightarrow{\text{Peroxidase}} \textit{Quinonea}\,\text{min}\,e + 4H_2O$$

طريقة العمل

اتبعت الخطوات الآتية الموضحة في الجدول أدناه :

	العينة الضابطة	العينة القياسية	عينة الاختبار

الكاشف اللوني	2000 مايكروليتر	2000 مايكروليتر	2000 مايكروليتر
عينة البلازما	ـــــ	ـــــ	20 مايكروليتر
الغلسريدات الثلاثية القياسية	ـــــ	20 مايكروليتر	ـــــ
خلطت المواد جيداً وحضنت بحمام مائي درجة حرارته 37 م°لمدة خمس دقائق . قُرأت الكثافة الضوئية للعينات على طول موجي 505 نانوميتر.			

ولغرض استخراج كمية الغلسريدات الثلاثية نستخدم المعادلة الآتية :

$$\text{Triglycerides (mg / dl)} = \frac{\text{Absorbance of sample}}{\text{Absorbance of standard}} \times 200 \text{ (mg /dl)}$$

إذ أن :

Absorbance of sample = امتصاصية العينة

Absorbance of standard = الغلسريدات الثلاثية القياسية

3-2-7 الاختبارات التي أجريت على الحليب:

3-2-7-1. اختبار كاليفورنيا CMT:

يعتمد CMT على قياس محتوى DNA في الحليب بالاعتماد على استخدام مادة مذيبة أيونية Anionic detergent هي (Nkyl-lauryl sulphate) التي تذيب الأغشية والأنوية مؤدية إلى تحرير DNA مكونة هلام مع المذيب، إذ أن زيادة الـ DNA في العينة تزيد من لزوجة الهلام (Ahlner, 2004) .

تم اجراء هذا الاختبار بوضع كميات متساوية من الحليب ومحلول كاليفورنيا في مضرب كاليفورنيا وتمزج جيداً بحركة دائرية خفيفة وبمستوى أفقي لمدة عشر ثوان وتدون النتائج وتصنف حسب درجات التفاعل التي ذكرها (Mellenberger, 2001) إلى ما يأتي :

- سالب Negative (N) : بقاء الحليب طبيعياً خالياً من الترسبات .

- ضئيل (T) Trace : ظهور ترسبات على حواف المحراك عند تدويره .
- موجب (+1) Positive : ظهور ترسبات يمكن تميزها ولا وجود للمادة الغروية .
- موجب (+2) : يصبح المزيج كثيفاً مع تكون المادة الهلامية التي لها القابلية على أن تتجمع في المركز عند تحريك المحراك حركة دائرية .
- موجب (+3) : تزداد لزوجة المزيج وتكون المادة الغروية قوية التكوين وتلتصق على قعر المحراك متخذه شكلاً محدباً.

واعتبر كل من (T ، N) أن الحيوان غير مصاب بالتهاب الضرع تحت السريري واعتبرت كل من (1، 2، 3) أن الحيوان مصاب بالتهاب الضرع تحت السريري، كما اعتبر الحيوان مصاب بالتهاب الضرع تحت السريري في حال إصابة ربع واحد أو أكثر .

3-2-7-2.حساب الخلايا الجسمية في الحليب:

حيث تم أخذ 0.01 مليليتر من عينة الحليب بواسطة الميكروبيبت ونشرت هذه الكمية على شريحة زجاجية في مساحة محددة تساوي 1سم^2، وتركت الشريحة حتى جفت ثم وضت في الزايلول لمدة دقيقة واحدة لغرض إزالة دهن الحليب وبعدها تم غسلها وتجفيفها، ووضعت في كحول إيثيلي 95% لمدة 30 دقيقة ثم غسلت وجففت، وبعدها صبغت بصبغة أزرق الميثلين لمدة دقيقة واحدة ثم تغسل وتجفف وحسب العامل المجهري حيث يمثل هذا العامل الرقم الذي يضرب به معدل الخلايا في الحقل المجهري الواحد ليتم الحصول على الخلايا لكل ملليتر من عينة الحليب، إذ حسبت قيمة هذا العامل كالآتي:

وذلك باستعمال شريحة خاصة Stage Micrometer Slide مقسمة على وحدات كبيرة بأبعاد 0.1 ملم، ووضعت على منصة المجهر بدلاً من شريحة الحليب وجرى الحساب وفق الخطوات الآتية :

1. حساب قطر الحقل المجهري بالمليمترات إلى ثالث مرتبة عشرية.
2. حساب مساحة الحقل المجهري بالمليمترات إلى ثالث مرتبة عشرية.

3. تحويل مساحة الحقل المجهري من المليمترات المربعة إلى السنتمترات المربعة بقسمة مساحة الحقل المحسوب بالمليمترات المربعة على 100.

4. حساب عدد الحقول في 1 سم^2 بقسمة 1 سم^2 على مساحة الحقل الواحد.

5. بما أن 0.01 مل فقط من الحليب منشور على مساحة 1سم^2 ، فقد ضرب عدد الحقول في 100 لتقدير عدد الحقول المجهرية لكل مليلتر من الحليب والقسمة الناتجة تعرف بالعامل المجهري.

وتم عد الخلايا ذات النوى التي ظهر أكثر من نصفها في الحقل المجهري في ثلاثين حقلاً مجهرياً اختيرت بصورة عشوائية وضرب معدل عدد الخلايا في الحقل المجهري الواحد بالعامل المجهري للحصول على العدد التقريبي للخلايا الجسمية كالآتي:(الشربجي، 2015)

$$\text{تعداد الخلايا الجسمية /1 سم}^3 \text{ من الحليب} = \frac{\text{مجموع الخلايا في 30 حقلاً مجهرياً}}{30} \times \text{العامل المجهري}$$

وتم اعتبار الأبقار مصابة بالتهاب الضرع عند مستوى $SCC= 5X10^5$ (Henna *et al.*, 2018)

3-2-7-3.اختبار قياس الاس الهيدروجيني:

اتبعت طريقة (AOAC, 2005) في قياس تركيز الأس الهيدروجيني للحليب باستخدام جهاز PH meter، حيث تم غسل القطب Electrode بالماء المقطر والمعقم وغمر بالحليب وترك لبضع دقائق إلى حين استقرار المؤشر. وتم قراءة درجة الـ PH .

وتم اعتبار الأبقار مصابة بالتهاب الضرع عند درجة pH= 6.9 (Henna *et al.*, 2018)

3-2-7-4.اختبار الكشف عن وجود الاجسام الكيتونية في الحليب:

يستخدم اختبار Ross على نطاق واسع ، يتألف الكاشف من مزيج من جزء واحد من مسحوق النتروبروسايد الصوديوم Sodium Nitroprusside ممزوجاً مع 100 جزء من كبريتات الامونيوم Ammonium Sulphate مع هيدروكسيد الامونيوم المركز Ammonium Hydroxide .

تم استخدام 2 غم من الخليط واذيب في 5 مل من الحليب وتم رج المزيج أضيف اليه 1-2 مل من هيدروكسيد الامونيا المركز لكي يشكل طبقة فوق المزيج عند وجود أجسام كيتون يظهر لون ارجواني مائل إلى اسود وتعتمد عتمة اللون على درجة وجود الكيتونات في العينة (Coles, 1989).\

3-2-8. الاختبارات التي أجريت على البول:

3-2-8-1.اختبار الكشف عن وجود الاجسام الكيتونية في البول:

تم اجراء هذا الاختبار باستخدام الكاشف بعد أن تم تحضير عينة البول إذ يوضع كمية 0.25 غ من الكاشف المذكور في الفقرة السابقة (3-2-7-4)على ورقة ترشيح ثم أضيف اليها 1-2 قطرة من البول. الظهور السريع للون الأرجواني يدل على وجود الأجسام الكيتونية (Kelly, 1979).

3-3: التحليل الإحصائي: Statistical Analysis

تم حساب نسبة الانتشار باستخدام برنامج (Excel 2010) ، وتم تحليل الخطورة النسبية للعوامل الوبائية (العمر، عدد الولادات، الفترة بعد الولادة، الأنتاج) باستخدام برنامج Epi-Info الاحصائي (Epi-Info V.7.2) كما تم استخدام البرنام الإحصائي (Spss) الإصدار 21 لحساب المعدل والأنحراف المعياري والفروق المعنوية وعوامل الارتباط.

كما تم تقدير الحساسية (Sensitivity) والنوعية (Specificity) وقيم التنبؤ الموجبة (Positive predictive value) و السالبة (Negative predictive value) استناداً إلى (Szenci *et al.*, 1998) ووفق المعادلات الآتية :

$$\text{Sensitivity} = \frac{a \times 100}{a + d}$$

إذ أن :
a = عدد الأبقار المشخص إصابتها بشكل صحيح.
d = عدد الأبقار المشخصة غير مصابة بشكل خاطئ

$$\text{Specificity} = \frac{c \times 100}{c + b}$$

إذ أن :
c = عدد الأبقار المشخصة غير مصابة بشكل صحيح.
b = عدد الأبقار المشخصة مصابة بشكل خاطئ .

$$\text{Positive predictive value} = \frac{a \times 100}{a + b}$$

إذ أن :
a و b تم توضيحهما أعلاه.

$$\text{Negative predictive value} = \frac{c \times 100}{c + d}$$

إذ أن :
c و d كما موضح أعلاه.

رقم الحالة: العنوان:								
العمر		4 سنوات وأقل			أكبر من 4 سنوات			
عدد الولادات السابقة		أقل من 3 ولادات			ثلاث ولادات فأكثر			
الفترة بعد الولادة		أكثر من 3 أسابيع			3 أسابيع وأقل			
الإنتاج		منخفض		متوسط		مرتفع		
درجة الحرارة		حركات الكرش		النبض		تردد التنفس		
ملاحظات:								

الشكل رقم (3-1): الاستبيان المتعلق بالحيوانات المفحوصة

النتائج

RESULTS

النتائج

Results

4-1. انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي:

4-1-1. حسب اختبار كاليفورنيا CMT واختبار الزرع الجرثومي:

تظهر النتائج الموضحة في الجدول رقم (4-1) نسبة انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار باستخدام اختبار كاليفورنيا إذ تبين أن نسبة 60% من الأبقار المفحوصة مصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي وأن 40% من الأبقار المفحوصة سليمة حسب الاختبار.

بينما كان الزرع الجرثومي إيجابياً في 57% من الأبقار المشمولة بالدراسة و بالتالي فإن نسبة الأبقار السلبية لإلتهاب الضرع دون الإكلينيكي حسب الزرع الجرثومي بلغت 43%.

الجدول رقم (4-1): نتائج اختبار كاليفورنيا والزرع الجرثومي للكشف عن التهاب الضرع دون الإكلينيكي

	اختبار كاليفورنيا		الزرع الجرثومي	
عدد الابقار المفحوصة (200)	مصابة	سليمة	إيجابي	سلبي
	200/120 (%60)	200/80 (%40)	200/114 (%57)	200/86 (%43)

أظهرت نتائج الفحص الجرثومي (العزل الجرثومي، الخواص الشكلية والتلوينية، الخواص المزرعية، الاختبارات الكيمياحيوية للعزولات) لعينات الحليب المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي، عزل وتشخيص المسببات الجرثومية التالية: المكورات العنقودية الذهبية إيجابية المخثراز، المكورات العنقودية سالبة المخثراز، المكيرات الدقيقة، الإشريكية القولونية، العقدية الأجلكتية، المكورة المعوية البرازية، جنس العصيات إيجابية الغرام.

إذ شكلت العنقودية الذهبية حوالي (20.18%) كمسبب وحيد أعلى نسبة عزل كما بلغت نسبة العينات التي احتوت على العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية (8.77%)، تلتها المكورات العقدية الأجلكتية بنسبة عزل (18.42%)، وعصيات الإشريكية القولونية (15.79%)، والمكورات العنقودية سالبة المخثراز بنسبة (12.28%)، و الأمعائيات (9.65%)، والعصيات إيجابية الغرام Bacillus spp (4.14%)، والمكورات المعوية البرازية (5.26%) والمكيرات الدقيقة (3.51%). جدول رقم (4-2).

جدول رقم (4-2): يظهر نتائج التشخيص الجرثومي والنسب المئوية لتواجدها

نوع المسبب المرضي	عدد الحالات الإيجابية	النسبة المئوية
المكورات العنقودية الذهبية إيجابية المخثراز	23	%20.18
العقدية الأجلكتية	21	%18.42
الإشريكية القولونية	18	%15.79
المكورات العنقودية سالبة المخثراز	14	%12.28
أمعائيات	11	%9.65
الإشريكية القولونية + العنقودية الذهبية	10	%8.77
جنس العصيات إيجابية الغرام Bacillus spp	7	%6.14
المكورة المعوية البرازية	6	%5.26
المكيرات الدقيقة	4	%3.51

4-1-2. حسب اختبار تعداد الخلايا الجسمية وقياس pH الحليب:

أظهرت النتائج أن نسبة انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي حسب تعداد الخلايا الجسمية في الحليب بلغت 65% وبنسبة حساسية بلغت 100% ونسبة نوعية بلغت 87.5%، أما نسبة الانتشار حسب اختبار قياس قيمة pH الحليب فقد بلغت 73.5% وبنسبة حساسية بلغت 93.3% ونسبة نوعية بلغت 56.2% جدول رقم (4-3)

جدول رقم (4-3): تشخيص التهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار باستخدام اختباري تعداد الخلايا الجسمية في الحليب و قياس قيمة pH الحليب

	نسبة الانتشار		الحساسية	النوعية	قيم التنبؤ الموجبة	قيم التنبؤ السالبة
	عدد الحالات الموجبة	النسبة				
اختبار تعداد الخلايا الجسمية	141	%65	%100	%87.5	%92.3	%100
اختبار قياس pH	147	%73.5	%93.3	%56.2	%76.1	%84.9

4-2. تأثير التهاب الضرع دون الإكلينيكي على قيم الـpH وتعداد الخلايا الجسمية:

أظهرت النتائج الموضحة في الجدول رقم (4-4) تأثير التهاب الضرع دون الإكلينيكي على كل من درجة الـ pH الحليب وتعداد الخلايا الجسمية حيث أظهرت النتائج وجود فروق معنوية في قيمة pH الحليب ما بين مجموعة عينات الحليب التي شخصت على أنها مصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي ومجموعة عينات الحليب التي شخصت على أنها سليمة إذ أن درجة الـpH كانت أعلى في عينات الحليب المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي، كما بينت النتائج وجود فروق معنوية في تعداد الخلايا الجسمية في الحليب ما بين مجموعة عينات الحليب التي شخصت على أنها مصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي

ومجموعة عينات الحليب التي شخصت على أنها سليمة إذ تبين أن تعداد الخلايا الجسمية كان أعلى في عينات الحليب المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي.

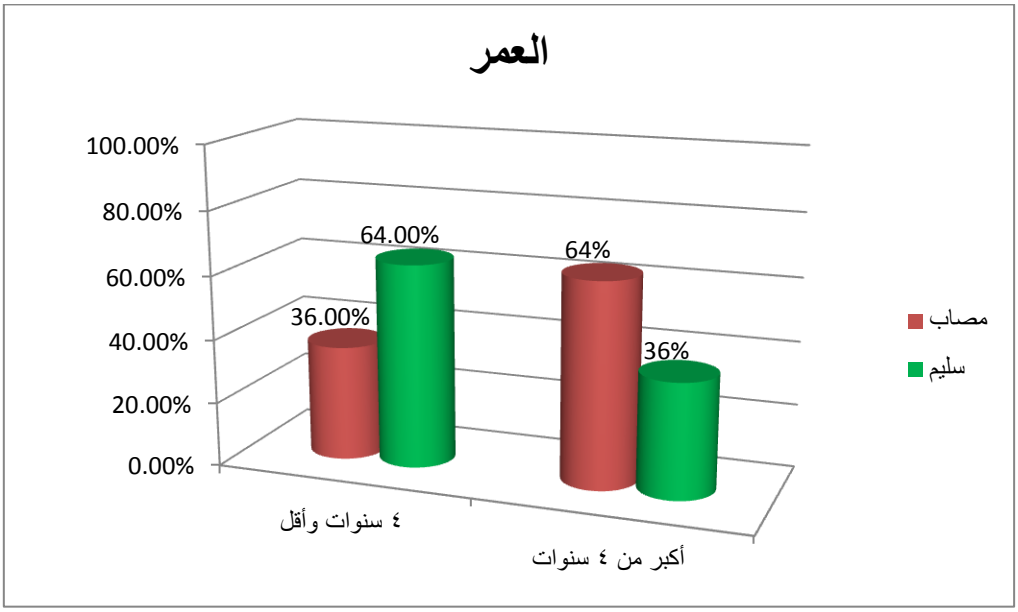
الجدول (4-4): نتائج قياس pH الحليب وتعداد الخلايا الجسمية

	المتوسط الحسابي± الانحراف المعياري	
	مجموعة العينات الإيجابية لاختبار كاليفورنيا (210) عينة	مجموعة العينات السلبية (590) عينة
درجة pH الحليب	$7.24^{a}\pm0.13$	$6.61^{b}\pm0.15$
تعداد الخلايا الجسمية	$8.07 \times 10^{6\ a} \pm 3.64 \times 10^{5}$	$2.25 \times 10^{4\ b} \pm 8.97 \times 10^{3}$

تشير الاحرف المختلفة في الصف الواحد الى وجود فروق معنوية عند مستوى $p\leq0.05$

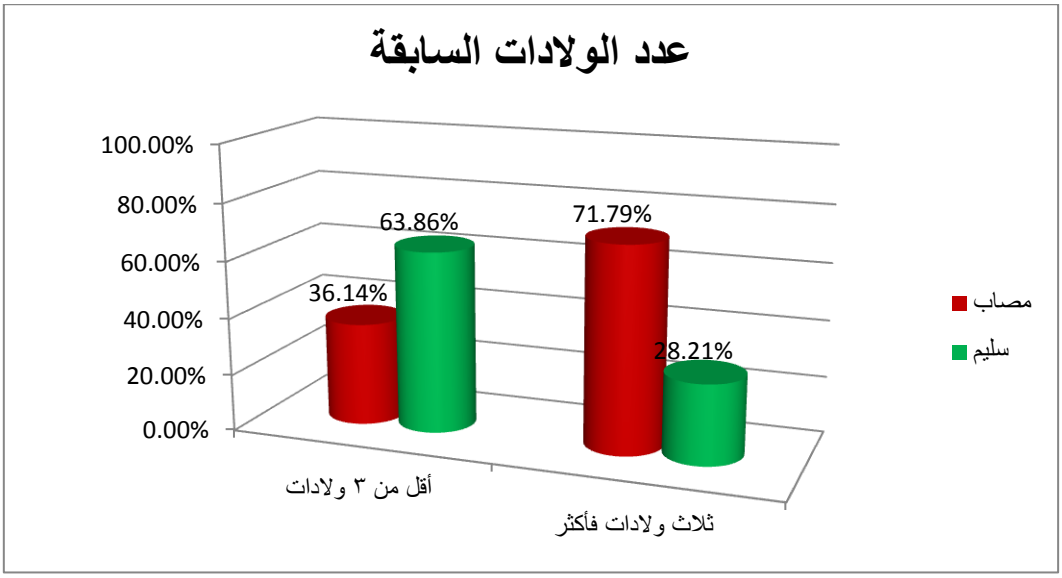
4-3. عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي:

أظهرت النتائج أن الحيوانات المفحوصة التي عمرها يزيد عن 4 سنوات كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 64% مقارنة بالحيوانات التي عمرها أصغر أو يساوي 4 سنوات إذ بلغت نسبتها 36% (مخطط رقم 4-1) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.77, CI=1.41 – 2.55) جدول رقم (4-5).



