التحري عن الأجسام المضادة لداء البروسيلا في النعاج في مدينة الموصل

فنار أبلحد اسحق دانيال صفوان يوسف البارودي عمار محمود العالم
مزاحم ياسين العطار محمد نجيب الشاهري نبال سامي ميخائيل
فرع الأحياء المجهرية / كلية الطب البيطري
جامعة الموصل

الاستلام القبول
2011 / 02 / 03 2011 / 06 / 01

Abstract

This study included 2 groups of ewes in the first group the samples were collected during September 2006 till march 2007 (200 samples) including vaccinated, non vaccinated with Rev1 vaccine and aborted ewes. While the ewes in second group are non vaccinated only, the samples were collected during April 2007- September 2008 (94 samples). The Rose Bengal test (RBT) was done for all samples then 2-mercaptoethanol test (2ME) has done on positive samples in (RBT). the results showed the percentage ratio of the positive samples to RBT & 2ME was high in vaccinated ewes (78.27%, 86.04% respectively) and low in aborted ewes (26%,15.38%) respectively too, while the percentage ratio of RBT and 2ME in 2nd group was 7.44 and 71.42 respectively.

الخلاصة

شملت الدراسة مجموعتين من النعاج، المجموعة الأولى والتي جمعت منها 200 عينة للفترة من ايلول 2006 لغاية آذار 2007 توزعت بين نعاج ملقحة بلقاح Rev1 وغير ملقحة وأخرى مجهضة، أما المجموعة الثانية تم جمع 94 عينة للفترة من نيسان 2007 لغاية ايلول 2008 و من نعاج غير ملقحة فقط، واجري على هذه العينات اختبار الروزبنكال (RBT) والعينات التي أعطت نتيجة موجبة لاختبار (RBT) اجري فيما بعد عليها اختبار 2-

mercaptoethanol (2ME). أظهرت النتائج بان النسبة المئوية للعينات الموجبة لاختبار الروزبنكال واختبار 2ME في المجموعة الأولى كانت أقصاها في النعاج الملقحة وبلغت 78.27 % و86.04% على التوالي وأدناها في النعاج المجهضة وبلغت 26% و15.38% على التوالي ايضا، اما النسبة المئوية لاختبار الروز بنكال و اختبار 2ME في المجموعة الثانية فكانت 7.44% و 71.42 % على التوالي.

المقدمة

داء البروسيلا و يدعى بحمى مالطا او حمى البحر الابيض المتوسط او الحمى المتموجة، هو احد اهم الامراض الخمجية والمعدية التي تصيب كل من الانسان والحيوان على حد سواء ومسبب هذا المرض هو عدد من الجراثيم المتكيفة للمضيف، سالبة لصبغة الكرام تعيش داخل الخلية تدعى بجنس البروسيلا ويمتاز المرض الذي تحدثه هذه الجراثيم بالاجهاض، احتباس المشيمة، والتهاب الخصيتين والبربخ (1) وهو من الامراض المشتركة واسعة الانتشار في العالم ويعتبر احد اهم المسببات الرئيسية للخسائر الاقتصادية في قطعان الماشية فضلا عن خطورته على صحة الانسان (2،3). وفي البلدان الصناعية المتقدمة تم القضاء على هذا المرض، بينما ظهوره وخطورته ازدادت وتفاقمت في البلدان النامية (4). ان النوع الرئيسي للبروسيلا التي تتواجد وتصيب النعاج في الشرق الاوسط هو *Brucella melitensis* (5، 6) والعلامات الرئيسية لهذا المرض في النعاج والماعز هي الاجهاض في الشهر الثالث او الرابع من الحمل،وولادة حملان ضعيفة اضافة الى العقم (7). ان صفة المرض المشترك zoonotic disease تجعل هذا المرض سهل الانتقال من الحيوان الى الانسان (8). وتشير الخاصية الوبائية للمرض بان 90% من اصابات الانسان بداء البروسيلا تحدث نتيجة التماس المباشر مع القطعان المصابة او استهلاك الحليب الخام او منتجاته (9) ويعتبر هذا المرض مشكلة كبيرة في الشرق الاوسط لكل من الانسان والحيوان وتم تسجيله في كل من العراق والأردن والمملكة العربية السعودية وسوريا وبنسب حدوث مختلفة (10). لذلك كان هدف هذا البحث هو دراسة مسحية لامصال الحيوانات (النعاج) المصابة ظاهريا بعلامات هذا المرض وبمساعدة تاريخ الحالة المرضية للقطيع للتعرف على مدى انتشار هذا المرض وخطورته في المنطقة.

