أهمية التشخيص المصلي والجرثومي لحمى مالطا في الموصل

[1] باسمة أحمد عبد الله و [2] ندى فاضل الراوي

[1] قسم الأحياء المجهرية ، كلية العلوم ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

[2] كلية طب نينوى ، جامعة الموصل ، الموصل ، العراق

الكلمات الدالة : تشخيص ، حمى مالطا .

الملخص :

تضمنت الدراسة عزل وتشخيص جرثومة البروسيلا من (٧٥) شخصا مشكوك اصابتهم بمرض حمى مالطا ، للفترة من شباط 2004 ولغاية شباط ٢٠٠٥ ، الذي أعطى فحص التلازن القياسي Standard Agglutination Test (SAT) لمصولهم نتيجة موجبة لدى (45) شخصا منهم، وحصل على (3) عزلات لجرثومة البروسيلا فقط من مجموع (38) نموذج دم زرع على الاوساط الانتخابية الخاصة بها لهؤلاء المرضى الذين أعطى مصلهم نتيجة موجبة مع مستضد الروزبنكال المحور وبنسبة تلازن أعلى من (160) وحدة عالمية/سم^3 وأظهرت الاختبارات الكيموحيوية والفسلجية أنها تعود للنمط الحيوي المصلي *Brucella melitensis* spp.*melitensis* ، كما درست حساسية هذه العزلات للمضادات الحيوية وأظهرت مقاومة مطلقة للمضادات Ampicillin و Augmentin .

المقدمة

يعد داء البروسيلا أحد الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان، ويسمى بالحمى المتموجة أو بحمى البحر المتوسط أو Bang's disease ، هو من الأمراض الجهازية Systemic diseases . تعتبر الانواع التابعة لجنس البروسيلا من الكائنات الممرضة الداخل خلوية اختياريا إذ تسبب الإجهاض للحيوانات اللبونة كالأغنام والماعز والأبقار والكلاب وتحدث الإصابة للإنسان عن طريق التماس المباشر مع هذه الحيوانات أو تناول منتجاتها [35 ; 20] .

يعد المرض من مشاكل الصحة العامة وأعلن مركز السيطرة عن الأمراض في الولايات المتحدة الأمريكية أن المرض قليل الانتشار حاليا بسبب برامج التلقيح والذبح بالطريقة الصحية لكنه لا يزال من الأمراض الشائعة في مناطق أمريكا الجنوبية وآسيا وأوربا والشرق الأوسط [32 ; 4 ; 7 ; 11 ; 19]

تسبب الإصابة بهذه الجرثومة الإجهاض في الحيوانات اللبونة خاصة الأبقار والأغنام والماعز والخنازير ويعزى ذلك إلى مهاجمة هذه الجرثومة لأنسجة المشيمة والأغشية الجنينية الغنية بالـ Erythritol الذي يعد عامل نموها ولا يسبب ذلك في الإنسان لعدم وجود هذا المركب في الأنسجة المشيمية [30] .

إن أول إصابة سجلت في العراق من قبل الزهاوي في سنة ١٩٣٨ في المواشي والفلاحين [2]. وتتسبب الإصابة للإنسان عند دخول (١٠-١٠٠) خلية منها إلى جسم الإنسان [16] .نستند في تشخيصها إلى الفحوصات الكيموحيوية مثل اليوريز والاوكسديز وإنتاج غاز H_2S وحساسيتها للـ Tionine والفوكسين والتلازن مع مصل الدم الأحادي إذ يحتوي جدارها على مستضدان رئيسان هما A , M ، كما أتضح أن جرثومة Brucella تشمل وجود نوع واحد فقط هو *Br.melitensis* spp. *melitensis* ، ويضم خمس سلالات هي *Br.melitensis* spp.*abortus* و *Br.melitensis* spp.*neotomae* و *Br.melitensis* spp.*ovis* و *Br.melitensis* spp.*cani* [28 ; 23 ; 22] . يسود مستضد M بدرجة كبيرة مقارنة بمستضد A [22] .

إن التعاون القائم بين الأطباء والمختبر يعد اللبنة الأولى لتشخيص المرض لأن الأعراض للمرض ليست نوعية ولكنها تشابه أعراض أمراض أخرى كالتيفوئيد وحمى الروماتزم وغيرها.