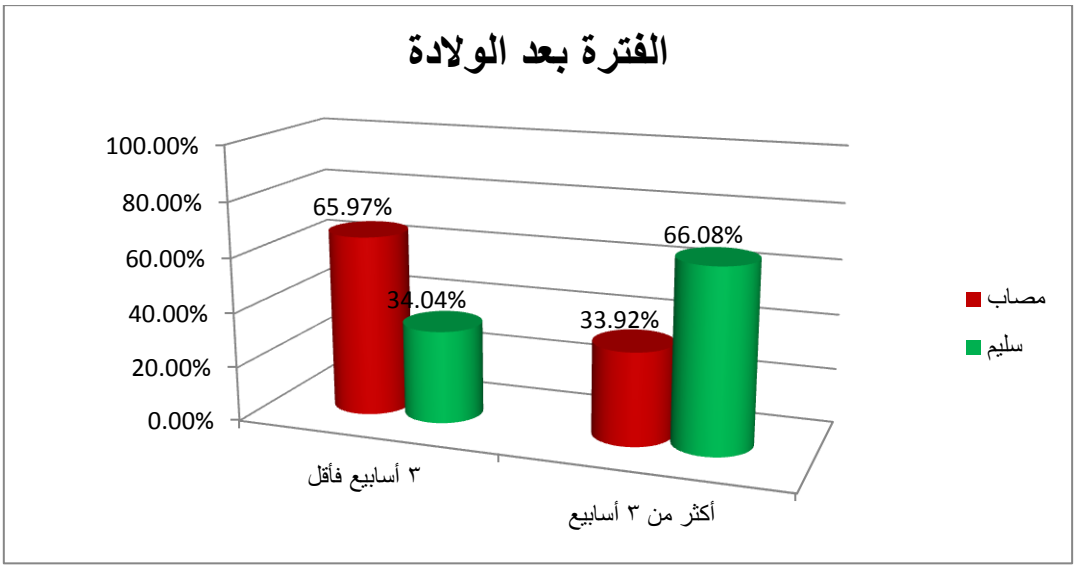
مخطط رقم (4-1): يبين نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب العمر

كما بينت النتائج أن الحيوانات المفحوصة التي بلغ عدد الولادات عندها أكثر من ثلاث ولادات أو يساويها كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 71.79% مقارنة بالحيوانات التي بلغ عدد الولادات عندها أقل من ثلاث ولادات إذ بلغت نسبتها 36.14% (مخطط رقم 4-2) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.99, CI=1. 4 – 2.78) جدول رقم (4-5).



مخطط رقم (4-2): يبين نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب عدد الولادات السابقة

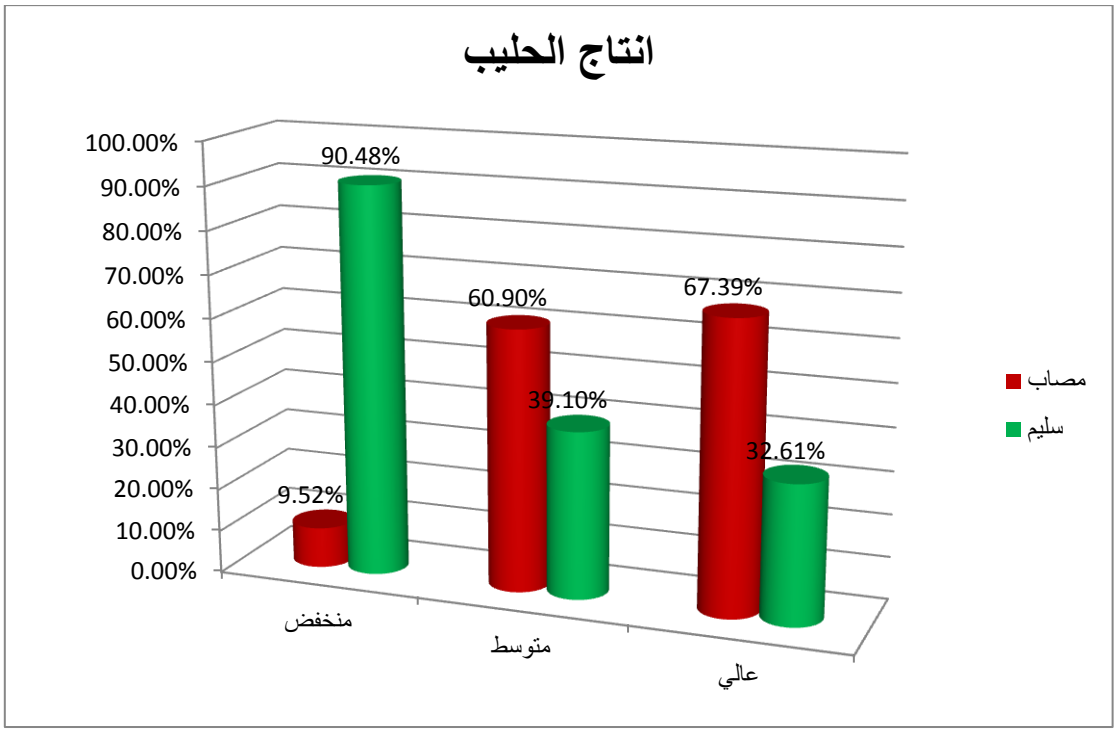
في حين تبين أن الحيوانات في الفترة بعد الولادة أقل من ثلاث اسابيع أو يساويها كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 65.97% مقارنة بالحيوانات في الفترة بعد الولادة أكثر من ثلاث أسابيع إذ بلغت نسبتها 33.92% (مخطط رقم 4-3) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.88, CI=1.46 – 2.62) جدول رقم (4-5).



مخطط رقم (4-3): يبين نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الفترة بعد الولادة

كما تبين أن الحيوانات ذات الإنتاج المتوسط كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 60.9% مقارنة بالحيوانات ذات الإنتاج المنخفض إذ بلغت نسبتها 9.52% (مخطط رقم 4- 4) وبمعامل خطورة نسبية (RR=6.41, CI=1.89 – 20.69) جدول رقم (4-5).

كما أن الحيوانات ذات الإنتاج العالي كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 67.39% مقارنة بالحيوانات ذات الإنتاج المنخفض إذ بلغت نسبتها 9.5% (مخطط رقم 4-9) وبمعامل خطورة نسبية (RR=7.09, CI=1.99 – 24.5) جدول رقم (4-5).



مخطط رقم (4-4): يبين نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الانتاج

جدول رقم (4-5): عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي

عوامل الخطورة	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات الإيجابية	الخطورة النسبية	مستوى الثقة
العمر				
4 سنوات وأقل	50	18(%36)	1	
أكبر من 4 سنوات	150	96(%64)	1.77	2.55 – 1.41
عدد الولادات				
أقل من 3 ولادات	83	30(%36.14)	1	
ثلاث ولادات فأكثر	117	84(%71.79)	1.99	2.78 – 1.4
الفترة بعد الولادة				
أكثر من 3 أسابيع	56	19(%33.92)	1	
3 أسابيع وأقل	144	95(%65.97)	1.88	2.62 – 1.46
انتاج الحليب				
منخفض	21	2(%9.52)	1	
متوسط	133	81(%60.9)	6.41	20.69 – 1.89
عالي	46	31(%67.39)	7.09	24.5 – 1.99

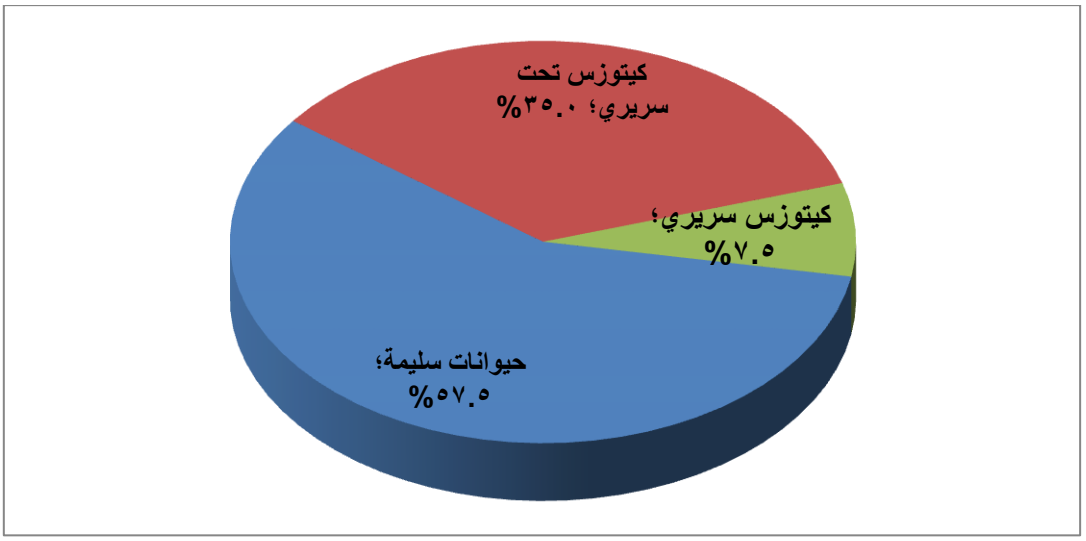
4-4. انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي:

4-4-1 حسب اختبار قياس βHBA:

تظهر النتائج الموضحة في الجدول رقم (4-6) والمخطط رقم (4-5) نسبة انتشار الكيتوزس عند الأبقار بالأعتماد على تركيز βHB في مصل الدم، حيث بلغت نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 35%، كما بلغت نسبة انتشار الكيتوزس الإكلينيكي 7.5%، في حين بلغت نسبة الحيوانات التي كان فيها تركيز الـ βHB أقل من 1.2 ميليمول/ ليتر 57.5% والتي عدت كمجموعة شاهد للمقارنة، كما يوضح الجدول رقم (4-6) نتائج اختبار قياس تركيز βHB إذ بلغ 0.77، 1.56، 3.61 ميليمول/ ليتر في كل من الحيوانات السليمة والمصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي والمصابة بالكيتوزس الإكلينيكي على التوالي.

الجدول رقم (4-6): يبين نسبة انتشار الكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي عند الابقار في المنطقة الوسطى من سورية

	نقاط القطع	βHB±SD mmol/l	عدد الحالات	النسبة المئوية
سليم	BHB < 1.2	0.77±0.136	115/200	%57.5
كيتـــــوزس دون إكلينيكي	1.2< BHB >2.9	1.56±0.133	70/200	%35
كيتوزس إكلينيكي	BHB > 2.9	3.61±0.463	15/200	%7.5



مخطط رقم (4-5): يبين نسبة انتشار الكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي عند الأبقار في المنطقة الوسطى من سورية

4-4-2. نسبة الانتشار حسب اختبار وجود الأجسام الكيتونية في البول والحليب:

أظهرت النتائج أن نسبة انتشار الكيتوزس حسب الكشف عن وجود الأجسام الكيتونية في البول بلغت 39% وبنسبة حساسية بلغت 90.9% ونسبة نوعية بلغت 93.4%، ، أما نسبة الانتشار حسب وجود الأجسام الكيتونية في الحليب فقد بلغت 37% وبنسبة حساسية بلغت 80.9% ونسبة نوعية بلغت 94.8%، ، جدول رقم (4-7).

جدول رقم (4-7): تشخيص الكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي عند الأبقار باستخدام اختباري الكشف عن الأجسام الكيتونية في البول والحليب

	نسبة الانتشار		الحساسية	النوعية	قيم التنبؤ الموجبة	قيم التنبؤ السالبة
	عدد الحالات الموجبة	النسبة				
حسب وجود الأجسام الكيتونية في البول	78	%39	%90.9	%93.4	%89.7	%94.2
حسب وجود الأجسام الكيتونية في الحليب	74	%37	%80.9	%94.8	%91.8	%87.3

4-5.تأثير الكيتوزس على المؤشرات الكيمياحيوية:

أظهرت نتائج الاختبارات الكيمياحيوية في الحيوانات المصابة وجود فروق معنوية عند مستوى $p\leq0.05$ ما بين الحيوانات المصابة بالكيتوزس ومجموعة الحيوانات غير المصابة (الشاهد)، إذ تبين النتائج انخفاض في مستوى تركيز الغلكوز في كل من الأبقار المصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي والكيتوزس الإكلينيكي مقارنة مع مجموعة الشاهد.

كما تبين النتائج ارتفاع في قيم كل من AST و ALT في كل من الأبقار المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي مقارنة مع مجموعة الشاهد، بينما تبين وجود انخفاض في قيم TG في كل من الأبقار المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي مقارنة مع مجموعة الشاهد جدول رقم(4-8).

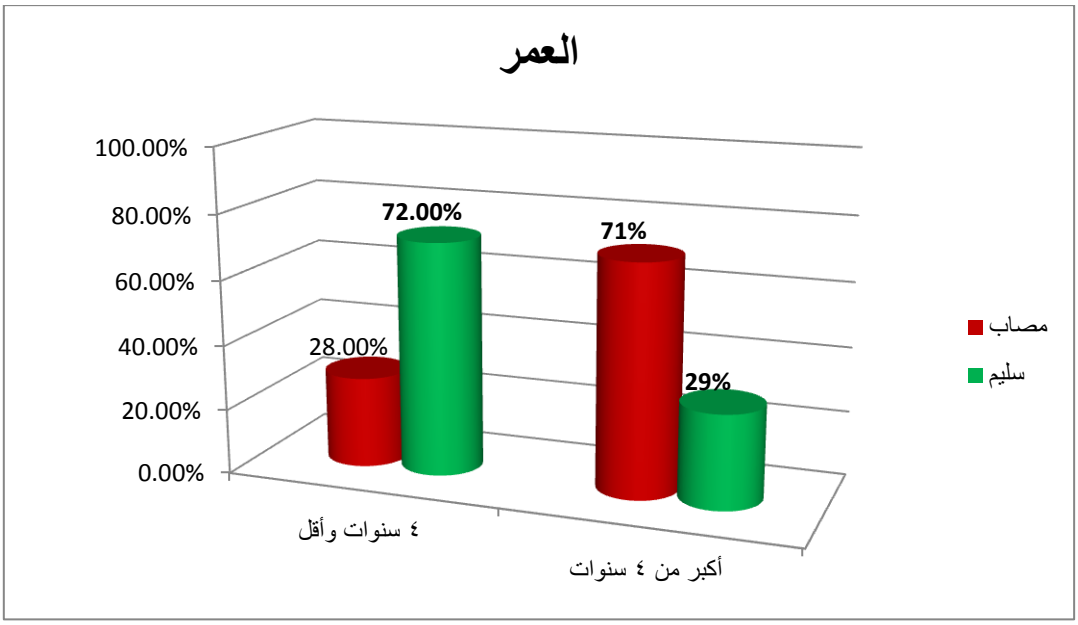
الجدول رقم (4-8): يبين معدل بعض المؤشرات الدموية الكيمياحيوية عند حيوانات الدراسة

المتوسط الحسابي ± الانحراف المعياري			
	سليم (الشاهد)	كيتوزس دون إكلينيكي	كيتوزس إكلينيكي
BHB mmol/l	^{a}0.77±0.136	^{b}1.56±0.133	^{c}3.61±0.463
Glu mg/dl	^{a}70.74±9.39	^{b}43.28±5.91	^{c}35.79±3.1
AST U/L	^{a}75.4±9.06	^{b}107.2±7.81	^{c}149.24±13.51
ALT U/L	^{a}25.47±2.86	^{b}34.91±2.38	^{c}39.66±1.61
TG mg/dl	^{a}176.2±4.37	^{b}159±6.36	^{c}133.13±4.9

تشير الأحرف المختلفة في الصف الواحد الى وجود فروق معنوية عند مستوى احتمالية ($p\leq0.05$)

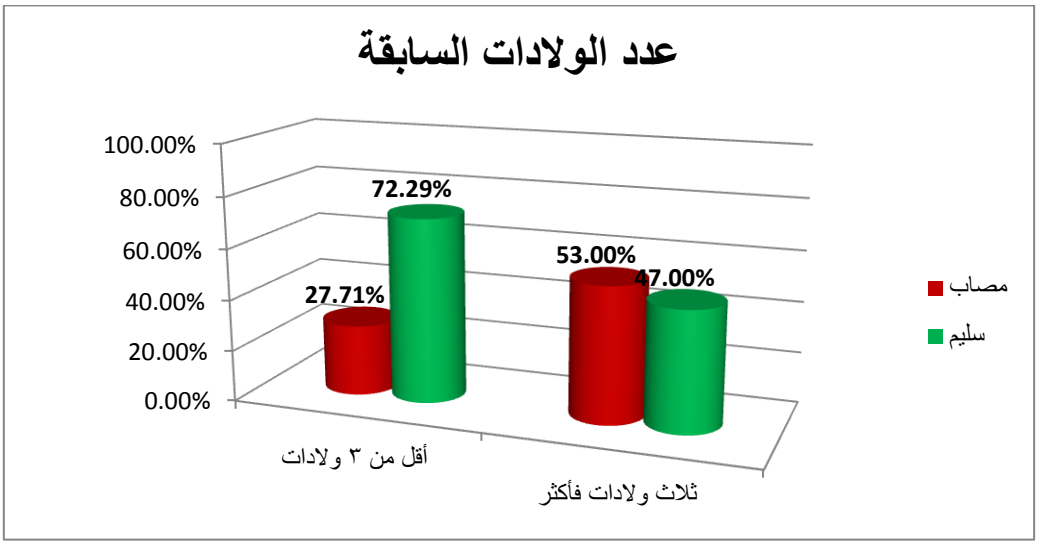
4-6. عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي:

أظهرت النتائج أن الحيوانات المفحوصة التي عمرها أكبر من 4 سنوات كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 71% مقارنة بالحيوانات التي عمرها أصغر أو يساوي 4 سنوات إذ بلغت نسبتها 29% (مخطط رقم 4-6) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.69, CI=1.02 – 2.65) جدول رقم(4-9).