المواد وطرائق العمل

جمع عينات الدم: تم جمع عينات الدم من الوريد الوداجي للنعاج بمقدار 5–10 مل من كل حيوان حيث تم تعقيم المنطقة بالكحول قبل سحب الدم ومن ثم تركت عينات الدم لتتجلط بعدها نبذت بجهاز الطرد المركزي بسرعة 3000 دورة/دقيقة لمدة 10– 15 دقيقة ثم سحب المصل

منها باستخدام ماصات باستور معقمة ووضع في انابيب بلاستيكية سعة 5 مل وحفظ بدرجة -20 م لحين فحصها (8). حيث شملت العينات المفحوصة مجموعتين:

الأولى:- جمعت في الفترة من ايلول 2006 لغاية اذار 2007 وكان عدد العينات فيها 200 عينة قسمت الى مجاميع ثانوية تضمنت عينات من نعاج ملقحة بلقاح REV.1 واخرى غير ملقحة فضلا عن عينات النعاج المجهضة.

الثانية:- وجمعت للفترة من نيسان 2007 لغاية ايلول 2008 وكان عددها 94 عينة. حيث كان مصدر جميع هذه العينات من حيوانات غير ملقحة بلقاح فقط REV.1.

2- الاختبارات المصلية:- تم فحص معيار الاجسام المضادة في عينات المصل ضد داء البروسيلا باستخدام الاختبارات التالية:

أ- اختبار الروزبنكال Rose Bengal Test تم اجراء الاختبار حسب طريقة(11) باستخدام المستضد القياسي للبروسيلا المنتج من قبل شركة (Omega Diagnostic. UK). وذلك بمزج حجوم متساوية من المستضد القياسي مع المصل، وتم قراءة النتائج خلال فترة 4 دقائق حيث ان حدوث التلازن خلال اول دقيقتين اعتبر نتيجة موجبة بينما تاخر حدوثه لاكثر من 4 دقائق اعتبر نتيجة سالبة.

ب- اختبار 2- Mercaptoethanol (2 ME): استخدمت مادة 2 Mercaptoethanol بمعيارية 0.2 M حيث أضيفت لحجوم متساوية من المصل الموجب باختبار الروز بنكال وحضنت المصول لمدة 60-90 دقيقة في درجة 37 مئوية ثم اجري تخفيف ثنائي للمصل المعامل بوضع 0.05 مل منه مع 0.05 مل من محلول الملح الفسلجي تلاه نقل 0.05 مل بعد مزج جيدا إلى الأنبوب الثاني الحاوي على محلول الملح الفسلجي 0.05 مل واستمرت العملية ليتم إهمال 0.05 مل من التخفيف الأخير ثم وضع مستضد البروسيلا القياسي (Omega Diagnostic. UK) 0.05 مل على جميع التخافيف وعد ظهور التلازن كنتيجة موجبة(12).

النتائج

1- المجموعة الأولى:

أ- نتائج اختبار الروز بنكال Rose Bengal Test (RBT):- اظهرت نتائج ان النسبة المئوية للنعاج الملقحة وغير الملقحة والمجهضة كانت (78.27% و50 % و26%) على التوالي (جدول 1).

ب- نتائج اختبار 2- Mercaptoethanol (2 ME):- بعد اجراء هذا الاختبار على العينات التي أعطت نتيجة موجبة لاختبار الـ RBT لوحظ بان أعلى النسبة المئوية للعينات الموجبة في النعاج الملقحة و غير الملقحة والمجهضة بلغت (86.04%،81.25%،15.38%) وعلى التوالي.

2- المجموعة الثانية:

أ- نتائج اختبار الروز بنكال Rose Bengal Test(RBT):- بلغت النسبة المئوية للعينات الموجبة باستخدام هذا الاختبار 7.44 % فقط خلال الفترة اعلاه.

ب- نتائج اختبار 2- Mercaptoethanol (2 ME):- كانت النسبة المئوية للعينات التي اعطت نتيجة موجبة لاختبار RBT 71.42 %.

جدول 1: أعداد الحيوانات والنسبة المئوية للعينات الموجبة لمرض البروسيلا باستخدام اختباري Rose Bengal Test و 2- Mercaptoethanol في المجموعة الأولى

عدد العينات	نوع الحيوان	اختبار الروزبنكال			اختبار 2-mercaptoethanol			الملاحظات
		العينات الموجبة	العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة	العينات الموجبة	العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة	
55	نعاج	43	12	%78.27	37	6	%86.04	ملقحة
95	نعاج	48	47	%50	39	9	%81.25	غير ملقحة
50	نعاج	13	37	%26	2	11	%15.38	مجهضة

جدول 2: أعداد الحيوانات والنسبة المئوية للعينات الموجبة لمرض البروسيلا باستخدام اختباري Rose Bengal Test و 2- Mercaptoethanol في المجموعة الثانية