لذا يعد عزل الجرثومة الدليل الحاسم على الإصابة بالمرض وربما يدل على مصدر الإصابة، وتعد الفحوصات المصلية الأفضل عمليا ويعتمد دورها على جمع المصل في وقت يمكن التحري عن الأجسام المضادة التي تظهر عادة في الأسبوع الثاني من التعرض للإصابة وتبقى لفترة طويلة كاختبار تلازن المصل أو الروزبنكال الذي يمتاز بسرعته ورخصه ويعتمد على التحري عن الأجسام المضادة من نوع IgG , IgM . إن دقة التشخيص المصلي النهائي يعتمد على الزرع الجرثومي الذي يزيد فرصة الكشف عنها وخاصة في الطور الحاد الذي تحجب فيه النتائج الموجبة بنسبة 50-80 % مع ملاحظة انخفاضها في الطور المزمن [25] . لذا حاولت الدراسة الحالية تأكيد أهمية التشخيص المصلي والجرثومي لمرض حمى مالطا والتعرف على الطور الحاد للمرض باستخدام 2-Mercaptoethanol ، وإبراز أهم صفات الجرثومة على الأوساط الزرعية الخاصة لتأكيد سرعة تشخيصها ودراسة حساسيتها إزاء المضادات الحيوية المستعملة حاليا.

المواد وطرائق العمل

جمعت عينات الدم من المرضى الذين ظهرت عليهم أعراض المرض والمراجعين للمختبرات الأهلية في مدينة الموصل والذين تراوحت أعمارهم بين ٢٠- <٤٥ سنة ومن كلا الجنسين للفترة من شباط ٢٠٠٤- شباط ٢٠٠٥ ، الذين أعطى مصلهم نسبة تلازن أعلى من (160) في اختبار الروزبنكال المحور المجهز من شركة Linear chemicals ، لقحت عينات الدم أيضا في أنابيب حاوية على وسط نقيع القلب والمخ [31] الذي يحوي مادة Polyanethol sulphonate كمادة مانعة للتخثر وتعمل على تثبيط تأثير العوامل المضادة الموجودة في المصل وعملية البلعمة بعد التأكد من المرضى بعدم أخذ مضادات حيوية . حضنت الأنابيب في درجة (37)°م وتمت مراقبتها يوميا لتكوين العكارة وأهملت الأنابيب بعد مرور

شهر من الزرع ، إذ زرعت النماذج الموجبة على طبقين من وسط Trypticase soy agar المضاف إليه مصل معقم بنسبة ٥-١٠% وكلوكوز ١% ، أحدهما حضن هوائيا والآخر بوجود CO_2 ١٠% وباستخدام jar في درجة حرارة (37)°م ولمدة (24-72) ساعة مع مراقبة مستمرة للتغيرات التي تطرأ على عينة الدم ومراعاة أخذ عينة منها وزرعها كل ٤٨ ساعة عند حدوث تغيير في الوسط ولمدة شهر. نقيت العزلات وشخصت باستخدام صبغة كوستر التي تصبغ الجرثومة باللون الأحمر والأنواع الأخرى أزرق [6] وباستخدام أوساط انتخابية وتفريقية واعتمادا على الصفات الكيموحيوية كالاوكسديز والكاتاليز والتحلل المائي للجيلاتين وتخمر السكريات والتحليل المائي للأسكولين وغيرها [13 ; 18] .

كما أجري تمييز عزلات *Br.melitensis* بوجود صبغة الفوكسين القاعدي وباستخدام وسط أكار البروسيلا الحاوي على 20 مايكروغرام /سم^3 من الصبغة، ونموها بوجود صبغة الثايونين بنفس التركيز ٢٠ مايكروغرام /سم^3 وبتركيز ٤٠ مايكروغرام /سم^3 ، واجري اختبار حساسية هذه العزلات للمضادات الحيوية [13 ; 22].

النتائج والمناقشة

تم الاختبار المصلي ل (75) شخص مشكوك إصابتهم بالمرض ، وأعطى فحص التلازن القياسي Standard agglutination test (SAT) نتائج موجبة عند (45) فقط أي بنسبة 60% ، وتم التعرف على حدة المرض باستخدام اختبار الروزبنكال المحور باستخدام 2 ME ، أظهرت النتائج أن المرض كان حاد عند (38) أي بنسبة ٥١% .

تم الحصول على (3) عزلات فقط لبكتريا بروسيلا من مجموع (38) نموذج دم مأخوذ من المرضى الذين أعطى مصلهم نتيجة موجبة مع مستضد الروزبنكال المحور مع 2 ME وبنسبة تلازن أعلى من (160) ، والذين هم في الطور الحاد من المرض ، قد يعود ذلك إلى بطئ نمو الجرثومة واحتياجها مدة طويلة من الحضانة ومدة بقائها في الدم قصيرة وميلها للاستقرارية في الأنسجة . في بعض الأحيان يعطي الفحص نتيجة موجبة خاطئة قد يعود ذلك إلى وجود بعض المستضدات المشتركة مع جراثيم أخرى مثل *Vibrio cholera* المسببة لمرض الكوليرا وكذلك Yersinia وغيرها [6].

وأوضح الحياني [1] أن نسبة الحساسية لاختبار الروزبنكال في تشخيص الإصابة لا تتعدى ٦٥%. وكذلك استطاع الزبيدي [3] من عزلها بنسبة ٦,٤١% وبعدد (5) عزلات فقط من مرضى تجرثم الدم.