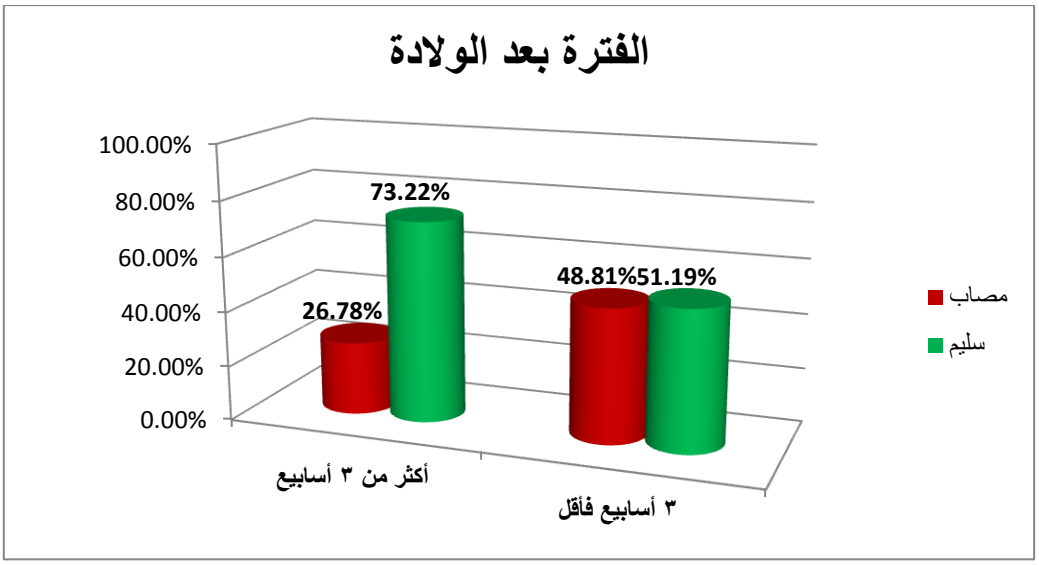
مخطط رقم (4-6): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب العمر

كما بينت النتائج أن الحيوانات المفحوصة التي بلغ عدد الولادات عندها أكثر من ثلاث ولادات أو يساويها كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 53% مقارنة بالحيوانات التي بلغ عدد الولادات عندها أقل من ثلاث ولادات إذ بلغت نسبتها 27.71% (مخطط رقم 4-7) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.99, CI=1. 2 – 2.59) جدول رقم (4-9).



مخطط رقم (4-7): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب عدد الولادات السابقة

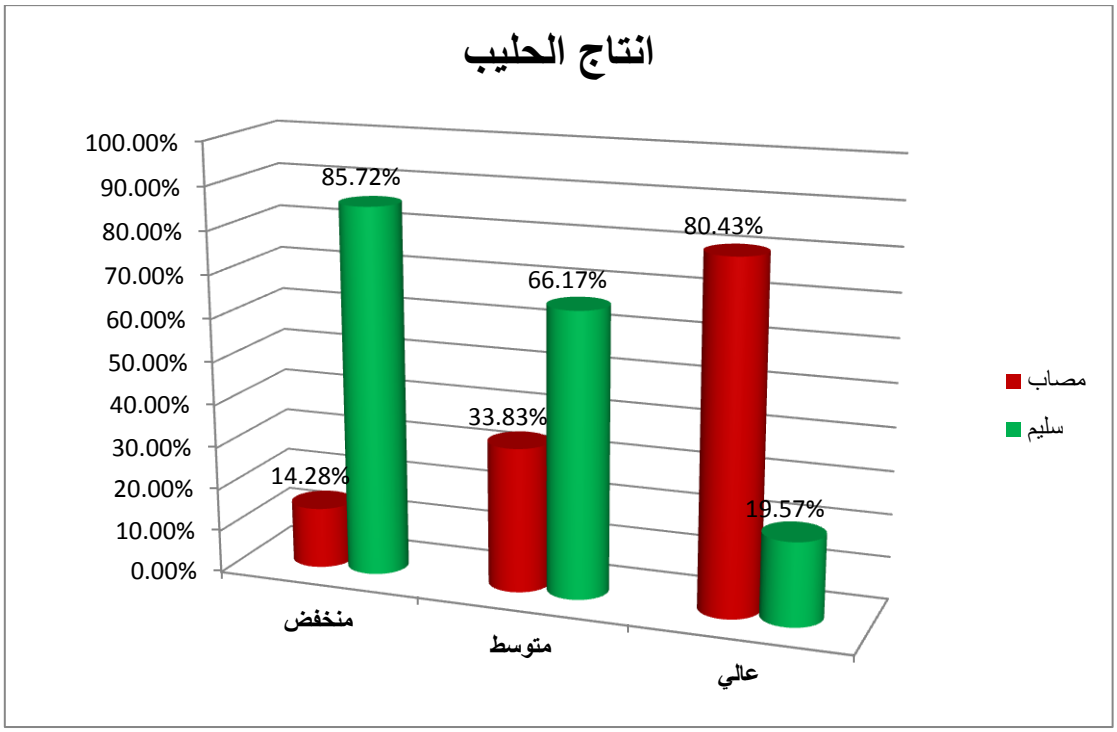
في حين تبين أن الحيوانات في الفترة بعد الولادة أقل من ثلاث اسابيع أو يساويها كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 48.81% مقارنة بالحيوانات في الفترة بعد الولادة أكثر من ثلاث أسابيع إذ بلغت نسبتها 26.78% (مخطط رقم 4- 8) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.82, CI=1.23 – 3.08) جدول رقم (4-9).



مخطط رقم (4- 8): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الفترة بعد الولادة

كما تبين أن الحيوانات ذات الإنتاج المتوسط كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 33.83% مقارنة بالحيوانات ذات الإنتاج المنخفض إذ بلغت نسبتها 14.28% (مخطط رقم 4-9) وبمعامل خطورة نسبية (RR=2.38, CI=0.76 – 6.58) جدول رقم (4-9).

كما أن الحيوانات ذات الإنتاج العالي كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 70.43% مقارنة بالحيوانات ذات الإنتاج المنخفض إذ بلغت نسبتها 14.28% (مخطط رقم 4- 9) وبمعامل خطورة نسبية (RR=5.66, CI=1.55 – 7.01) جدول رقم (4-9).



مخطط رقم (4-9): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي عند الأبقار حسب الانتاج

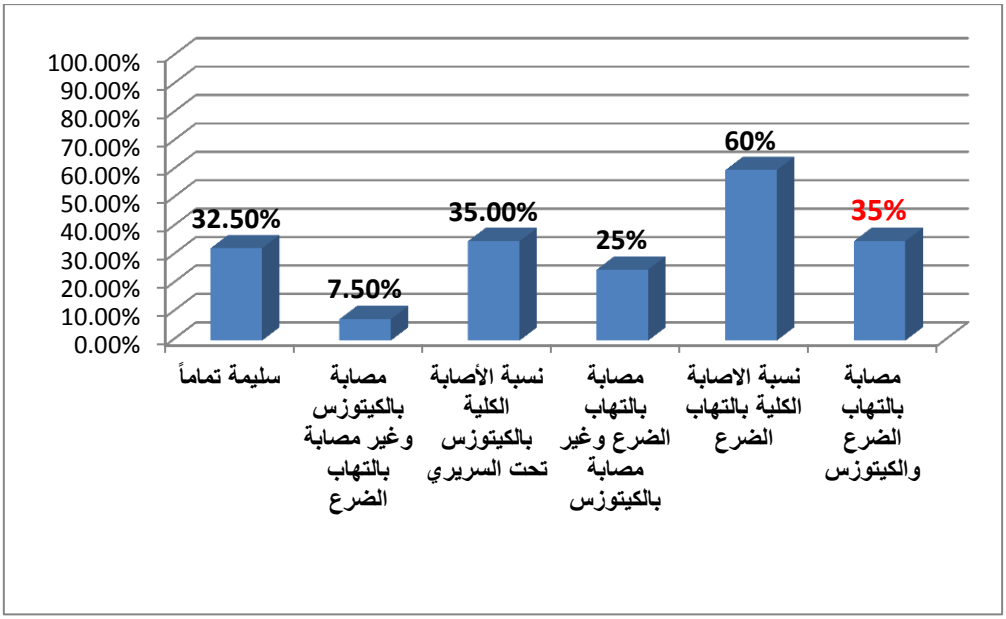
جدول رقم (4-9): عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي

عوامل الخطورة	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد الحيوانات الموجبة	الخطورة النسبية	مستوى الثقة
العمر				
4 سنوات وأقل	50	14(%28)	1	
أكبر من 4 سنوات	150	71(%47.33)	1.69	2.65 – 1.02
عدد الولادات				
أقل من 3 ولادات	83	23(%27.71)	1	
ثلاث ولادات فأكثر	117	62(%53)	1.99	2.59 – 1.2
الفترة بعد الولادة				
أكثر من 3 أسابيع	56	15(%26.78)	1	
3 أسابيع وأقل	144	70(%48.61)	1.82	3.08 – 1.23
انتاج الحليب				
منخفض	21	3(%14.28)	1	
متوسط	133	45(%33.83)	2.38	6.58 – 0.76
عالي	46	37(%80.43)	5.66	7.01 – 1.55

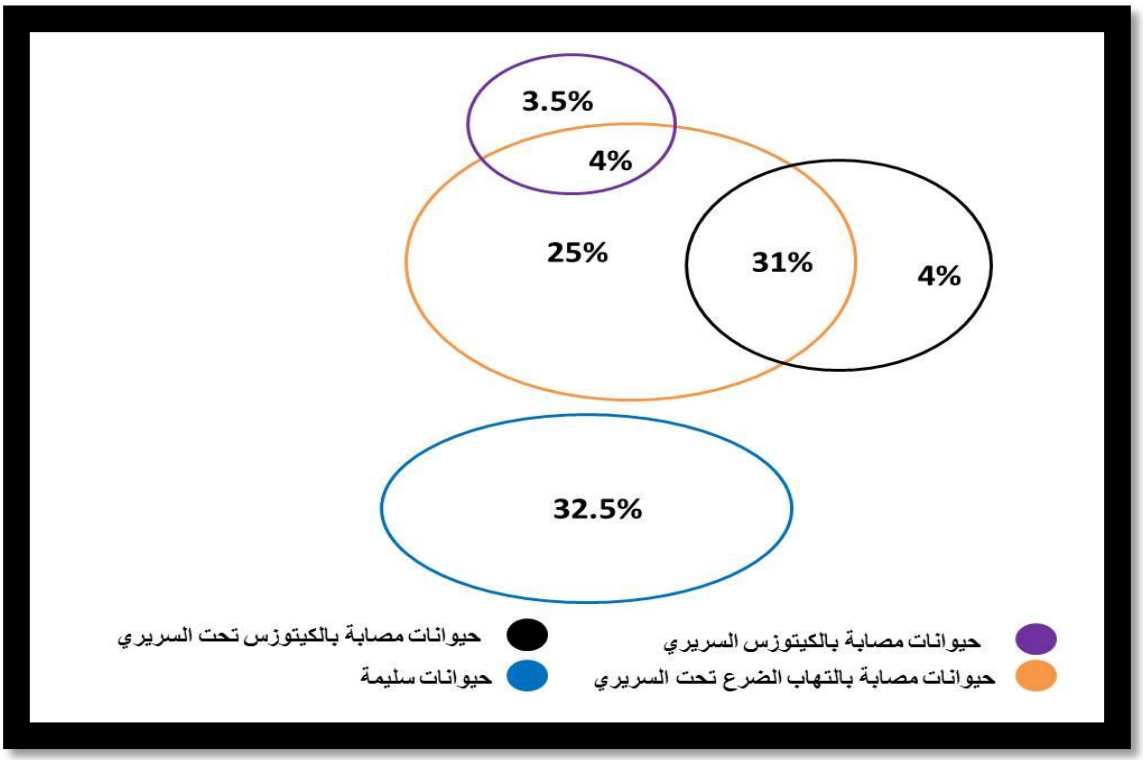
4-7. العلاقة ما بين الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي:

أظهرت النتائج أن الحيوانات المصابة بالكيتوزس كانت أكثر عرضة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها 35% من مجمل الحيوانات الكلية ضمت نسبة 31% مصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي و 4% مصابة بالكيتوزس الإكلينيكي مقارنة بالحيوانات المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي وغير المصابة بالكيتوزس التي بلغت نسبتها 25% من مجمل الحيوانات الكلية مخطط رقم (4-10)، مخطط رقم (4-11) وبمعامل خطورة نسبية (RR=1.89), جدول رقم (4-10).

بحساب معامل الارتباط Phi تبين أن العلاقة بين الكيتوزس والتهاب الضرع دون الإكلينيكي هي علاقة طردية ، حيث يوجد علاقة ارتباطية ذات دلالة إحصائية عند مستوى $\alpha = 0.05$ إذ بلغت قيمة معامل الأرتباط Phi= 0.39.



مخطط رقم (4-10): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي والتهاب الضرع ودون الإكلينيكي عند الأبقار



مخطط رقم (4-11): يبين نسبة الإصابة بالكيتوزس الإكلينيكي ودون الإكلينيكي والتهاب الضرع ودون الإكلينيكي عند الأبقار

الجدول رقم (4-10) :معامل الخطورة النسبية ومعامل الأرتباط بين الكيتوزس والتهاب الضرع

المعامل	القيمة
معامل الخطورة النسبية	1.89
معامل الارتباط Phi	0.39

4-8. الأعراض الإكلينيكية الظاهرة على الحيوانات المصابة:

بينت نتائج الدراسة الحالية أن معظم الحيوانات التي كانت مصابة بالكيتوزس كانت مصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي وأظهرت هذه الحيوانات علامات إكلينيكية غير مميزة تمثلت بفقدان الشهية الجزئي وانخفاض متباين في انتاج الحليب، بينما أظهرت الحيوانات المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي علامات إكلينيكية تمثلت بانخفاض حاد في إنتاج الحليب، وفقدان في الوزن وفقدان في الشهية وانتقائية في تناول العلف، وانخفاض في حركات الكرش وظهور رائحة الأسيتون في الحليب والبول.

كما أظهرت النتائج عدم وجود فروق معنوية عند مستوى $p<0.05$ في المؤشرات الحيوية لمعدل النبض ومعدل التنفس ودرجة الحرارة باستثناء وجود فرق معنوي بمعدل حركات الكرش في الحيوانات في الحيوانات المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي والحيوانات المصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي والحيوانات المصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع دون الإكلينيكي معاً مقارنة مع الحيوانات السليمة جدول رقم (4-11).

جدول رقم (4-11): بعض المؤشرات الحيوية في أبقار الدراسة

	درجة الحرارة	معدل التنفس /د	معدل ضربات القلب/د	معدل حركات الكرش /5د
سليم	0.34± 38.3^{a}	2.3 ± 28.5^{a}	4.3±55.8^{a}	1.35 ± 11.3^{a}
كيتوزس دون إكلينيكي	0.26 ± 37.9^{a}	3.1 ± 27.2^{a}	5.2 ± 58.3^{a}	1.2 ± 6.6^{b}
كيتوزس إكلينيكي	0.44± 38.4^{a}	3.4 ± 30.4^{a}	3.4 ±60.2^{a}	0.5 ± 3.5^{b}
التهاب الضرع دون الإكلينيكي	0.36 ±38.4^{a}	5.5 ± 28.2^{a}	6.3 ± 53.6^{a}	0.8 ± 10.4^{a}
كيتوزس والتهاب الضرع	0.46 ± 38.2^{a}	4.1 ± 27.9^{a}	4.6 ± 57.9^{a}	1.1 ± 4.7^{b}

تشير الأحرف المختلفة ضمن العمود الواحد إلى وجود فروق معنوية عند مستوى $p< 0.05$

المناقشة

DISCUSSION

المناقشة

5-1- نتائج الزرع الجرثومي:

أظهرت نتائج العزل الجرثومي وجود 114 عزلة جرثومية عائدة الى أجناس مختلفة، والجدول (4-2) يوضح توزيع هذه الجراثيم، كما يوضح سيادة جنس المكورات العنقودية على غيره من الأجناس في إحداث مرض التهاب الضرع، والنسبة الأكبر من العزلات تعود للنوع *Staphylococcus aureus* 20.18% وهذا يتوافق مع ما ذكرته (Thorberg, 2008) من أن *S. aureus* تعتبر من أهم مسببات مرض التهاب الضرع، يليها جراثيم المكورات العقدية الأجلكتية فالإيشريكية القولونية *E.coli*، في حين أشار (Kayesh *et al.*,2014) إلى أن أهم المسببات الجرثومية لمرض التهاب الضرع الإكلينيكي ودون الإكلينيكي خلال جميع فصول السنة هي جراثيم *S. aureus*. وفي دراسة أجراها (Shitandi *et al.*, 2004) إذ بلغت نسبة جنس المكورات العنقودية 55.3% في حين توصلت الباحثة (El–Rashidy *et al.* , 1996) في مصر إلى أن الـ *E.coli* كانت أكثر المسببات الجرثومية المسؤولة عن حالات التهاب الضرع بنسبة 45.25% يليها جنس المكورات العنقودية بنسبة 23.45% والمكورات العقدية 7.59%، وهذه الدراسة لا تتفق مع ما سجله كل من الباحثين (Kudinha & Simango, 2002) في زيمبابوي من أن الجراثيم المعوية هي المسبب الرئيس لحالات التهاب الضرع الإكلينيكي بنسبة 31.4%، لكن جراثيم *S. aureus* كانت هي المسبب الرئيس لحالات الإصابة دون الإكلينيكية بنسبة 34.2%، كما أشارت دراسات سابقة (Cervincova *et al.*, 2013; Bjork *et al.*, 2014) إلى أن المكورات العنقودية سالبة المخثراز هي المسبب الاساسي لالتهاب الضرع دون الإكلينيكي، وهذا التباين في النسب والعزلات الجرثومية ربما يعود إلى الاختلاف الحاصل بين بلد وآخر أو منطقة وأخرى من حيث المناخ والجراثيم المتواجدة في البيئة المحيطة . الملاحظ في الدراسات المحلية سيادة جراثيم المكورات العنقودية على غيرها من الجراثيم إذ أظهرت نتائج (المسالمة وحداد، 2020) أن الجراثيم من جنس المكورات العنقودية الذهبية هي الأكثر انتشاراً في حالات التهاب الضرع

دون الإكلينيكي إذ بلغت نسبتها (52.28%) تلتها المكورات العقدية (20.91%) ثم جراثيم الأمعائيات (15.68%)، وفي دراسة أجراها (جبلاوي ودريوس، 2003) في محافظة اللاذقية تبين أن أكثر المسببات المرضية المعزولة من التهاب الضرع دون الإكلينيكي هي : المكورات العنقودية الذهبية تليها الإشريكية القولونية، تليها العقدية الأجلكتية، تليها العنقودية البشروية، كما وجد (رشود، 2013) أن أعلى نسبة انتشار لمسبب التهاب الضرع هو لجراثيم العنقودية الذهبية بنسبة (31%) وذلك بسبب ما تملكه جراثيم العنقودية الذهبية من عوامل ضراوة لإحداث العملية الإمراضية.