عدد العينات	نوع الحيوان	اختبار الروز بنكال			اختبار 2-mercaptoethanol			الملاحظات
		العينات الموجبة	العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة	العينات الموجبة	العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة	
94	نعاج	7	87	%7.44	5	2	%71.42	غير ملقحة

المناقشة

تستخدم الاختبارات المصلية مثل اختبار الروزبنكال للتحري عن الأجسام المضادة لداء البروسيلا في المصل والحليب ومخاطية المهبل وافرازات الرحم (13). حيث تحتوي سوائل الجسم

على كميات مختلفة من الأجسام المضادة للبروسيلا ويتضح من النتائج (جدول1) بان النسبة المئوية للعينات الموجبة في اختبار RBT كان ادناها في الحيوانات المجهضة ومن ثم غير الملقحة وربما يعود السبب في ذلك إلى انتقال المرض في الحيوانات المجهضة إلى المرحلة المزمنة وبالتالي يقل معيار الأضداد أو بقاء هذا المعيار عند مستوى أضداد معين يعطي فقط نتيجة موجبة للاختبارات المصلية وتدعى هذه المرحلة Diagnostic Threshold (14). أن انتشار داء البروسيلا بشكل كبير في حيوانات المزرعة سببه السماح للحيوانات المصابة وأخرى سليمة بالرعي في منطقة واحدة أو عدة قطعان من الماشية في يوم واحد وفي بعض الأحيان حدوث الإجهاض في منطقة الرعي بسبب داء البروسيلا مما يؤدي إلي تلوث المراعي وبالتالي زيادة احتمالية إصابة الحملان بالمرض (15) اما النتائج في (جدول 2) والتي جمعت من نعاج غير ملقحة كانت النسبة المئوية لاختبار RBT 7.44 % فقط وذلك لان الاختبارات المصلية المستخدمة لتشخيص داء البروسيلا ربما تعطي أو لا تعطي نتيجة موجبة للإصابة حيث تبقى الحيوانات جرثوميا موجبة لكن قد تعطي نتيجة سالبة لهذا الاختبار (16) حيث يعتبر اختبار RBTمن الاختبارات المسحية في تشخيص هذا المرض (17) إضافة لكونه اختبار سريع وسهل وحساس لكن ذا خصوصية قليلة (19,18) لذلك فقد استخدم اختبار 2ME مع كافة العينات الموجبة في اختبار RBT وقد تبين من النتائج ان اختبار 2ME كان ذا حساسية عالية للكشف عن الاضداد في الحيوانات الملقحة ويعود السبب في ذلك الى الية هذا الاختبار في تمكنه من الكشف عن الضد المناعي IgG الذي يكون ظهوره مبكرا بعد اجراء عملية التلقيح ضد مرض البروسيلا (20). وبالرغم من هذا كله فان تشخيص داء البروسيلا يعتمد بدرجة أساسية على عزل الجرثومة او الجمع بين عملية العزل والاختبارات المصلية والعلامات السريرية حيث ان عزل الجرثومة يعني التشخيص الاكيد للمرض لكن في الحقيقة صعوبة العزل تكمن في التموضع السريع للجرثومة في انسجة الجسم اضافة الى طول فترة العزل (21) كما ان هناك العديد من الاختبارات المصلية المستخدمة في تشخيص داء البروسيلا منها اختبار التلازن المصلي واختبار تثبيت المتمم واختبار التقييم المناعي الانزيميEnzyme immunoassay و التي تعد من الاختبارات المسحية السريعة لكن استعمال المضادات الحياتية وصعوبة عملية العزل لهذه الجرثومة يتم اللجوء الى هذه الاختبارات المصلية (22). ان عملية السيطرة على داء البروسيلا تعتمد على استبعاد الحيوانات المصابة من خلال الفحص الدوري للحليب والدم للتحري عن الاجسام المضادة المتخصصة واستبعاد الحيوانات التي تعطي نتائج موجبة لهذه الفحوصات. وقد تم اجراء الدراسة على مرحلتين بعد ظهور نتائج المجموعة الاولى حيث لوحظ ارتفاع نسبة الاضداد في الحيوانات غير الملقحة في كلا الاختبارين 2ME و RBT حيث كانت 50 % و 81.25% على التوالي مما يشير الى احتمالية انتشار الاصابة بنسبة عالية وهذا يتفق مع (15)، لذلك تم اختبار الحيوانات غير الملقحة فقط في المجموعة الثانية وذلك للتاكد من النتائج حيث لوحظ انخفاض هذه النسبة الى 7.44% في اختبار RBT وربما يعود السبب في ذلك الى

عدم التلقيح ضد المرض لفترة زمنية طويلة او بسبب كونها نعاج مجهضة ومضى فترة طويلة على اجهاضها وعليه توصي الدراسة بضرورة الاستمرار بعملية التلقيح بلقاح REV.1 للسيطرة على المرض.