5-2- انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي:

من خلال نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول رقم (4-1)، يتضح أن النسبة المئوية للأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي، التي شملتها هذه الدراسة، قد بلغت 60% باستخدام اختبار CMT، و65% باستخدام اختبار تعداد الخلايا الجسمية، و73.5% حسب اختبار قياس قيمة pH الحليب وتبدو هذه النسبة مرتفعة عند مقارنتها مع النسب التي توصلت إليها الدراسات الأخرى حيث وجد (جبلاوي ودريوس، 2003) أن نسبة انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي باستخدام اختبار كاليفورنيا في محافظة اللاذقية بلغ 44.67%، كما وجدت (Majeed, 2016) أن نسبة الانتشار في مدينة صلاح الدين في العراق بلغت 40%، بينما كانت النسبة 55.1% في الجزائر (Benhamed *et al.*,2011)، وكذلك وجد (Saidi *et al.*, 2013) أن نسبة انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي بلغت 29.6% ،وفي الأردن بلغ 31.4% (Hawari and Aldabbas, 2008) بينما كانت نتائج هذه الدراسة منخفضة مقارنة مع ما وجده (المسالمة وحداد، 2020) إذ بلغت نسبت انتشار التهاب الضرع دون الإكلينيكي في محافظة ريف دمشق 65%، وفي أوغندا بلغت نسبة الإصابة 86.2% (Abrahmsen *et al.*,2014) كما أنه كانت نتائج هذه الدراسة متقاربة مع ما وجده (Abebe *et al.*, 2016) في أثيوبيا إذ بلغت نسبة الانتشار 59.1%، وفي الهند بلغت نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي 59.86% (Kumar & Sharma, 2002). وقد يعزى هذا التفاوت في نسبة الانتشار بين هذه الدراسة

والدراسات السابقة الى اختلاف المنطقة الجغرافية واختلاف التغذية وسلالات الأبقار ومستوى الرعاية والإدارة .

إن ارتفاع نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي قد يعود الى انخفاض مستوى الصحة العامة لحيوانات المناطق التي اشتملت عليها الدراسة، إذ أن ارتفاع نسبة الإصابة بحالات التهاب الضرع تأتي من انخفاض مستوى الإدارة والعناية الصحية التي تعد من العوامل المهمة المهيئة لحدوث الإصابة مثل عدم انتظام المدة بين الحلبات وبالتالي احتباس الحليب داخل الضرع، وعدم إتمام عملية الحلابة والإصابة بالأمراض كالتهاب الرحم واحتباس المشيمة والكيتوزس، حيث أن انخفاض مستوى العناية الصحية للحيوانات وعدم تطبيق الشروط الصحية الواجب اعتمادها أثناء عملية الحلابة كغسل وتطهير الضرع قبل الحلابة أو تغطيس الحلمات في محلول مطهر بعد الحلابة وتطهير أيدي الحلابين قبل الحلابة، كلها عوامل تسهل انتقال المسببات المرضية بين الأرباع وارتفاع عدد الأرباع المصابة في البقرة. إضافة إلى عدم مواكبة مالكي الحيوانات لمتابعة العلاج إلى نهايته وعدم الكشف الدوري للحيوان، وخصوصاً الضرع والحليب. فضلاً عن ذلك، فان انخفاض مستوى العليقة الغذائية المقدمة لتلك الحيوانات وعدم توازنها، تعد أسباباً أخرى مهمة وجديرة بالاهتمام يمكن أن تؤدي إلى ارتفاع نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي (Keffe & Leslie, 1997).

5-3- تأثير التهاب الضرع دون الإكلينيكي على قيم الـpH وتعداد الخلايا الجسمية:

أظهرت نتائج هذه الدراسة كما في الجدول رقم (4-4) ارتفاع معنوي في قيمة pH الحليب ما بين مجموعة الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي ومجموعة الحيوانات غير المصابة وهذه النتائج تتفق مع كل من (Saadoon, 2022; Sol, 2002)، وقد يعود هذا الارتفاع في قيم pH إلى زيادة تركيز الأملاح في حليب الضرع الملتهب نتيجة لزيادة نفوذية الأوعية الدموية في الضرع، وبالتالي نضوح مكونات الدم ومنها كلوريد الصوديوم إلى الحليب مما يؤدي الى ارتفاع قيمة الـpH

(العمر، 2014). كما أنه نتيجة الألتهاب تتعطل بعض الغدد الإفرازية مما يؤدي الى قلة إفراز اللاكتوز وبالتالي تستهلك البكتريا المسببة للإلتهاب البروتينات الموجودة في الحليب وتحللها وينتج عن تحللها مواد ترفع قيمة الـ pH (Gianneechini, 2001).

كما أظهرت نتائج هذه الدراسة ارتفاع معنوي في تعداد الخلايا الجسمية في الحليب ما بين مجموعة الحيوانات المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي ومجموعة الحيوانات غير المصابة وهذه النتائج تتفق مع كل من (Saadoon, 2022;Mohammed, 2021; Goli *et al.*, 2012)، وقد يعود هذه الزيادة الى ارتفاع تعداد الكريات البيض في الحليب عند حدوث إصابة مرضية في الغدة اللبنية، إذ تعد وسيلة دفاعية ضد المسببات المرضية (Burvenish *et al.*, 2002) .

5-4-عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي:

تشير نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول رقم (4-5) إلى الارتفاع المعنوي في نسب الأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي بزيادة عدد مرات الولادة التي أكدتها جميع الاختبارات المستخدمة في هذه الدراسة للكشف عن المرض.

وان هذا الاختلاف ربما يعود إلى واحد أو أكثر من عوامل عدة، احدها يتعلق بعمر الحيوان، إذ أن الأبقار المتقدمة بالسن تكون اقل مقاومة للامراض وتزداد حساسيتها للمرض بسبب زيادة فرصة تعرض الضرع للمسببات المرضية أو العوامل الممهدة أثناء تكرار الحمل مثل عوامل الضربة الميكانيكية الرض (Trauma) وتعرضها للأحياء المجهرية لفترات أطول (Philpot & Nickerson, 1991) وقد توافقت هذه النتائج مع العديد من الدراسات التي بينت أن هناك علاقة طردية بين العمر والإصابة بالتهاب الضرع (رشود، 2013 ;Quaderi, 2005; Abdel-Rady & Sayed, 2007) وتعرضها للكثير من الأمراض كالتهاب الرحم واحتباس المشيمة، إضافة إلى اختلاف نظام التربية والظروف الصحية والبيئية والإدارية وتباين مستوى الإنتاج التي تقلل من درجة مقاومتها للأمراض (Philpot & Nickerson, 1999). ثم إن زيادة عدد الولادات يؤدي إلى زيادة الإجهاد الذي تتعرض له أنسجة الضرع بسبب تكرار

إنتاج الحليب، فقد أشارت الدراسات العلمية إلى وجود علاقة موجبة بين شدة الإصابة بالتهاب الضرع بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي مع تكرار الإنتاج جراء تكرار الولادات (Mrode *et al*., 1998 ;). فضلاً عما تقدم، فان تكرار الولادات وإنتاج الحليب يؤدي إلى ارتخاء العضلات العاصرة وزيادة كبر فتحة الحلمة وبالتالي ضعف عملها في منع دخول المسببات المرضية الذي يؤدي إلى خفض مقاومة الضرع من خلال تهيئة الظروف الملائمة للإصابة (عبد الكريم، 1986). كما أن تقدم العمر يؤدي إلى ضعف الاستجابة السريعة للجهاز المناعي وتأخر انتقال خلايا الدم البيض من الدم إلى أنسجة الضرع (Bradly & Green, 2001). في حين أن انخفاض نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي في الأبقار الوالدة لأول مرة، ربما يعود إلى انخفاض إنتاج الحليب في السنة الإنتاجية الأولى والذي يتناسب طردياً مع نسبة الإصابة بالمرض، وهذا يتفق مع ما توصل إليه (شمدت، 1982).

كما أنه من المعروف أن نسبة الإصابة بالمرض ترتفع في المراحل التي يزداد فيها إنتاج الحليب، وبناءً عليه فان انخفاض نسبة الإصابة بالمرض في المراحل التي ينخفض فيها إنتاج الحليب كما في النتائج التي ظهرت في الأبقار المصابة المدرة لأقل من شهر يعد أمراً طبيعياً وان زيادة الإجهاد الذي يتعرض له الحيوان على مدى مدة الإرضاع التي تصل قمتها بزيادة إنتاج الحليب تؤدي إلى إضعاف مقاومة الحيوان للإصابة بالمرض وبالتالي ترفع نسبة الإصابة (Zeng & Escobar, 1995 ;Perrin *et al*., 1997; Mrode *et al*., 1998)

من جانب آخر، قد يعود ارتفاع نسبة الإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي وفقاً لاختبار CMT مقارنة مع الاختبارات الأخرى، إلا أن حليب الأبقار يعطي تفاعلاً قوياً موجباً في الأسبوع الأول بعد الولادة وفي المراحل الأخيرة من الرضاعة (Radostits *et al*., 2000a) وهذا يتفق مع نتائج اختبار تعداد الخلايا الجسمية في الحليب والتي بلغت أقصاها في الفترة لأكثر من ثلاثة اشهر. إن ارتفاع عدد الخلايا الجسمية الذي يكشف عنه باختباري تعداد الخلايا الجسمية و CMT قد يعود الى عوامل فيزيولوجية كالإنكماش في الغدد اللبنية والتناقص التدريجي في عدد الخلايا الإفرازية وخاصة في المراحل

المتأخرة من إنتاج الحليب والذي يرافقه ارتفاع في أعداد الخلايا الجسمية بشكل طبيعي. فضلاً عن أن الإصابة داخل الضرع تؤدي هي الأخرى إلى ارتفاع عدد الخلايا الجسمية في الحليب (Rice, 1997).

5-5-انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي:

الكيتوزس هو اضطراب استقلابي في الأبقار الحلوب يحدث بسبب زيادة تركيز الأجسام الكيتونية في الدم، ويرتبط عادة بإنتاج الحليب العالي وتوازن الطاقة السلبي، ويعد الكيتوزس دون الإكلينيكي أحد أهم الأمراض شيوعاً وتحدث عادة في مراحل الرضاعة الأولى وتسبب أضراراً مادية كبيرة لإنتاج الحليب وكذلك فإنها تمثل أمراضاً أخرى تؤثر سلباً على صحة وانتاج الحيوان (Deniz *et al.*, 2020).

بينت نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول رقم (4-6) وجود نسبة انتشار عالية للكيتوزس في المنطقة الوسطى من سورية بالاعتماد على تركيز حمض البيتا هيدروكسي زبداوات βHBA في المصل وبالمقارنة مع نتائج الأبحاث الأخرى فقد أشار (Duffield, 2000) إلى ما يقرب من 40% من أبقار الحليب في أمريكا الشمالية لديها درجات مختلفة من الكيتوزس خلال الاسابيع الاولى بعد الولادة، كما نجد أن دراستنا الحالية متقاربة مع ما وجده (Brunner *et al.*, 2019) في الصين إذ بلغت نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 32.9% كما بلغت في أوكرانيا 39%، كما أنها متقاربة مع ما وجده (Voyvoda & Erdogan 2010) في تركيا إذ بلغ معدل انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 33.3%.

كما إن نتائج هذه الدراسة مرتفعة مقارنة مع نتائج (Vince *et al.*, 2017) في كرواتيا إذ بلغ معدل انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي والكيتوزس الإكلينيكي 15.8% ، 1.07 %على التوالي، وكذلك فإن نتائج هذه الدراسة أعلى مما وجده (Senturk *et al.*, 2016) في تركيا إذ بلغ معدل انتشار كل من الكيتوزس دون الإكلينيكي 22.3% ، وهي أخفض مما وجده بالنسبة للكيتوزس الإكلينيكي 9.7%.

كما أنها كانت منخفضة مقارنة مع ما وجده (Berge and Vertenter, 2014) في كل من ألمانيا و هولندا وفرنسا إذ بلغ معدل انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي 43% ، 46% ، 53% على

التوالي، في حين وجد (Al-Gorabi *et al.*, 2010) أن نسبة انتشار الكيتوزس دون الإكلينيكي في العراق بلغ 59% حسب اختبار Roos test و65% حسب اختبار Rothera test كما وجد (Mohammed &Mohsin, 2013) في العراق في محافظة البصرة 97%.

ويعود الاختلاف في نسبة انتشار الكيتوزس مقارنة مع الدراسات الأخرى الى اختلاف المنطقة الجغرافية والموسم وسلالة الحيوانات والإدارة واختلاف معدل انتاج الحليب واختلاف نظم التغذية والتربية والعتبة المستخدمة في التشخيص ونوع العينة .

5-6- تأثير الكيتوزس على المؤشرات الكيمياحيوية:

أشارت نتائج الدراسة الحالية كما في الجدول رقم (4-8) إلى وجود ارتفاع معنوي في تركيز الأجسام الكيتونية من نوع بيتا هيدروكسي بوترات، حيث تتفق نتائج هذه الدراسة مع العديد من الدراسات السابقة (Suthar *et al.*, 2013; Pilotto *et al.*, 2016) ويعتقد أن السبب في ارتفاع تركيز بيتا هيدروكسي بوترات هو نتيجة حدوث ميزان الطاقة السلبية الذي يقترن مع ارتفاع الطلب على الطاقة والدهون والبروتين بعد الولادة لغرض الرضاعة وانتاج الحليب مما يؤدي الى تعبئة مخزونات الجسم من الدهون وبالتالي ارتفاع الأحماض الدهنية غير المؤسترة وأكسدتها بشكل غير كامل في الكبد تلبية للطلب المتزايد للغلكوز وتراكم للأجسام الكيتونية لمستويات مرضية في الدم، وأشارت العديد من الابحاث أن انخفاض انتاج الغلكوز في الكبد يمكن ان يقلل من تراكيزها في الدم ويقلل من افراز الأنسولين، مما يؤدي الى زيادة تعبئة الدهون من الأنسجة الدهنية وزيادة لاحقة في مستويات احماض دهنية غير مؤسترة وبيتا هيدروكسي بوترات (Grummer, 1993; Padilla *et al.*, 2005)

كما أوضحت نتائج هذه الدراسة وجود انخفاض واضح في تركيز الغلكوز في الدم عند الأبقار التي شخصت بإصابتها بالكيتوزس دون الإكلينيكي والإكلينيكي مقارنة مع الأبقار التي شخصت بإنها غير مصابة بالكيتوزس واتفقت هذه النتيجة مع دراسة كل من (Gonzal *et al.*, 2011; Mohebbi *et al.*, 2019; Paramesh *et al.*, 2020) والسبب في ذلك يعود الى أن الأبقار قد تعاني من توازن

الطاقة السلبي خلال فترة الرضاعة المبكرة والتي تكون متطلبات الطاقة أعلى حيث يرتفع انتاج سكر اللاكتوز، وعلى الرغم من الجهود التعويضية ينخفض تركيز الغلكوز في الدم، مما يؤدي الى الإجهاد الاستقلابي وتعبئة الدهون في مخازن الجسم (Vince *et al.*, 2017; Marutsova *et al.*, 2019).

كما لوحظ ارتفاع في تركيز كل من ALT، AST في الدم في الحيوانات التي شخصت بإنها مصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي والإكلينيكي مقارنة مع الحيوانات التي شخصت بإنها غير مصابة وقد اتفقت هذه الدراسة مع دراسة (Sevinc *et al.*, 2001) إذ اخبروا عن ارتفاع قيم AST في الحيوانات المصابة بالكيتوزس كما أنها اتفقت مع (Ghanem *et al.*, 2016a) إذ أشار الى أرتفاع قيم ALT في الحيوانات المصابة بالكيتوزس مقارنة مع الحيوانات غير المصابة .

و يفسر ارتفاع هذه الانزيمات بسبب حدوث الضرر الكبدي الناجم عن تراكم الشحوم بسبب توازن الطاقة السلبي الذي يؤثر على الوظيفة الكبدية ومن ضمنها هذا الأنزيمات.

كما أظهرت نتائج هذه الدراسة انخفاضاً معنويا في مستوى تركيز TG في الأبقار المصابة بالكيتوزس مقارنة مع الأبقار الغير مصابة، وهذا يتوافق مع دراسة كل من (Dokovic *et al.*, 2012 ,;Ghanem *et al.*, 2016b) إذ أنه يتراكم الـ TG في خلايا الكبد والأنسجة الدهنية في الأبقار المصابة بالكيتوزس مما يؤدي الى انخفاض قيمه في مصل الدم (Dokovic *et al.*, 2016).

5-7-عوامل الخطورة المرافقة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي:

أظهرت النتائج في الجدول رقم (4-9) أن الحيوانات ذات العمر الأكبر معرضة للإصابة بشكل أكبر مقارنة مع الحيوانات ذات العمر الاقل، ويصاغ هذا السبب الى أنه في المرحلة الأولى من انتاج الحليب الأبقار الصغيرة قد تزيد من أنشطة الجسم الاستقلابية وتتكيف فيزيولوجياً مع الظروف والتوازن بين تناول العلف والأنتاج وهذا التكيف والنشاط الفيزيولوجي يتباطأ تدريجياً مع تقدم العمر، أو قد يعود السبب الى زيادة عدد الولادات وزيادة انتاج الحليب، وتتوافق هذه النتيجة مع العديد من الدراسات الأخرى

ومنها (Reddy *et al*., 1986.;Duffield *et al*., 1997; Vanholder *et al*., 2015; Biswal *et al*.,2016) ، في حين بين (Biswal *et al*.,2016) أن نسبة الانتشار حسب العمر كان الأعلى في الفئة العمرية 5.5 –6.5 سنة.

كما أظهرت النتائج أن الحيوانات ذات عدد الولادات الأكثر معرضة بشكل أكبر للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي، حيث أنه يعتقد أن السبب يكون الطاقة السلبية الناتجة حيث إن الأبقار في الولادة الأولى أو الثانية لا تصل الى ذروة أنتاج الحليب باعتبار أن نمو الضرع وانسجته الافرازية ما تزال في مراحلها الأولى للاكتمال مقارنة مع الأبقار متعددة الولادات والمكتمل فيها نمو الضرع ، وتتفق هذه النتيجة مع ما توصل اليه باحثون آخرون (Vanholder *et al*., 2015; Biswal *et al*.,2016.; Elise, 2016) كما بين الباحثان (Berge & Vertenten, 2014) أن الإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي تبدأ بالانتشار تدريجياً مع زيادة عدد الولادات حتى الولادة الرابعة ثم تبدأ بالانخفاض من جديد بعد الولادة الخامسة.

كما أظهرت النتائج أن الحيوانات في الفترة بعد الولادة أقل من ثلاث أسابيع أو يساويها كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي، وقد يعود السبب الى ان العديد من الأبقار تعاني من حدوث المشاكل الصحية خلال الفترة الانتقالية التي هي المرحلة الوسطية لمختلف وظائف الجهاز الهضمي والتمثيل الغذائي وانتاج الحليب والتي قد تحدد الحالة الصحية العامة وقت الولادة وخلال الأسابيع الأولى بعد الولادة، فضلاً عن أنه اثناء فترة الرضاعة المبكرة، تزداد الحاجة الى الغلكوز بشكل كبير لأن انتاج اللاكتوز يرتفع بشكل كبير وبالتالي يتم زيادة تعبئة الدهون في الأنسجة الدهنية. وتتفق هذه النتيجة مع العديد من الدراسات السابقة (Duffield *et al*., 1998.; Bobe *et al*., 2004.; Oetzel, 2004) وأشار (Itle *et al*., 2015) أن نسبة حدوث الكيتوزس دون الإكلينيكي هي 10 – 60% والكيتوزس الإكلينيكي 2 – 15% خلال الشهر الأول من الولادة. كما أشار (Youssef *et al*., 2010) أن الكيتوزس يحدث غالباً خلال الاسابيع الستة الأولى بعد الولادة.

كما بينت النتائج الحيوانات ذات الإنتاج العالي كانت أكثر عرضة للإصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي وقد يعود السبب الى زيادة استهلاك الغلكوز بسبب الإدرار العالي وافراز كمية كبيرة من اللاكتوز مما يؤدي الى حدوث ميزان طاقة سلبي وبالتالي الإصابة بالكيتوزس (Oetzel, 2004)

5-8-العلاقة ما بين الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي:

بينت نتائج الدراسة الحالية كما في المخطط (4-10) و (4-11) ارتفاع نسبة الأبقار المصابة بحالتي التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي معاً، إذ بلغت النسبة 35% في حين بلغت نسبة الأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي فقط والكيتوزس دون الإكلينيكي فقط 25% و7.5% على التوالي.

وقد كانت نتائج هذه الدراسة مرتفعة مع ما أشار إليه Pritchard (2005) من نسب التي بلغت نسبة الأبقار المصابة بحالتي التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي معاً 15% و الأبقار المصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي فقط والكيتوزس دون الإكلينيكي فقط 10% و27% على التوالي . إذ وجد أن نسبة الأبقار التي تعاني من ارتفاع عدد الخلايا الجسمية SCC عن الحد المثالي إذ بلغت 29% من مجموع الأبقار التي تعاني من الكيتوزس دون الإكلينيكي، مقارنة مع 21% من مجموع الأبقار الخالية من الكيتوزس دون الإكلينيكي. وبالتالي استنتج الباحث أن الكيتوزس دون الإكلينيكي له علاقة طردية مع زيادة عدد الخلايا الجسمية. وطالما أن ارتفاع عدد الخلايا الجسمية، يعد اختباراً معتمداً للاستدلال على التهاب الضرع دون الإكلينيكي، فعليه أن للكيتوزس دون الإكلينيكي تأثيراً في التمهيد للإصابة بالتهاب الضرع دون الإكلينيكي. ويمكن تفسير هذه العلاقة على أساس أن التوازن السالب للطاقة وظهور الأمراض الأيضية ومنها الكيتوزس دون الإكلينيكي قرب أو بعد الولادة بقليل، مع زيادة نسبة الإصابة بالتهاب الضرع بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي يعود إلى ارتفاع الأجسام الكيتونية التي تعد سبباً أساسياً في هبوط قدرة الضرع لمقاومة غزو الجراثيم بسبب هبوط القدرة الابتلاعية

Phagocytosis من قبل الخلايا الالتهامية داخل أنسجة الضرع (Kehrli & Shuster, 1994; Leslie *et al.*, 2000).

إن هبوط مستوى المناعة Immunosupression، الذي يحدث أثناء أو بعد الولادة، وتوفر المسببات المرضية، إذ يعمل الضرع على إيواء الجراثيم لمدة طويلة دون ظهور علامات إكلينيكية، يعملان للتمهيد لظهور حالات مرضية بعد الولادة بمدة قصيرة وخصوصاً مرض التهاب الضرع بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي (Sordillo *et al.*, 1997). كما تترافق حالات الكيتوزس بنوعيه الإكلينيكي ودون الإكلينيكي بهبوط قدرة خلايا الدم البيض لاستحثاث التطوع الخلوي Cell Recruitment أثناء تعرض الضرع إلى الخمج، فضلاً عن انخفاض قابلية الخلايا البيض للهجرة إلى المناطق المصابة من الضرع (Pritchard, 2005). فقد أشارت الدراسات العلمية إلى أن زيادة الأجسام الكيتونية تؤدي إلى اضطراب (أو خلل) استجابة خلايا الدم البيض للجذب الكيميائي Chemotaxis response of leukocytes (Suriyasathaporn *et al.*, 2000)، وبالتالي زيادة شدة الخمج داخل الضرع Intramammary infection; IMI (Kremer *et al.*, 1993).

من جانب آخر أكد الباحثان (Goff & Kimura, 2003) أن ارتفاع مستوى الأجسام الكيتونية في الدم Hyperketonemia يعد واحداً من أهم العوامل التي تخفض مقاومة الضرع.

وفي دراسة أجراها الباحثون (Kimura *et al.*, 1999)على مجموعتين من أبقار الحليب، احدهما استؤصل منها الضرع Mastectomized والأخرى بقيت سليمة، توصلوا إلى أن فعالية أنزيم Neutrophil myeloperoxidase ، التي هبطت قبل الولادة جراء ارتفاع مستوى الأجسام الكيتونية، سرعان ما عادت إلى مستواها الطبيعي بعد الولادة في الأبقار مستأصلة الضرع، في حين بقيت الفعالية منخفضة لدى الأبقار السليمة، كما لاحظوا نتائج مشابهه من حيث انخفاض إنتاج الخلايا اللمفية من انترفيرون غاما Gamma–Interferon قبل الولادة وبعدها في الأبقار السليمة وعودتها إلى مستواها الطبيعي في الأبقار مستأصلة الضرع. وإن تلك التغيرات تؤثر حتماً على مستوى مناعة الأبقار قبل

الولادة واثناءها. ومن ذلك استنتجوا أن الضرع يقوم بإنتاج مواد تؤثر مباشرة في الخلايا المناعية أو أن الحاجة للعمليات الايضية المتزايدة مع بداية ادرار الحليب يؤثر في الخلايا المناعية أثناء تلك المدة. وقد رجحوا الاحتمال الثاني على أساس أن الحاجة إلى الطاقة أثناء ادرار الحليب يؤدي إلى تحريك كميات كبيرة من دهون الجسم لإنتاج الطاقة بسبب التوازن السالب للطاقة. كما أكد الباحثون أنفسهم على أن الاضطرابات التي تحصل في ايض الكالسيوم (ظهور الخزل الولادي) وايض الطاقة (ظهور الكيتوزس) ونقص البروتين (ظهور الكيتوزس وتشحم الكبد) أثناء تلك المدة ستزيد من فرصة أو استعداد البقرة الحلوب للإصابة بالتهاب الضرع.

من جانب آخر، إن نقص تركيز البروتينات الذي يرافق بداية ادرار الحليب، قد يؤدي هو الآخر إلى هبوط المناعة، إذ يؤثر ذلك في هبوط المناعة الخلوية Cell mediated immunity ، فضلاً عن ضمور الأنسجة اللمفية وما يترتب عليه من هبوط في أعداد الخلايا اللمفية من نوع T cell إلى النصف هذا فضلاً عن هبوط تركيز الكلوبيولينات المناعية التي تستنزف بسبب طرحها مع اللبأ في بداية ادرار الحليب (Goff & Kimura, 2003).

5-9- الأعراض الإكلينيكية الظاهرة على الحيوانات المصابة.

اشارت نتائج الاستبيان في هذه الدراسة الى وجود علامات إكلينيكية غير مميزة واتفقت هذه النتائج مع (Dokovic *et al.*, 2019; Deniz *et al.*, 2020, Kimura *et al.*,1999) حيث أشارت هذه الدراسات الى أن الكيتوزس دون الإكلينيكي والتهاب الضرع دون الإكلينيكي لا تصاحبه علامات إكلينيكية مميزة وإنما تمهد كعامل مساعد ومؤهب للعديد من الأمراض الأيضية والأمراض الأخرى ، وقد يكون السبب المحتمل لانخفاض انتاج الحليب هو انخفاض الشهية والانتقائية أو رفض تناول العلف المركز وبالتالي انخفاض قدرة الحيوان على توفير الغلكوز في الضرع، كما يؤدي ارتفاع نسبة الأجسام الكيتونية في الدم الى انخفاض في انتاج الحليب، فضلاً عن الهزال وفقدان الوزن نتيجة

لجوء الحيوان الى استخدام مخزونات الجسم من الأنسجة الدهنية والغلايكوجين لتعويض الطلب الحاد للغلكوز (Yang *et al.*, 2019).

كما أظهرت النتائج في الجدول رقم (4-11) عدم وجود فرق معنوي في المؤشرات الحيوية لمعدل النبض ومعدل التنفس ودرجة الحرارة باستثناء وجود انخفاض معنوي بمعدل حركات الكرش في الحيوانات المصابة بالكيتوزس الإكلينيكي والحيوانات المصابة بالكيتوزس دون الإكلينيكي والحيوانات المصابة بالكيتوزس والتهاب الضرع دون الإكلينيكي معاً مقارنة مع الحيوانات السليمة وهذه النتائج تتفق مع ما وجده (Ghanem *et al.*,2017) حيث أه قد يعزى سبب الانخفاض في معدل حركات الكرش الى ارتفاع تركيز بيتا هيدروكسي زبداوات حيث أشارت دراسة (Lean *et al.*,1991) إلى أن سبب انخفاض معدل حركات الكرش الى تأثير الأجسام الكيتونية المفرطة المثبط على جدار الكرش مما يسبب التقلص غير الكامل في الجدار، بينما أشار (Youssef *et al.*, 2010) الى أن السبب في ركود الكرش الى تثبيط منشطات الكرش مثل هرمون الكولسيستوكينين الذي يحفز إفراغ الكرش.

الاستنتاجات والتوصيات

CONCLUSIONS

and

RECOMMENDATIONS

الاستنتاجات

1- ارتفاع نسبة الإصابة بالتهاب الضرع تحت السريري في المنطقة الوسطى من سورية إذ بلغت نسبة 60% من الحالات المفحوصة.

2- أن أعلى نسبة انتشار لمسبب التهاب الضرع تحت السريري هي المكورات العنقودية الذهبية هي تلتها المكورات العقدية الأجلكتية ثم جراثيم الاشريكية القولونية.

3- ارتفاع نسبة الإصابة بالكيتوزس تحت السريري في المنطقة الوسطى من سورية إذ بلغت نسبة 35% من الحالات المفحوصة.

4- إن لعوامل الخطورة مثل العمر وعدد الولادات والفترة بعد الولادة وانتاج الحليب دور معنوي في ارتفاع نسبة الإصابة في كل من التهاب الضرع تحت السريري والكيتوزس تحت السريري.

5- أثبتت النتائج أن اختباري قياس الأس الهيدروجيني للحليب وتعداد الخلايا الجسمية في الحليب هما اختباران يمكن الاعتماد عليهما في تشخيص التهاب الضرع تحت السريري.

6- أثبتت النتائج أن اختباري الكشف عن وجود الأجسام الكيتونية في البول والحليب هما اختبارات يمكن الاعتماد عليهما في تشخيص الكيتوزس تحت السريري.

7- يستنتج من هذه الدراسة وجود فروق معنوية في كل من (قيمة الأس الهيدروجيني للحليب، تعداد الخلايا الجسمية في الحليب) في الأبقار المصابة بالتهاب الضرع تحت السريري مقارنة مع الحيوانات السليمة.

8- يستنتج من هذه الدراسة وجود فروق معنوية في كل من (تركيز الغلكوز في المصل، تركيز AST، ALT، TG، وجود الأجسام الكيتونية في الحليب والبول) في الأبقار المصابة بالكيتوزس تحت السريري مقارنة مع الحيوانات السليمة.

9- وجود علاقة ارتباط إيجابية بين التهاب الضرع تحت السريري والكيتوزس تحت السريري.

التوصيات

1. القيام بالفحص الدوري للكشف عن الإصابات تحت السريرية لكل من التهاب الضرع تحت السريري والكيتوزس تحت السريري للكشف عنها بشكل مبكر للحيول دون الوصول الى الشكل السريري وتجنب الخسائر الاقتصادية.
2. إجراء دراسة جدوى اقتصادية للخسائر الناتجة عن التهاب الضرع تحت السريري و الكيتوزس تحت السريري.
3. ينصح باستخدام اختبار الكشف عن وجود الأجسام الكيتونية في البول والحليب للكشف عن الإصابة بالكيتوزس تحت السريري.
4. إجراء دراسات أخرى حول الإرتباط بين الكيتوزس وأمراض أخرى.
5. إجراء دراسة لتأثير التهاب الضرع تحت السريري والكيتوزس تحت السريري في مكونات الحليب.
6. البحث عن طرق للكشف عن التهاب الضرع دون الإكلينيكي والكيتوزس دون الإكلينيكي معاً

المراجع

REFERENCES

المراجع العربية:

ـ أ ـ

1) **الانباري، نصر نوري خضير (2003):** التقويم الوراثي للإصابة بالتهاب الضرع في ماشية الهولشتاين. أطروحة دكتوراة، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

2) **الجاف، شنة صلاح علي (2004):** تأثير بعض العوامل في محتوى الحليب من الخلايا الجسيمة والدهن والبروتين لدى ابقار الهولشتاين – رسالة ماجستير، كلية الزراعة، جامعة بغداد.

3) **الجنابي، عبد الخالق احمد فرحان (2002):** تأثير بعض العوامل في أعداد الخلايا الجسمية في حليب الماعز المحلي وتضريباته في العراق. رسالة ماجستير – كلية الزراعة، جامعة تكريت.

4) **الخشاب، سمير حسن (1998):** إنتاج الحليب . الدار العربية للنشر والتوزيع. ليبيا. الطبعة الأولى: 153-156.

5) **الراشد، محمود راشد والحافظ ماهر عبد الخالق(1994):** تحليل الإحصائي لبعض الصفات المظهرية لثلاثة أجيال من أبقار الفريزيان. دراسة مقارنة لبعض الصفات المظهرية. مجلة زراعة الرافدين2(4):73-77.

6) **الشرجبي، فهد عبدالحميد (2015):** ميكروبيولوجيا الأغذية.منشورات جامعة تعز. اليمن. الطبعة الأولى.

7) **العمر، جمعة عمر (2014):** صحة الألبان وتقاناتها ، منشورات جامعة البعث، سوريا.

8) **العمر، عبدالناصر و كردي، عزام وركبي، محمد والشريعي، سمير وحمادة، عبدالفتاح (2016):** تشخيص التهاب الضرع تحت السريري في النعاج العواس، المجلة السورية للبحوث الزراعية، المجلد(3)، العدد(2) :28 – 38.

9) **المسالمة، محمد راضي و حداد، عبير عبدالله (2020):** دراسة حول انتشار التهاب الضرع تحت السريري وتحديد مسبباته في أبقار الحليب في محافظة ريف دمشق (سورية) .المجلة السورية للبحوث الزراعية، 7(6): 36-48.

10) **الويندواوي، عباس حميد شكور، زوين، لمى عبدالهادي (2020):** الاختبارات الكيمياحيوية التشخيصية للبكتريا دار الكتب والوثائق، بغداد .

-ج-

11) **جبلاوي، رفيق، دريوس، محمد** (2003): التهاب الضرع الكامن عند الأبقار الحلوب في محافظة اللاذقية (سوريا)، مجلة جامعة تشرين للدراسات والبحوث العلمية ، المجلد (25)، العدد (13):163- 173.

-ح-

12) **حاخور، رضوان والياسينو، ياسين (1998)**: دراسة عن التهاب الضرع في الأغنام في محافظتي حماه و حلب. مجلة جامعة البعث .20: 158-200.

-خ-

13) **خلف، عماد (2014)**: اختبارات وظائف الكبد في الأبقار الحلوب المتأثرة بالتشحم الكبدي الناجم عن الكيتوزس الأولي، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة البعث.

-ر-

14) **رشود، بشار (2013)**: تطبيق إجراءات التحكم بالتهاب الضرع في المنطقة الوسطى من سورية ، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة البعث.

-ش-

15) **شمدت .جون (1982)**: بيولوجيا أنتاج اللبن. ترجمة الحكيم، مرتضى كمال، القس، جلال إيليا؛ والعبيدي، صباح عبد الرضا. وزارة التعليم والبحث العلمي، مطبعة دارالكتب ،الموصل.

-ط-

16) طباع، دارم و نيشكاوا، هيروكي (2002): أمراض الابقار، منشورات جامعة البعث.

-ع-

17) **عبد الغني، عطا الله حميد. (1984)** دور التهاب الضرع في تحلل دهن حليب الابقار. رسالة ماجستير، كلية الزراعة-جامعة بغداد.

18) **عبد الكريم، فؤاد عبد اللطيف.(1986)** إنتاج ماشية الحليب، جامعة البصرة.

19) **عبود، أكرم ريشان؛ الصواف، سناء داود؛ وحمد، ضاري عليوي.(1999)** صحة الغذاء. وزارة التعليم العالي والبحث العلمي، جامعة الموصل.

20) **عويجان، محمد أمين عبد السلام (2010)** .أسباب استبعاد أبقار الفريزيان في بعض المحطات العامة في سورية وأثرها الاقتصادي على إنتاجية المنشأة، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري. جامعة البعث.

-ق-

21) **قصقوص، شحادة .(2000)** .عدد الخلايا الجسمية وارتباطها بالطرق الأخرى لكشف التهاب الضرع تحت السريري في حليب غنم العواس السورية. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية- المجلد 16 (2)، ص: 21-34

22) **قصقوص، شحادة .(2006)**. بعض العوامل المؤثرة في مستوى الناقلية الكهربائية في حليب الأغنام وعلاقتها بمؤشرات الحليب الأخرى. مجلة جامعة دمشق للعلوم الزراعية، مجلد 22 العدد (1) ص: 81-96.

-م-

23) مجيد، خيري نصر. (1979) تطهير الضرع كوسيلة للوقاية من مرض التهاب الضرع تحت السريري في الابقار وتحسين القيمة النوعية للحليب. رسالة ماجستير ،جامعة بغداد.

24) **مسوح، جهاد والراشد، محمود ومحمود، كامل أديب، (2015)** . دراسة أسباب الاستبعاد في أبقار الفريزيان وأثره على إنتاج الحليب في مبقرة جب رملة. مجلة جامعة البعث(37)2- 191-203.

- ن-

25) **ناجي الرفاعي، حميد علي. (2010)** . التقصي الوبائي عن التهاب الضرع المعدي المسبب بالمفطورات (المايكوبلازما) وغيرها عند قطعان الأغنام في المنطقة الوسطى، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري ،جامعة البعث.

المراجع الأجنبية

-A-

1) **Abdel-Rady, A. and Sayed, M. (2007).** Epidemiological Studies on Subclinical Mastitis in Dairy Cows in Assiut Governorate. Veterinary World. 2 (10): 373-380.

2) **Abebe, R.; Hatiya; H. Abera; M. Megersa B.; and Asmare K. (2016).** Bovine mastitis: prevalence, risk factors and isolation of *Staphylococcus aureus* in dairy herds at Hawassa milk shed, South Ethiopia. BMC Vet Res. 12: 270.

3) **Abrahmsen, M.; Persson .Y.; Kanyima .B. M.; and Bage .R. (2014).** Prevalence of subclinical mastitis in dairy farms in urban and peri-urban areas of Kampala, Uganda. Trop Anim Health Prod. 46(1): 99-106.

4) Afifi, Y.A.(1973). The influences of stage of lactation and age on cell counts of the milk. Indian J. Dairy Sci, 26: 237-240.

5) Ahlner, S.(2004). Prevalence of subclinical mastitis in Uruguay. National veterinary instatue, mastitis section. 12:7-30.

6) **Akamatsu. H,; Saitoh. Y,; Serizawa. M,; Miyake. K.; Ohba. Y.(2007).** Changes of serum 3-methylhistidine concentration and energy-associated metabolites in diary cows with ketosis. Journal of Veterinary Medical science .69:1091-1093.

7) **Al-Gorabi B.J., J.A.A. Al-Sa'aidi and S.H. Ali. (2010).** Survey about subclinical Ketosis of Cows in Al-Diwaniya city. Al-Qadisiyah Journal of Veterinary Medicine Sciences. (4th international) Scientific Conference.