شكر وتقدير:

يتقدم الباحثون بالشكر والتقدير إلى كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل لدعمها المادي والعلمي لانجاز هذا البحث.

المصادر

1) Adams L. G., The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle between the host genome and the brucella genome. Vet. Microbiol., 90(1-4):553-561(2002).
2) Abela B., Epidemiology and control of brucellosis in ruminants from 1986 to 1996 in Malta.Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz., 18(3):649-659(1999).
3) World Health Organization (WHO). 6th report of the joint FAO /WHO expert committee on brucellosis. WHO technical reports series. 740. WHO, Geneva (1986).
4) Seifert H. S. H., Disease caused by aerobic rods.1. brucellosis in tropical animal health (B.H.Bokma, E.F.Blouin & G.H.bechara, eds). Kluuar academic, dordrecht., 365-367(1996).
5) Aldomy F. M., Jahnas K. L. & Altarazi Y. H., Isolation of *Brucella melitensis* from aborting ruminants in Jordan. J.comp. Pathol. 107(2):239-242 (1998).
6) Polydorou K., Organization of Veterinary Public Health Activities in countries of estern Mediterranean region. in Veterinary public health: part two. Rev.Sci.Tech.Off.Int.Epiz. 11(1): 53- 75(1992).
7) Acha P. N. & szyfres B., Zoonoses and communicable diseases common to man and animals, Vol. 1. bacterioses and mycoses ,2nd ed. Pan American Health organization (PAHO) Washington, DC., 28-45(1987).
8) Alton G. G., Jones L. M., Angus R. D. and Verger J. M., Techniques for brucellosis laboratory.institute national dela recherché Agronomique ,Paris, pp 190 (1988).
9) Baron E. J. and Finegold S. M., Gram negative facultative anaerobic bacilli and aerobic coccobacilli: brucella in Bailey and Scotts diagnostic microbiology.8th ed.C.V. Mosby company, St. Louis, Missouri, 410-412 (1990).

10) OIE (world organization of animal health) Manual of standards for diagnostic test and vaccines. 4th ed. OIE.Paris., pp. 957 (2000).
11) Morgan W. J., Mackinnon D. J., Lawson J. R. ,Cullen G. A., The Rosebengal plate agglutination test in the diagnosis of brucellosis. Vet.Rec.,85:636-641(1969).
12) Abdulah D. A., M. Sc. Thesis Serological and histological study of toxoplasmosis in slaughtered animals and experminental infection in mice. College of Veterinary medicine. Mosul university. (2004).
13) Berecovich Z., Maintenance of *brucella abortus*– free herd:a review with emphasis on the epidemiology and problems in diagnosing brucellosis in areas of low prevalence. Vet.2.,20(3):81-88 (1998).
14) Zowghi E. ,Ebadi A. & Mohseni B., Isolation of brucella organisms from the milk of seronegative cows. Rev. Sic. Tech. Off.Int. Epiz., 9(4):1175-1178 (1990).
15) Al-Ani F. K., EL-Qaderi S., Hailat N. Q., Razziq R., Al-darraji A. M., Human and animal brucellosis in Jordan between1996-1998:A study. Rev. Sic. Tech. Off. Int. Epiz.,23(3):831-840(2004).
16) Food and Agriculture organization (FAO), (2004). Bovine brucellosis in animal health/diseasecards. FAO, 6.website: http://www.fao.org./ag/againfo/subject/health/diseases-cards/brocellosi-bo.html (accessed on 4 october 2005).
17) Zancada F., Roldan A., Fernandez A., Jimenez J., Agulla A., Brucellosis: estudio clinicoserologico en un area de saludrural. Rev. Clin. Esp., 119:8-12(1992).
18) Sarkar S. C., Boxi K. K. and Sodi S. S., Studies on the incidence of infertility and abortion in dairy animals. J. Res. Punjab-Agri. Univ. India., 24:105-110(1987).
19) Nasir A. A., Shah M. A. and Rashid M., Current status of brucellosis at various government live stock farms, Punjab. Int. J. Agri. C. Biol., 1:337-338(1999).
20) Altuglu I., Zeytinogclu A., Bilgic A., Kamcioglu S., Karakartal G., Smits H., Evaluation of Brucella dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. Diagnostic Microbiology and Infectious Disease., 44:241–243 (2002)
21) Young E.J., Human brucellosis. Rev. Infect. Dis., 5:821-842(1983).
22) Shapiro D. S., Wong J. D. Brucella. In Murray, P. R., Baron E. J., Pfaller M. A., Tenover F. C., Yolkan R. H. (Eds)., Manual of Clinical Microbiology.. ASM Press: Washington DC. pp 625–631 (1999).