8) Amany M.R.;Kamel, M.; Bassiony, M.;Farag Y.A.; and Farid A. (1996). Subclinical mastitis in fayoum Governorate. Egypt J. Agric. Res., 3:869-876.

9) **Anri, A. (2012).** Manual for Mastitis Control Developing Countries. Japan Livestock Technology Association. 37-56.

10) **AOAC (2005)** Official Methods of Analysis, 18th ed. edited by Horwitz, W. and G. W. Latimer, AOAC International

11) **Aslan, N.S.; (2001).** Prevalance of subclinical ketosis in dairy cattle in the Southwesterm iran and detection of catoff point for NEFA and glucose concentration for diagnosis of subclinical ketosis .prev. vet . med (1); 100; 38-43.

12) **Asrat, M., Tadesse, G.H., Gounder, R.V. and Nagappan, R., (2013).** Prevalence and treatment of ketosis in dairy cows in and around Addis Ababa, Ethiopia. British Journal of Dairy Sciences, 3(3),.26-30.

13) **Atasever, S. (2012).** Estimation of correlation betweensomatic cell count and coagulation score of bovine milk .Int. J. Agr. Biol.,14: 315-317.

14) **Atlas, R.M. (2004).** Handbook of Microbiological Media .3nded.CRC Press LLC.USA.

15) **Azmi, D.; Hawari, F. and Dabbas, A. (2008):** Prevalence and distribution of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Jordan. American Journal of Animal and veterinary sciences, 3 (1): 36-39.

-B-

16) **Bachaya, H.A., Raza, M.A., Murtaza, S. and Akbar, I.U.R. (2011).** Subclinical bovine mastitis in Muzaffar Garh district of Punjab (Pakistan). J. Anim. Pla. Sci., 21:16–19.

17) **Badran, A. E. (1985).** Genetic and environmental effects on mastitis disease in egyptian cow and buffalo. Ind. J. Dai. Sci. 38(3):230-234.

18) **Bansal ,B. K;Singh ,K. B; Mohan ,R; and Joshi ,D .V .(1995)** .Incidence of subclinical mastitis in some cow and buffalo herds in Punjab. J. Res. Punjab Agr. Uni. 32(1):79-81.

19) **Baron, E.J. and Finegold, S.M. (1990).** Diagnostic Microbiology. 8th ed., Bailey and Scott's. C.V. Mosby Company, St. Louis, PP. 323 – 332, A13.

20) **Belanger, A.M.; Descoteaux, L.;Couture, Y.;Baril, J.;and Bagg R.(2003).** Evaluation of a milk strip test for detection of subclinical ketosis at cow level. In : procedings of the 36th Ann. Conv. Am. Assoc. Bov. Pract., 174.

21) **Benedet, A., Manuelian, C.L., Zidi, A., Penasa, M. and De Marchi, M., (2019).** Invited review: β-hydroxybutyrate concentration in blood and milk and its associations with cow performance. Animal, 13(8),.1676_1689.

22) **Benhamed, N.; Moula .M.; Aggad .H.; Henni .J. E.; and Kihai .M. (2011).** Prevalence of mastitis infection and identification of causing bacteria in cattle in the Oran Region West Algeria. Journal of Animal and Veterinary Advances. 10(22): 3002-3005.

23) **Benites N.R., Guerra J.L., Melville P.A., Da Costa E.O. (2002).** Aetiology and histopathology of bovine mastitis of espontaneous occurrence. *Journal Of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases And Veterinary Public Health*, 2002. 49(8): p. 366.

24) **Benson, H.J. (2002).** Microbiological Application Laboratory Manual in General Microbiology .8thed .The the McGraw-Hill Companies.USA.

25) Berge, A.C. and Vertenten, G., (2014). A field study to determine the prevalence, dairy herd management systems, and fresh cow clinical conditions associated with ketosis in western European dairy herds. Journal of dairy science, 97(4), .2145-2154.

26) Bergonier, D; Cremoux, R; Rupp, R; Lagriffoul,G;and Berthelot,X. (2003). Mastitis of dairy small ruminants Vet. Res. 34. P:689-716.

27) **Bjork, S.; R. Bage; B. M. Kanyima et al., (2014**). Characterization of coagulase negative staphylococci from cases of subclinical mastitis in dairy cattle in Kampala, Uganda. Irish Veterinary Journal. 67: 12.

28) **Biswal, S., Sardar, K.K. and Nayak, D.C. (2006).** Metabolic profi le of blood constituents in ketotic crossbred cows. Indian J. Vet. Res., 15(2): 20-21.

29) **Biswal, S., Nayak, D.C. and Sardar, K.K., (2016).** Prevalence of ketosis in dairy cows in milk shed areas of Odisha state, India. Veterinary world, 9(11), p.1242.

30) **Blowey, R.;and Edmondson, P. (1995).** Mastitis control in dairy herds. Farming press, lpswich, U.K. PP:77 – 89.

31) **Bobe, G., Young, J.W. and Beitz, D.C., (2004)**. Invited review: pathology, etiology, prevention, and treatment of fatty liver in dairy cows.Journal of dairy science, 87(10), .3105-3124.

32) **Bradly,A.J. ;and Green, M.J.(2001).**An investigation of the impact of intramammary antibiotic dry cow therapy on clinical coliform mastitis .J.Dairy Sci.84(7):1632-1639.

33) **Brunner, N.; Groeger, S .; Raposo, J.; Bruckmaier,R. M. and Gross, J. J.(2019).** Prevalence of subclinical ketosis and production diseases in dairy cows in Central and South America, Africa, Asia, Australia, New Zealand, and Eastern Europe.Translatonal Animal Science, 3(1):84-92.

34) **Burvenich,C.; Paape,M.J.; Hill,A.W.; Guidry,A.J. ;Miller,R.H. ;Heyneman,R.; Kremer,W.D.;and Brand,A.(1994).**Role of the neutrophil leucocyte in the local and systemic reaction during experimentally induced E.coli mastitis in cows immediately after calving .Vet Q.16:45-50.

35) **Burvenish, G.; Detileux, J.; Paape, J.; and massarl – Leen, A.M.(2002).** Physiological and genetic factors that influence the cows

resistance in relation to the Susceptibility and outcome of mastitis, especially during early lactation. Vet Q.20:80-91.

36) **Byarugaba, D.K., Kisame, R. and Olet, S. (2011).** Multi-Drug Resistance in Commensal Bacteria of Food of Animal Origin in Uganda. African Journal of Microbiology Research, 5: 1539-1548.

-C-

37) **Callard, R.; and Gearing, A. (1994).** The cytokines facts book. Academic press, Inc., SanDiego, California. P:2-200.

38) **Carrier, J.;Stewart, S.;Godden, S.;Fetrow, J.;and Rapnicki, P. (2004).** Evaluation and use of three cow side tests for detection of Subclinical ketosis in Early post partum cows. J. Dairy Sci. 87:3725 – 3735.

39) **Carter, G.R.; cole, Jr. (1990):** Diagnostic procedures in Veterinary Bacteriology and Mycology. Filth Edition.

40) **Cervinkova, D.; H. Vlkova; I. Borodacova; J. Makovcova; V. Babak; A. Lorencova; I. Vrtkova; D.Marosevic; Z. Jaglic (2013).** Prevalence of mastitis pathogens in milk from clinically healthy cows. Vet Med. 58(11): 567-575.

41) **Chand, P; Behra, G. D; and Chakravarty, A. K. (1995) .**Comparative incidence of mastitis in relation to certain factor in cattle and buffaloes. Ind. J. Dai. Sci. 65(1):12-14.

42) Cho, D.Y.; and Cheong, C.K. (1970). Composition of M.W.T. and C.M.T. for the detection of bovine mastitis.Korean J. vet. Res. 10:(1) 47-51.

43) **Çolakoğlu, H.E., Yazlık, M.O., Pekcan, M., Kaya, U., Kaçar, C., Vural,M.R., Kurt, S., Yildirim, M.M., Bas, A. and Küplülü, Ş., (2019).** Impact of prepartum body condition score loss on metabolic status during the transition period and subsequent fertility in Brown Swiss dairy cows. Journal of veterinary research, 63(3), p.375.

44) Coles, E.H.(1989). Veterinary Clinical pathology 4th. edition. Saunders company, Philadelphia.

45) **Collee, J. G.; Fraser, A. G.; Marmion, B. P. and Simmons, A.(1996).** Practical medical microbiology. 14th ed. Churchill living stone. Inc. New York, USA.

46) **Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. and Grunberg, W. (2017).**Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. Vet. Med., 11th ed. W.B. Saunders, New York, ,pp1708.

47) **Cook,N.B.;Ward,W.R.; and Dobson,N. (2001).**Concentration of ketones in milk in early lactation ,reproductive performance of dairy cows. Vet. Rec. (25):72-79.

-D-

48) **Dahlen, G., Hassan, H., Blomqvist, S., and Carlen, A. (2018).** Rapid urease test (RUT) for evaluation of urease activity in oral bacteria in vitro and in supragingival dental plaque ex vivo. BMC oral health, 18(1), 89.

49) **Dar, K.H., Ansari, M.M., Tantary, H.A., Baba, M.A. and Ashraf ،I. (2014).** Studies on effi cacy of therapeutic protocols in for ketosis in dairy cows. Int. J. Vet. Sci., 3(3): 147-150.

50) **David, J.W.;Stewart, K.N.; and Ears, P.M.(1995).** Effect of stage of Lactation, production, parity and season on somatic cell count in infected dairy goats. Small Rumin. Res. 16:165-169.

51) **Deniz. A; Aksoy. K and Metin. M . (2020).** Transition period and subclinical ketosis in dairy cattle: association with milk production, metabolic and reproductive and economic aspects,Artykul Przegladowy, 76(9):495-502.

52) **Detilleux, J.C.; Grohn, Y.T.; and Quaas, R.L.(1994).** Effects of clinical ketosis on test milk yield in Finnish A yrshire cattle. J. of Dairy Sci.; 77(11): 3316 – 3323.

53) **Đoković, R., Šamanc, H., Petrović, M. D., Ilić, Z.,Kurćubić, V., (2012)**. Relationship among blood metabolites and lipid content in the liver in transitional Dairy Cows. Biotechnology in Animal Husbandry28, 705-714.

54) **Đoković, R., Ilić, Z., Kurćubić, V., Petrović, M.P.,Petrović, V. C., Milošević, B., Omerović, I. ,(2016) .** Determination metabolic and nutritional status in dairy cows during early and midlactation. Biotechnology in Animal Husbandry 32, 1-8.

55) **Doković, R., Ilić, Z., Kurćubić, V., Petrović, M., Cincović, M., Petrović, M.P. and Caro-Petrović, V., (2019).** Diagnosis of subclinical ketosis in dairy cows. Biotechnology in Animal Husbandry, 35(2), .111-125.

56) **Duffield, T.F.; Kelton, D.F. ; Leslie,K.E.; Lissemore,K.;and Lumsden,J.H. (1997).** Use of test day milk fat and milk protein to predict subclinical ketosis in Ontario dairy cattle .Can .Vet. journal 38:713-718.

57) **Duffield, T.F.; sandals, K.E.; Leslie, K.; Lissemore, B.W.; Bride, M.C.;Lumsden, J.H.; Dick, P.;andBagg, R. (1998).** Efficacy of monesin for the prevention of subclinical ketosis in lactating dairy cows. J. Dairy Sci. 81:1866-2873.

58) **Duffield, T. F; (2000).** Subclinical ketosis in lactating dairy cattle. Vet. Clin. N. Am. Food Anim. Prac. 16:231-253.(22).

59) **Duffield, T. F. (2003).** Minimizing Subclinical Metabolic Diseases. Tri - State Dairy Nutrition Conference. 519: 824-4120.

60) **Duffield, T.F.(2004).**Monitoring strategies for metabolic disease in transition dairy cows .Quebec, Canada.

61) **Duffield, T.F; Lissemore, K.D; McBride, B.W.and Leslie, K.E. (2009).** Impact of hyperketonemia in early lactation dairy cows on health and production. J Dairy Sci. 92:571–580.

62) **Dunn Y. ; (1992).**Assessment of liver damage and dyes function. In Practice. 1992, July, 193- 200.

63) **Dyce, K. M ; Sack, W. O; and Wensing ,C .J .G . (2002).** Textbook of veterinary anatomy. 3rd ed. Saunders an imprint of Elsevier Science. pp 724 .

-E-

64) Ebner, R.E.; and Schanbacher, F.(1974). Biochemistry of lactose and related compounds. In : Lactation, 2:77.

65) **Elise H, T., (2016).** A Multi-faceted Approach to the Exploration of Ketosis in Dairy Cattle: Detection, Treatment and Risk Factors (Doctoral dissertation).

66) **El – Rashidy, A.A.; Sobhy, M.M.; Kadry, R.M. and Koleaf, Z.M. (1996).** Studies on different causative agents of bovine mastitis. Zag. Vet. J. 24(4): 51 – 59.

67) El-Sagheer ,M.S.;Ali,L.; and Hegazi.A.G .(1992) .California MastitisTest in relation to subclinical mastitis. Egyption journal of Animal Production .Vol.29,p.255-261

68) **Emanuelson, U.; Oltenacu, P. A.; and Grohn, Y. T. (1993).** Nonlinear mixed model analysis of five production disorders of dairy cattle .J.Dairy .Sci.76:2765-2772.

-F-

69) **FAO. (2002).** Bulletin of statistics. Agriculture. Vol.3, P.11-13.

70) **FAO.(2014).** Impact of mastitis in small scale dairy production systems. Animals Production and Health Working Paper.No. 13.Rome.

71) **Feagan,J.T. (1979).** Factors affecting protein composition of milk and their significance to dairy processing, Aust.J.Dairy Technol.,34:77-81.

72) Frandson , R. D.; Wilk, W. L.; and Fails,A.D.(2003). Anatomy and Physiology of farm Animals .Lippincott Williams and Wilkins .USA.

-G-

73) **Geishauser, T.; Leslie, K.; kelton, D.; and Duffield, T. (1998) .** Evaluation of five cow side tests for use with milk to detect Subclinical ketosis in dairy cows. J. Dairy. Sci. 81:438-443.

74) **Geishauser, T.;Leslie, K.;Tenhag, J.; and Bashir A.(2000).** Evaluation of eight cow side ketone tests in milk for detection of subclinical ketosis in dairy. Cows. J. dairy Sci. 83:296 – 299.

75) Gella, F. J.; Olivella, T.; Cruz, P. M.; Arenas, J.; Moreno, R.; Durban, R. and Gomez, J. A. (1985): A simple procedure for routine determination of aspartate aminotransferase and alanine aminotransferase with Pyridoxal phosphate, *Clin. Chim Acta*, 153: 241-247.

76) **Ghanem, M.M., Mahmoud, M.E., Abd El-Raof, Y.M. and El-Attar, H.M., (2016a).** Efficacy of different cow side tests for diagnosis of ketosis in lactating cows. BVMJ, 31(2), .225-30.

77) Ghanem, M.M., Mahmoud, M.E., Abd El-Raof, Y.M., El-Attar, H.M.(2016b). Alterations in biochemical parameters and hepatic ultrasonography with reference to oxidant injury in ketotic dairy cows. Benha Veterinary Medical Journal, Vol. 31, No. 2:231-240,

78) **Ghanem, P.M., (2017).** Clinico-biochemical, oxidative markers and trace elements changes in cows with ketosis. Benha Veterinary Medical Journal, 33(2), .224-236.

79) Gianneechini, R.(2001). Occurrence and etiology of clinical and Sub-clinical mastitis, and antimicrobial susceptibility of udder pathogens in dairy herds in a region in Uruguay Agri. Sci., 1403-2201.

80) **Girma, S., Mammo, A., Bogele, K., Sori, T., Tadesse, F. and Jibat, T.,(2012).** Study on prevalence of bovine mastitis and its major causative agents in West Harerghe zone, Doba district, Ethiopia. Journal of veterinary medicine and animal Health, 4(8), 116–123.

81) **Goff, J.P.; and Horst, R.L.(1997).** Physiological change at parturition and their relationship to metabolic disorder. J. Dairy Sci. 80:1260-1268.

82) **Goff ,J.P ;and Kimura, K. (2003).**Interaction between Metabolic Disease and the Immune System:Why Cows Are Likely to Develop Mastitis at Freshening. Agri. Res. Ames. IA.

83) **Goli, M.; Ezzatpanah, H.; Ghavami, M.; Chamani, M.; Doosti, A. (2012).**Prevalence assessment of Staphylococcus aureus and Streptococcus agalactiae by multiplex polymerase chain reaction (M-PCR) in bovine sub-clinical mastitis and their effect on somatic cell count (SCC) in Iran dairy cows. Afr. J. Microbiol., 6, 3005–3010.

84) **González, F.D., Muiño, R., Pereira, V., Campos, R. and Benedito, J.L., (2011**). Relationship among blood indicators of lipomobilization and hepatic function during early lactation in high-yielding dairy cows. Journal of veterinary science, 12(3), p.251.

85) **Gordon , J.L., LeBlanc, S.J. and Duffield, T.F.,(2013).** Ketosis treatment in lactating dairy cattle. The veterinary clinics of North America. Food animal practice, 29(2), .433-445.

86) **Grohn, Y.T.(2000).** Milk yield and disease : towards optimizing dairy herd health and management decisions. Bov. Prac. 34:32-40.

87) **Grosu-Tudor, S. S., and Zamfir, M. (2011).** Isolation and characterization of lactic acid bacteria from Romanian fermented vegetables. Romanian Biotechnological Letters, 16(6 Suppl.), 148-154.

88) **Grummer,R.R.(1993).** Etiology of lipid related disorder in periparturient dairy cows .J. Dairy Sci .76:3882-3896.

89) **Guha,A. and Gera, S.(2011).**Etio-Prevalence of Subclinical Mastitis in Holstein X Haryana crossbred cattle. Eamr J.1(1):75-78.

90) Gurbulak, K., Canooglu, E.; Abay, M.; Atabay, O. and Bekyurek, T.(2009). Determination of subclinical mastitis in dairy cows by different methods. Kafkas Univ. Vet. Fak., 15: 765-770.

91) **Gustafsson, A.H.;Anderson, L.; and Emannelson, U. (1993).** Effect of hyperketonemia, feeding frequency and intake of concentrate and energy on milk yield in dairy cows, Anim. Prod. 56:51-60.

92) **Gustafsson, H.;and Emanuelson, U.(1996).**Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonemia in dairy cow – the critical value revised. J. Anim. Sci. 63:183 – 188.

-H-

93) Hallen–Sandgren, C.; Svensson, C.; Tivemo, M. J.; and Emanuelson U.(1997). Risk Factor for Juver Inflammation (sveriges lantbruksuniversitet, Fakta Husdyur nr 13). 4 S. Uppsala.

94) **Hand. K.J., Godkin. A.and Kelton ،D.F.(2012).** Milk production and somatic cell counts: A cow-level analysis, Journal of Dairy Science, 95(3): 1358-1362.

95) **Hanus. O.; Klimesova.D.; Samkova.E .;Riha. J.; Chladek. J.; Roubal. P .; Seydlove. R.; Jedelska.R.; AND Kopecky.J.(2017) .**Anlyse Of Relationships Between Some Milk Indicators Of Cow Energy Metabolism And Ketosis State.Acta Universitatis Agriculturae Et Siliviculturae Mendeliianae Brunensis. 65(4):1135 – 1147.

96) **Hawari, A; and Aldabbas .F. (2008).** Prevalence and distribution of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Jordan. American Journal of Animal and Veterinary Sciences. 3(1): 36-39.

97) **Hemraj V.; Diksha S. and Avneet G. (2013).** A review on commonly used biochemical test for bacteria. Innovare J. Life Sci. 1(1): 1-7.

98) Henna. W.; Parveez .A.; Subha .G. (2018). Mastitis and Its Diagnosis: A Review. Journal of Remount Veterinary Corps. 42 (1): 69-78.

99) Heringstad, B.;Karlsen, A.; Klemestdal, G.;and Ruane, J.(1997). preliminary results from a genitic analysis of clinical mastitis data. Proceedings international workshop on genetic improvement of functional traits in cattle; Health, uppsalay, Sweden, Bulletin No.15: 45-49.

100) **Holtenius, P.; and Holtenius, K.(1996).** New Aspects of Ketone Bodies in Energy Metabolism of Dairy cows : A Review, J.Vet. Med., 43: 579 – 587.

101) **Hutjens,M. (2003).** An Alternative to Metabolic disorders; looking at hypocalcaemia. Dairy Decision column, university of Illinois, Urbana.

-I-

102) **Illek, J.;Sindelar, M ;Sedlakova D.; and Pechova, A.(1997).** Concentration of Citric Acid in milk of High –Yielding Dairy Cows With Sub clinical Ketosis,EAAp.48th. Annual Meeting,Vienna.

103) **ISO (International Organization for Standardization). (2002).** Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs: Horizontal Method for the Detection of Salmonella spp.

104) Itle, A.J., Huzzey, J.M., Weary, D.M. and Von Keyserlingk, M.A.G., (2015). Clinical ketosis and standing behavior in transition cows. Journal of Dairy Science, 98(1), .128-134.

105) **Itoth, N.; Koiwa, M.; Hatsugaya, A.; Yokota, H.; Taniyama, H.; Okada, H.; and Kudo,K. (1998).** Comparative analysis of blood chemical values in primary ketosis and abomasal displacement in cow. J. Vet. Med.; A45; 293-298.

-J-

106) **Jacobs, R.M.;Lumsden, J.H.;andGrift, E. (1992).**Effects of bilirubinemia hemolysis, and lipemia on clinical chemistry analytes in bovine, canine, equine, and feline sera. Can. Vet. J. 33:605 – 608.

107) **Jagtap, H.V. (2015).** Clinico-biochemical and oxidative stress studies in ketotic cows [post graduate thesis]. Department of Veterinary Clinical Medicine, Ethics and Jurisprudence, College of Veterinary and Animal Science, Rajasthan University of Veterinary and Animal Sciences, Bikaner (Rajasthan).

108) **Jezek, J. ;Cincovi, M.R.; Nemec, M.; Beli, B.; Djokovi, R. ;Klinkon, M. ;Staricˇ. J.(2017) .** Beta-hydroxybutyrate in milk as screening test for subclinical ketosis in dairy cows. Polish Journal of Veterinary Sciences 20(3) : 507–512.

109) **Jones, G. M. (1998).** Guidelines for using the DHI somatic cell count program. Virginia Cooperative Extension Publication Number. 404-228. Virgina Tech.

110) Jones, G.M.(2004). How does somatic cell count affect milk quality and safety? Virginia Cooperative publication number: 404-403.

-K-

111) **Kayesh, M.; M. Talukder; and A. Anower (2014).** Prevalence of subclinical mastitis and its association with bacteria and risk factors in lactating cows of Barisal district in Bangladesh. International Journal of Biological Research. 2(2): 35–38.

112) **Keffe, G.P.;and Leslie, K. (1997).** Factors affecting susceptibility to intramammary infection and mastitis : an approximate bayesian analysis.Can. Vet. J., 38,429.

113) **Kehrli ,M.E. and Shuster, D.E.(1994).** Factors affecting milk somatic cells and their role in health of the bovine mammary gland .J Dairy Sci .77: 619-627.

114) **Kehrli ,M.E.;Nonnecke,B.J; and Roth, J. A.(1989)** . Alteration in bovine neutrophil function during the periparturient period .Am. J. Vet. Res. 50:207.

115) **Kelly, W. R. (1979).**Veterinary Clinical Diagnosis. 2nd.edition. Bailliere Tindal. London.

116) **Kelly,A.L.;Tiernant ,D.; O. Sulliut, C.; and Joycet, P.(2000).** Correlation between bovine milk somatic cell count and Polymorphonuclear leukocyte level for samples of bulk from individual cows .J.Dairy Sci .,83:300-304.

117) **Khaled, N.F.;Illik, J.;and Gajdusek, S.(1999).**Interactions Between Nutrition, Blood metabolic profile and milk composition in Dairy Goats, Acta Vet. Brno. 68:253-258.

118) **Kimura,K.;Goff, J.P.; and Kehrli, M.E.(1999).**Effect of the presence of the mammary gland on expression of neutrophil adhesion molecules and myeloperoxidase activity in periparturient dairy cows .J.dairy Sci.82:2385-2392.

119) **Kitchen, B.J.(1981).** Review of the progresses of dairy Science: Bovine mastitis : milk composition changes and related daignontic Tests. J Dairy Sci. Res. 48:167-188.

120) **Klastrup,O.; and Schimidt,P.(1974) .** Nordic recommendations concerning mastitis control of quarter samples.Nordic Vet Med.26,197-204.

121) **Kudinha, T. and Simango, C. (2002).** Prevalence of Coagulase – Negative Staphylococci in bovine mastitis in Zimbabwe. J. S. Afr. Vet. Assoc. 73(2): 62 – 65.

122) **Kremer,W.D.;Burvenich,J.C.;Noordhuizen,E.N.;Gromrs,F.J.;andBrand,A.(1993).**Severity of experimental *Escherichia coli* mastitis in ketonemic and non ketonemic dairy cows .J.dairy Sci 76:3428-3436.

123) **Krömker, V. (2007)**. Kurzes Lehrbuch Milchkunde und Milchhygiene. MVS Medizinverlage Stuttgart GmbH Parey germany.

124) **Kumar, R. and Sharma, A. (2002).** Prevalence, etiology and antibiogram of mastitis in cows and buffaloes in Hisar, Haryana. Ind. J. of Ani. Sci., Vol. 72, No.5, P:361-363.

-L-

125) **Leachk. A.; Greenm. J.; Breen, J. E.; Huxley, J. N.; Macaulay, R.; Newton, H.T. and Bradley, A. J. (2008):** Use of domestic detergents in the California mastitis test for high somatic cell counts in milk. Veterinary Record. (163): 566-570.

126) **Lean, I.J., Bruss, M.L., Baldwin, R.L. and Troutt, H.F., (1991).** Bovine ketosis: a review. I. Epidemiology and pathogenesis. Veterinary Bulletin (United Kingdom).

127) **Leblanc, S.;Duffield, T.; and Leslie, K.(2004).**Metabolic predictors of displaced abomasums. J. Dairy Sci. 23: 65-71.

128) Leblance,S. (2010). Monitoring metabolic health of dairy cattle in the transiton period. J. Reprod. Dev. 56: 29- 35.

129) **Leslie, K.;Duffield, T.;Schukken, Y.;and Leblanc, S.J. .(2000).**The influence of Negative Energy Balance on udder Health. National mastitis council. Regional Meeting Proceeding. P:25-33.

130) **Li. Y; Ding. H; Wang. X; Feng. S; Li. XB; Wang. Z; Lin. G;Li. X. (2016) .** An association between the level of Oxidative Stress and the concentrations of NEFA and BHBA in the Plasma Of Ketonic dairy cows.Journal of animal physiology and animal nutrition .100(5):844-851.

131) **Liang, D., Arnold, L.M., Stowe, C.J., Harmon, R.J. and Bewley, J.M.,(2017).** Estimating US dairy clinical disease costs with a stochastic simulation model. Journal of dairy science, 100(2), .1472-1486.

132) **Littledike, E.T., Young, J.W. and Beitz, D.C., (1981).** Common metabolic diseases of cattle: ketosis, milk fever, grass tetany, and downer cow complex. Journal of Dairy Science, 64(6), .1465-1482.

133) **Lucey, S.G.;Rowland , J.; and Russell, A.M. (1998).** Short trerm associations between disease and milk yield of cows. J. Dairy Res. 53:7 – 15.

-M-

134) **Macfaddin, J. F. (2000).** Biochemical tests for Identification of medical bacteria. 3rd ed. Lippin Cott Williams and Wilkins. Philadelphia, USA.

135) **Majeed. Hala M. (2016).** Study on Prevalence of Bovine Mastitis and Its Major Causative Agents in Salahadin City, Iraq. Journal Tikrit Univ. For Agri. Sci. Vol. (16) No.(2): 7- 14.

136) **Manlongat, M. T.; Yang, Y.; Hinckley, L.S.; Robert; Bendel, B.; and Rider, H. M. (1998).** Physiologic – chemoattractant induced migration of polymorphnuclear Clinical and Diagnostic laboratory immunology 5(3): 375-381.

137) **Marutsova, V.J., Marutsov, P.D. and Binev, R.G., (2019).** Evaluation of some blood liver parameters in cows with subclinical and clinical ketosis. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 22(3), .314- 321.

138) **McArt, J. A. A., Nydam, D. V. and Oetzel, G. R.(2012).** Epidemiology of subclinical ketosis in early lactation dairy cattle. J. Dairy Sci. 95:5056-5066.

139) **McArt, J.A.A., Nydam, D.V. and Overton, M.W., (2015).** Hyperketonemia in early lactation dairy cattle: A deterministic estimate of

component and total cost per case. Journal of dairy science, 98(3), .2043-2054.

140) **McDougall, S.; Barlow, J.; Pankey, W.; Delaney, C. and Barlow, J. (2000**). Prevalence and incidence of subclinical mastitis in dairy ewes and goat. Animal health center. 60: 287-290.

141) McDowell, R.E. (1994). Dairying with improved breeds in warm climates. Kinnic Publ. N.C.

142) **MDC (2007):** Milk Development Council Breeding Bull Evaluations. Accessed at: http://62.25.97.246/.

143) **Meena, V.K. (2016).** Clinico-biochemical, biomarkers, hormonal and therapeutic studies in ketotic cows [post graduate thesis]. Department of Veterinary Clinical Medicine, Ethics and Jurisprudence, College of Veterinary and Animal Science, Rajasthan University of Veterinary and Animal Sciences, Bikaner (Rajasthan).

144) **Meena ,M.K.(2017).** Clinico-biochemical, biomarkers and therapeutic studies in ketotic cows [post graduate thesis]. Department of Veterinary Clinical Medicine, Ethics and Jurisprudence, College of Veterinary and Animal Science, Rajasthan University of Veterinary and Animal Sciences, Bikaner (Rajasthan).

145) **Mellenberger, R.(2001).** Clinical mastitis during lactation. British Vet.J., 151: 197.

146) **Miettene, P.V. (1994).** Relationship between milk acetone and milk yield in dividual cows. J. Vet. Med. A.41:102-109.

147) **Mohammed J. J. and Mohsin R. K., (2013).** A Study Of Subclinical Ketosis In Cows In Basra Province, Bas. j. vet. Res. Vol.12,No.2;81-89.

148) **Mohammed. N;, Jaiswal .Manu and Bihani. D. K. (2019).** Prevalence of subclinical and clinical ketosis in cattle in and around Bikaner, Biological Rhythm Research. 22:97–110.

149) **Mohammed . Z.A. (2021).** Association between clinical and Subclinical mastitis and reproductive performance of cow at Nottingham diary centre. . Iraq journal of Veterinary Science, Vol (35)No (2):343 – 350.

150) **Mohebbi, M. R., Lotfollahzadeh,S., and ., Sadegh, M. M.,(2019).** Evaluation of Negative Energy Balance in Dairy Cows in Qom Province, and its Relationship with Periparturient Diseases. Dairy and Vet. Sci. J. 10(2),.1-3.

151) **Mostert, P.F., Bokkers, E.A.M., Van Middelaar, C.E., Hogeveen, H. and De Boer, I.J.M., (2018).** Estimating the economic impact of subclinical ketosis in dairy cattle using a dynamic stochastic simulation model. Animal, 12(1), .145-154.

152) Mrode,R.A.; Swanson,G.J.; and Winters,M.S.(1998). Genetic parameters and evaluations for somatic cell count and its relationship with production and type traits in some dairy breeds in the United Kingdom .Anim.Sci .,66:569-576.

153) Mrode, R.A.;Swanson, G.J.; and Lindbery, G.M.(2002). Genetic Correlation of Somatic cell Count and conformation traits with herd life in the United Kingdom., Anim. Sci., 65:119-130.

154) **Mureithi, D. K.; and Njuguna .M. N. (2016)** Prevalence of subclinical mastitis and associated risk factors in dairy farms in urban and peri-urban areas of Thika Sub County, Kenya. Livestock Research for Rural Development 28 (2).

155) Murphy, J.M.;and Hanson, J.J.(1941). A modified white side test for the detection of chronic bovine mastitis. Cornell Vet. J., 31: (1) 47.

-N-

156) **Nada, H.S (1994).** Comparative studies on different media isolation of pathogenic staphylococci from tetail milk .Assiut. Vet. Med.J. Vol. 31. No. 62.

157) **Natzke ,R.P.(1975).**Physiological facter affecting mastitis –screening test and composition ,J.sci of food and agri., 20:109-110.

158) **Nelson, P. W. and Stephen, N. C. (2003).** Wining the fight against mastitis. Westphalia surge. , Inc. U.S.A. PP. 1 – 33.

159) **Nielen, M.,M.G.A. Aarts, A.G.M. Jonkers. T. Wensing, and Y.H. schukken.(1994).** Evaluation of two cow side tests for the detection of SCK in dairy cows. Can. Vet. J. 35:229-232.

-O-

160) **Oetzel, G. R. (2004).** Monitoring and testing dairy herds for metabolic disease. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 20:651–674.

161) **Oltenacu, P.A. and Ekeesbo, I.(1994)**. Epidemiological study of clinical mastitis in dairy cattle. Vet. Res. 25:208-212.

162) **Orsolya, B.; Sandor, T.; and Laszlo, V .(2003).** Concentration of citrate and ketone bodies in cows raw milk., periodica polytechnic SER. CKEM. ENG. Vol. 46 , No. 1-2 PP 93-104.

163) **Osborne, T. M. (2003).** An evaluation of metabolic function in transition dairy cows supplemented with Rumens in premix or Administered a controlled–release capsule, MSC dissertation, University of Guelph.

164) **Ospina, P.A., Nydam, D.V., Stokol, T. and Overton. T.R. (2010).** Evaluation of nonesterifed fatty acids and beta-hydroxybutyrate in transition dairy cattle in the northeastern United States: critical thresholds for prediction of clinical diseases. J. Dairy Sci. 93:546–554.

165) **Ostensson, K.; Lam. V.; Sjogren .N.; and Wredle. E. (2013).** Prevalence of subclinical mastitis and isolated udder pathogens in dairy cows in Southern Vietnam. Tropical Animal Health and Production. 45(4): 979–986.

-P-

166) **Padilla, L., Shibano, K.I., Inoue, J., Matsui, T. and Yano, H., (2005)**. Plasma vitamin C concentration is not related to the incidence of ketosis in dairy cows during the early lactation period. Journal of veterinary medical science, 67(9), .883-886.

167) **Paramesh, S.C., Kumar, M.A., Ramesh, P.T., Upendra, H.A., Narayanaswamy, M. and Manjunath, K.P., (2020**). Haematological and biochemical changes in subclinical ketosis affected cross bred cows in and around Bangalore.

168) **Patil, N. A; Harapanahalli, M. D; Mulia, J. A; Hosamani, S .V; and Pugashetti, B. K .(1995).** Comparative study on prevalence and diagnosis of subclinical mastitis in cows and buffaloes. Ind. J. Dai. Sci. 48 (7):478-479

169) **Perrin, G.G.;Mallereau, M.P.;Lenfant, D.; and Bandry, G.(1997)** RelationShip between California Mastitis Test (CMT) and Somatic cell counts in dairy goats . Small Rumin. Res. 20:167-170.

170) **Philpot, W. N. and Pankey, J. W. (1973).** Comparison of four methods for enumerating somatic cells in milkwith an electron counter. J. Milk Food Technol. 36: 94-100.

171) **Philpot, W.N. and Nikerson, S.C.(1991).** Mastitis. Counter attack, a strategy to compact mastitis. Babson Bros. Co., Napervill, IL

172) **Philpot, W.N. and Nikerson, S.C.(1999).** Mastitis. Counter attack, a strategy to compact mastitis. Babson Bros. Co., Napervill, IL.

173) **Philpot, W. N.; and Nickerson, S. C. (2003).** Wining the fight against mastitis, Westfalia Surge, Inc. USA, PP 1-33.

174) **Pilotto, A., Savoini, G., Baldi, A., Invernizzi, G., De Vecchi, C.,Theodorou, G., Koutsouli, P. and Politis, I., (2016).** Associations between blood fatty acids, β-hydroxybutyrate, and α-tocopherol in the periparturient period in dairy cows: An observational study. Journal of dairy science, 99(10), .8121-8126.

175) **Pritchard, D.E. (2005).**The Association of Inadequate Energy intake at Calving Time with Mastitis. Dairyman., 18:784.

176) **Pyorala S. (2003).** Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. *Veterinary Research.* 34(5): p. 565-578.

-Q-

177) **Quaderi, M.A. (2005).**Pervalence of subclinical mastitis in dairy farms. MS Thesis, Department of Surgery and Obstetrics, Faculty of Veterinary Science, BangladeshAgricultural University, Mymensingh, Bangladesh.

-R-

178) **Raboisson, D., Mounié, M. and Maigne, E., (2014)**. Diseases, reproductive performance, and changes in milk production associated with subclinical ketosis in dairy cows: a meta-analysis and review. Journal of Dairy Science, 97(12), .7547-7563.

179) **Radostits, O.M.; Gay, G.C.; Blood, D.C. and Hinchiliff, K.W. (2000a).** Mastitis in: Veterinary Medicine, A text Book of the Diseases of the Cattle, Sheep, Pigs, Goats and Horses. 9th ed., W.B. Saunders Company Ltd., London, New York, PP. 603 – 630.

180) **Radostits, O.M., Gay, C.C., Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000b) .** Veterinary Medicine, 9th Ed., ELBS, Bailliere Tindall, London, UK, pp.1452-1462

181) **Radostits ,OM.; Gay, CC.; Hinchcliff, KW. and Constable, PD. (2007).** Mastits. In: Veterinary Medicine: A Text book of disease of cattle,sheep, pigs, goats, and horses 10th edition, Ballier, Tindall, London.P:674-762.

182) **Radostits, O.M, Gay, C.C, Hinchcliff, K.W. and Constable, P.D.(2010).** A textbook of the diseases of cattle, sheep, goats, pigs and horses. 10th ed. Philadelphia: WB Saunders Co. Veterinary Medicine. 10th ed. London: Bailliere and Tindall; p. 1614–1618 and 1661–1668.

183) **Rahman, M. M.; Ilams; M. R. Uddin; M. B. and Aktaruzzaman M. (2010).** Prevalence of subclinical mastitis in dairy cows reared in Sylhet District of Bangladesh. Int. J. Bio Res. 1(2): 23-28.

184) **Ranjan, R.; M. K. Gupta; S. Singh; and S. Kumar (2010).** Current trend of drug sensitivity in bovinemastitis. Veterinary World. 3: 17-20.

185) Raza, S.H. (2005). Mastitis :A Monster Threat to Dairy Industry. World Veterinary Association .PP 2-18.

186) Reddy, J.S., Syamasunder, N. and Choudhuri, P.C., (1986). Subclinical ketosis in crossbred cattle in an organized dairy herd. J. Res, 14,.170-172.

187) **Rehage, J. ; K. Qualmann, C. ; Meier, N. ; Stockhofe-Zurwieden, Hoeltershinken, M. ; and Pohlenz. J. ; (1999).** Total serum bile acid concentrations in dairy cows with fatty liver and liver failure. Dtsch.Tieraerztl. Wochenschr. 106(26):126–129.

188) Reid, I. M. ; (1980). Incidence and severity of fatty liver in dairy cows.Vet. Rec. 107(26):281–284.

189) **Rice, D. N. (1997).** Using the california mastitis test. University of Nebraska, agriculture and natural resources .

190) **Rogers, G.W.(2002).** Aspects of Milk Composition, Productive life and type traits in relation to mastitis and other diseases in dairy cattle. 7th. Livestok production, August 19-23, montpellier, France.

191) **Rohrbach, B.W.; Gannedy, A.L.; Freeman, K. Slenning, D.B. (1999).** Risk factor for abomasal displacement in dairy cows. J. of the AVMA; 214: 1660-1672.

192) **Roitt, I.M.(1991).** Essential Immunology, seventh edition. Black well scientific publications, Oxford, England. P.170.

193) **Roy, M., Roy, S., Jogi, S. and Sahu, B.D. (2007).** Clinicobiochemical alterations in ketosis in crossbred cows. Intas Polivet., 8(2): 400-402.

194) **Ruegg ,P.(2001).** Disease causation and prevention ,Babcok institute ,Dairy up dates university of Wisconsin No.403.

-S-

195) **Saadoon.A.S . (2022).** Clinical and Subclinical mastitis in Buffalue in Mosul, Iraq. Iraq journal of Veterinary Science, Vol (36)No (1):177 – 186.

196) **Saidi, R.; Khelef .D.; and Kaidi .R. (2013).** Bovine mastitis: Prevalence of bacterial pathogens and evaluation of early screening test. African Journal of Microbiology Research. 7(9): 777-782.

197) **Samiei, A., Liang, J.B., Ghorbani, G.R., Hirooka, H., Yaakub, H. and Tabatabaei, M., (2010).** An evaluation of [Beta]-hydroxybutyrate in milk and blood for prediction of subclinical ketosis in dairy cows.Polish journal of veterinary sciences, 13(2), p.349.

198) Sampimon, O. C.; Riekerink; O.and Lam T. J. G. M. (2008). Prevalence of subclinical mastitis pathogens and adoption of udder health management practices on Dutch dairy farms: preliminary results," in Mastitis Control: From Science to Practice. Pp.39–46**.**

199) Sandholm, M. ;Honkanem-Buzals,T;Kaartien.;and Pyorala, S. (1995a). Detection of inflammatory changes in milk .the bovine udder andmastitis .Univesity of Helsinki, PP.89-104.

200) Sandholm, M.; Honkanem- Buzalski, T.; Kaartien, L.;and Pyorala, S.(1995b). Isolation and identification of pathogens from milk the bovine udder and mastitis. University of Helisinki; PP:121-142.

201) **Sartorelli, P. Paltrinieti, S. and Comazzi, S. (2000).** Non specific immunity and ketone bodies. II; in vitro studies on adherence and super-oxide anion production in ovine neutrophils. J. Vet. Med. Ser. A 47:1-15.

202) Schallibaum, M.(2001). Impact of SCC on the quality of fluid milk and cheese. Proc. 40th Annual Meeting, National Mastitis Council, Madison, WI.

203) **Schukken, Y.H.;Erb,H.N.;and Smith,R.D. (1988**).The relationship between mastitis and retained placenta in a commercial population of Holstein dairy cows .Prev .Vet. Med, 5:181-190.

204) Schukken,Y.H.; Grommers, F.J.; vandeGeer,D.;and Brand,A. (1989). Incidence of clinical mastitis on farms with low Somatic cell count in bulk milk .Vet.Rec.125:60.

205) Schukken, Y.H.; Lam, T.J.; and Barkema, H.W.(1997). Biological basis For, Selection on udder health traits, Bull., 15:27-33.

206) **Seifi, H.A., LeBlanc, S.J., Leslie, K.E. and Duffield, T.F., (2011).** Metabolic predictors of post-partum disease and culling risk in dairy cattle. The Veterinary Journal, 188(2), .216-220.

207) **Senthilkumar, V., Safiullah, A.M., Kathiravan, G., Subramanian, M. and Mani, K.,(2015).** Economic losses due to ketosis in dairy farms. Indian Journal of Veterinary and Animal Sciences Research, 11(2), .102-104.

208) **Şentürk, S., Cihan, H., Mecitoğlu, Z., Catik, S., Demir Akgül, G., Kasap, S. And Topal, O.,(2016).** Prevalence of ketosis in dairy herds in Marmara, Aegean and Mediterranean regions of Turkey.

209) **Sevinc M, ; Basoglu A, ; Birdane FM. ; (2001)** Liver function- in dairy cows with fatty liver. Rev Med Ve 152: 297-300.

210) **Sharif, M., Hadadi, M., Noughabi, H. H., Mohammadi, A., Rostami F., andSharif H., (2017).** Bovine subclinical ketosis in dairy herds inNishaboor, Iran. Comp. Clin. Pathol, 21,pp1637– 641.

211) **Sharma, N., Upadhyay, S.R. and Srivastava, A.K., (2009)**. Bovine ketosis- An overview. Agrovet Buzz, 1(6), .43-47.

212) **Shekhan, M.(2011).** Subclinical and Clinical Staphylococcal Bovine mastitis in Al-Diwaniya province. M. thesis. Vet. College Al Qadissiya.

213) **Shitandi, A.; and Kihumbu, G .(2004).** Assessment of the California mastitis test usage in Small holder dairy herdsand risk of Violative antimicrobial residnes. J. Vet.Sci. 5(1);5-9.

214) **Shitandi, A.; Anakalo, G.; Galgalo, T. and Mwangi, M. (2004).** Prevalence of bovine mastitis among small holder dairy herds in Kenya. Is. Vet. Med. Associ. J. 59(12): 100 – 112.

215) **Shukla, S. K; Dixit, V .P;Thapliyal, S .K;Garg, S. K; and Kumar, A. .(1997) .**A note on the incidence of bovine mastitis in relation to teat shape, size and quarters affected. Ind. Vet. J. 74(11):989-990.

216) **Shukri, N.A; El-Abd,K.; Shaker, H; and Hanna, S. S. (1981).** compositionand sum properities of janubi (native breed)cows milk .the Arab Gulf,Vol. 13, No. i. b.13.

217) **Silva, J.; Barbosa, S.; Abreu, B; Santoro, K.; Silva, E.; Batista, M.;and Martinez, R.(2018).** Effect of somatic cell count on milk yield and milk components in Holstein cows in a semi-arid climate in Brazil , Revista Brasileira de Saude e Producao Animal,19(4):391-402.

218) **Simonov, M. and Vlizlo, V. (2014).** Some blood markers of the functional state of liver in dairy cows with clinical ketosis.Bulg. J. Vet. Med

219) **Sol,J. (2002).** Summer Mastitis :Incidence, Bacteriology ,Etiology ,Method of prevention and Entomological aspects Kieler Milk chwirtschaftliche fors chungsberiche. 37:593- 600.

220) **Sordillo,L.M.; Shafer,K.; andDeRosa,D. (1997).** Immunobiologyo of the mammary gland .J. Dairy Sci .80:1851-1856.

221) **Souci, S.W. ; Fachmann, W. ;and Kraut T. H.(1994).** Food composition and nutrition and nutrition tablets, CRC press, Stuttgart, PP.12-13.

222) **Sumathi, B.R.; Veeregowda, B.M. and Gomes, A. R. (2008).**Prevalence and antibiogram profile of bacterial Isolates from clinical bovine mastitis. Vet. World , 1(8): 237-238.

223) **Sung, Y.Y.; Wu, T. I.; and Wang, P.H.(1999).** Evaluation of milk quality of Alpine, Nubian, Saanen and to ggenbnrg in taiwan. Small Rumin. Res. 33:17-23.

224) **Suriyasathaporn, W.; Daemen, A.J.; Noordnuizen– stassen, E.N.; Dieleman, S.J.; Nielen, M.; and schukken, Y.H.(1999).** Beta-hydroxy butyrate levels in prepheral blood and keton bodies supplemental in culture media affect the in vitro chemo taxis of bovine leukocytes. Vet. Immannopathol., 68:177-186.

225) **Suriyasathaporn, W.; Heuer, C.; Noordhuizen– stassen, E.N.; and schukken, Y. H. (2000).** Hyperketonemia and the impairment of udder defense; a review. Vet. Res. 31:397– 412.

226) **Suthar, V. S., Canelas-Raposo, J. Deniz, A. and Heuwieser. W. (2013).** Prevalence of subclinical ketosis and relationships with postpartum diseases in European dairy cows. J. Dairy Sci. 96:2925–2938.

227) **Swenson, M.;and Reece, W.(1993).**Duke's physiology of domestic animals. 11th.edition. McGraw - Hill Companies. PP:492-497.

228) **Szenci, O., Beckers, J.F., Humblot, P., Sulon, J., Sasser, R.G., Taverne, M.A.M., Varga, J., Baltusen, R. and Schekk, G. (1998).**Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy– specific protein B and bovine pregnancy – associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology, 50: 77-88.

-T-

229) **Tadesse Getachew.(2019).** Ketosis and it is Economic Importance in Dairy Cattle: A Review. Dairy and Vet Sci J 10(5):1-8.

230) **Talaro. K.P and Chess. B .(2018).** Foundations In Microbiology, McGraw-Hill Education, New York.

231) **Thirunavukkarasu, M., Kathiravan, G., Kalaikannan, A. and Jebarani, W.,(2010).** Prevalence of ketosis in dairy farms–A survey in Tamil Nadu. Tamil Nadu Journal of Veterinary and Animal Sciences,6(4), .193-195.

232) **Thiruvengadam. M ,.Venkidasamy . B,. Selvaraj.D . (2019).** Sensitive screen printed electrodes with the colorinetric zone for simultaneous determination of mastits and ketosis in bovine milk samples .journal of photochemistry and photobiology,.1344(19).

233) **Thorberg, B. M (2008).** Coagulase-Negative Staphylococci in bovine sub-clinical mastitis, Sveriges lantbruksuniv, Uppsala, Sweden. 2: 1653-8315.

234) **Trinder, P. (1969).** Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. Ann Clin Biochem., 6: 24-27.

235) **Tveit, B.; Lingaas, F.; Svensen, M. ; and Syaasta,O.V.(1992).** Etiology of Acetonemia in Norwegian cattle. 1. Effect of ketogenic Silage, season. Energy Level, and genetic factors. J. Dairy. 75:2421-2432.

-U-

236) **Uyarlar .C; Cetingul. I.S;Gultepe .E.E ;Sial.A.R and Bayram.I .(2018) .**Effect of Subclinical and Clinical Ketosis on The Incidence of Mastitis, Metritis, Culling Rate and Some Hematological Parameters in dairy Cows, Kocatepe Vet J.11(2):186 – 193.

-V-

237) **Van der Drift, S.G.A., Van Hulzen, K.J.E., Teweldemedhn, T.G.,Jorritsma, R., Nielen, M. and Heuven, H.C.M., (2012).** Genetic and nongenetic variation in plasma and milk β-hydroxybutyrate and milk acetone concentrations of early-lactation dairy cows. Journal of dairy science, 95(11), .6781-6787.

238) **Vanholder, T., Papen, J., Bemers, R., Vertenten, G. and Berge, A.C.B., (2015).** Risk factors for subclinical and clinical ketosis and association with production parameters in dairy cows in the Netherlands. Journal of dairy science, 98(2), .880-888.

239) **Vanwerven , T.,Y.H. schnkken, E.N. Noordhnizen, A.J.J.M. Daemen, C. Burvenich, and A. Brand.(1999).** Relation between metabolic status around parturition and the out come of an experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in dairy cows . PhD. Thesis Utrecht, The Netherland.

240) **Vince, S., Đuričić, D., Valpotić, H., Gračner, D., Folnožić, I., Špoljarić, B.,Sobiech, P. and Samardžija, M., (2017).** Risk factors andprevalence of subclinical ketosis in dairy cows in Croatia. Veterinarski arhiv, 87(1), .13-24.

241) **Voyvoda, H. and Erdogan, H., (2010).** Use of a hand-held meter fordetecting subclinical ketosis in dairy cows. Research in veterinary science, 89(3), .344-351.

-W-

242) **West, H.J. ; (1990).** Liver function in dairy cows in late pregnancy and earlylactation. The Bovine Practitioner, , 25, 127-130.

243) White Side ,W. H. (1939). observation on new test for the presence of Mastitis in milk Cand. Publ. Hith ,30 :44.

-Y-

244) Yang, W., Zhang, B., Xu, C., Zhang, H. and Xia, C., (2019). Effects of ketosis in dairy cows on blood biochemical parameters, milk yield and composition, and digestive capacity. Journal of veterinary research, 63(4), p.555

245) Youssef, M.A., El-Khodery, S.A., El-deeb, W.M. and Abou El-Amaiem, W.E., (2010). Ketosis in buffalo (Bubalus bubalis): clinical findings and the associated oxidative stress level. Tropical animal health and production, 42(8), .1771-1777.

-Z-

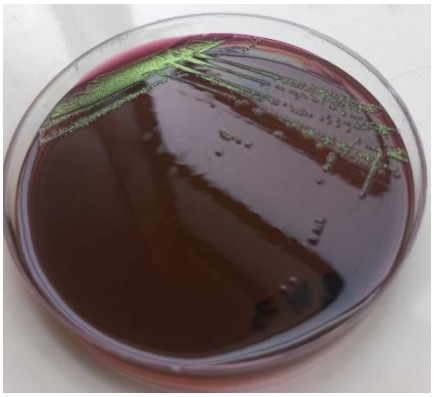
246) **Zadnik, T. ;Klinkon,M.;Nemec,M;andMesaric,M (2001).**The analysis of weekly milk bulk tank compona routine indicater of herd health stat.Israel veterinary medical Association.Vol.56.(2).

247) **Zeng ,S.S. and Escobar ,E.N. (1995).**Effect of parity and milk production on somatic cell count ,standard plate count and composition of goat milk .Small Rumin .Res.17:269-274.

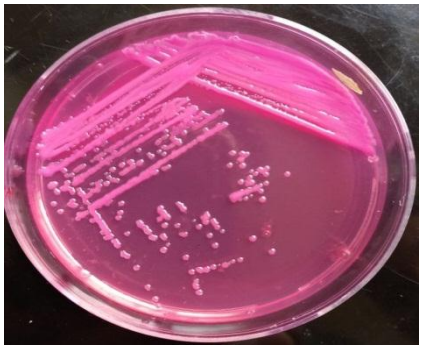
248) **Zhang, Z., Liu, G., Wang, H., Li, X. and Wang, Z., (2012).** Detection of Subclinical Ketosis in Dairy Cows. Pakistan Veterinary Journal, 32(2).

الملحق

Appendice



الإشريكية القولونية على EMB



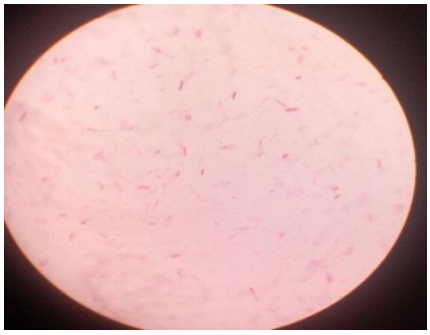
الإشريكية القولونية على ماكونكي



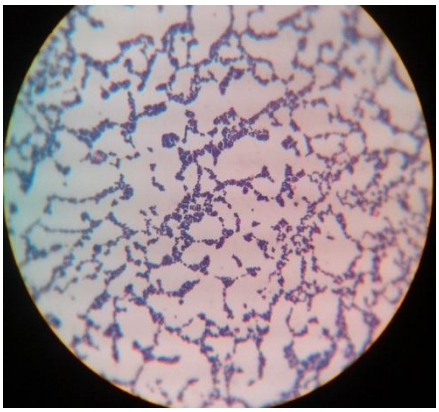
العصويات إيجابية الغرام على الآغار المغذي



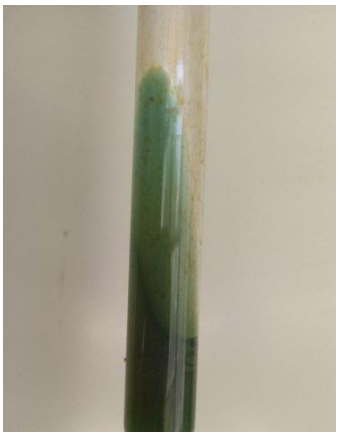
العنقودية الذهبية على شابمان



صبغة غرام E.coli



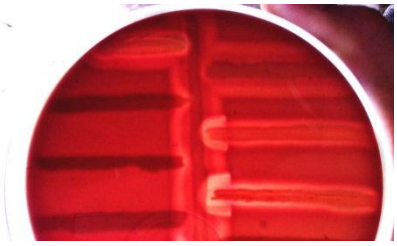
صبغة غرام عنقودية ذهبية



اختبار استهلاك السترات سلبي



اختبار استهلاك السترات إيجابي



اختبار كامب



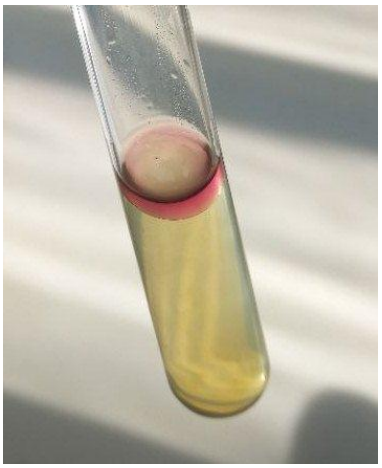
اختبار الكشف عن الأجسام الكيتونية في الحليب سلبي



اختبار الكشف عن الأجسام الكيتونية في الحليب إيجابي



الاشريكية القولونية على كليجلر



اختبار الأندول نتيجة إيجابية



اختبار الأندول نتيجة سلبية

Syrian Arab Republic

Hama University

Faculty of Vet. Med

Department of Animal Diseases

Prevalence of Subclinical Ketosis and its Relationship to Subclinical Mastitis in Dairy Cattle in the Central Region in Syria

A Thesis is presented
By

M.NOUR ALI HADLA

For

The Degree of PHD in Veterinary Medical Science
(Internal Medicine)

Supervised By

Dr. AHMAD AL-KASEM

Dr. ADEIB AL-ZAIN

1445 H-2024AD