أظهرت صبغة كرام للمستعمرات النقية المعزولة خلايا عصوية قصيرة ، سالبة لصبغة كرام ، غير متحركة ، كما وأعطت خلايا البكتريا لون أحمر براق والخلفية زرقاء عند صبغها بصبغة كوستر. كما درست صفات المستعمرات البكتيرية النقية المعزولة على وسط (Tryptic soy agar) المحور ، إذ كانت ملساء ناعمة عسلية ذات تحدب قليل وحافتها دائرية وقطرها (1-2) ملم مع ملاحظة تحولها إلى مستعمرات أكبر في الحجم وذات وسط محبب بيضاء اللون وأقل ارتفاعا عند تحولها إلى الطور الخشن بعد (5-7) أيام .

حمى مالطا مرض حاد مصحوب بحمى ينتج عن جرثومة بروسيلا ، وان الانتكاسات في هذا المرض غير نادرة ، فضلا عن الآفات الموضعية التي قد تنتج عنه والتي تحصل في العظام والمفاصل والجهاز البولي التناسلي ومواضع أخرى . والإصابة ممكن أن تكون عابرة في حين تتحول أحيانا إلى إصابة مزمنة وذلك تحت تأثير عوامل عديدة أهمها عدد الجراثيم المسببة للإصابة وقابلية الجرثومة على اختراق الجدار الخلوي والتطفل داخل خلايا المضيف وقدرتها على تصنيع عوامل الضراوة وإنتاج الذيفانات الداخلية وقدرتها على الالتصاق والغزو والانتشار، إذ سرعان ما تكون الخلايا البلعمية المستودع لانبثاق الإصابة فتنفجر الخلايا لتظهر أعراض الحمى المتمثلة بالطور الحاد وتنتشر في مجرى الدم مسببة التجرثم الدموي ثم تدخل العقد اللمفاوية وتنفذ إلى بقية أنحاء الجسم وتدخل الخلايا الملتهمة في أنسجة الطحال والكبد ونخاع العظم وإذا لم تعالج تدخل الطور المزمن وتسبب تعقيدات مثل التهاب شغاف القلب والجهاز العصبي. وتستدعي الضرورة الاحاطة بيئة المرض فمدمني الكحول تزداد حساسيتهم وترتفع إصابتهم مقارنة بأقرانهم غير المدمنين لأن الايثانول يعطل عمل الخلايا البلعمية في السيطرة على نمو الجرثومة كما ويؤثر على الاستجابة المناعية [15, 8, 35]

يكون علاج الإصابات المزمنة معقد ويحتاج مدة طويلة من الزمن مقارنة بالحالات الحادة وبصورة عامة اكتشاف الإصابة تحتاج معالجة فورية، وان الحالات الحادة النموذجية في أطوارها الأولى تكون صعبة التشخيص السريري لاسيما وأنها تشابه علامات أمراض أخرى مسببة للحمى مثل: الحمى الغدية، الأنفلونزا، الملاريا، الالتهابات المعوية، لذا إجراء الفحوصات المختبرية يعطي الدليل الأكيد عن وجود مرض البروسيلا أو عدمه، ومن هذه الاختبارات زرع الدم وعزل الجرثومة وكذلك الفحص المصلي للمريض [14 ; 33 ; 24]

أن جرثومة البروسيلا بطيئة النمو وان الزرع يتطلب بضع أيام وأسابيع [9; 34] ، وخصوصا في الإصابات المزمنة، إذ يكون التحسس للزرع واطئ، لذلك تستخدم الفحوصات المصلية لتأكيد الإصابة [35] ، وهي متعددة وأكثرها شيوعا هو فحص التلازن المصلي Standard (SAT) Agglutination Test وكذلك يستخدم فحص Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) في التشخيص المصلي للمرض [17 ; 26] .

ومن خلال فحص التلازن المصلي (SAT) أظهرت الدراسة أن ٦٠% من مجموع الأشخاص المشكوك إصابتهم بالمرض أعطى مصلهم نتيجة موجبة للإصابة بجرثومة البروسيلا بينما مثلت نسبة ٤٠% تشابه للأعراض فقط. ففي هذا النوع يتم التحري عن كلا نوعي الأجسام المضادة IgM و IgG المتكونة ضد متعدد السكرايد الدهني في الغشاء الخارجي لجرثومة البروسيلا والذي يمثل المكون المستضدي لها([27])، وأعطت نتائج أل 2 MEنسبة موجبة عند 84.4 % منهم، والتي تمثل نسبة الإصابة الحادة.

تتضمن الاستجابة المناعية تكوين الأجسام المضادة ، إذ تحفز الإصابة إنتاج نوعين من Igs المتخصصة وهي IgM و IgG بنوعيه IgG_1 و

IgG_2 وهي التي تدخل في الاختبارات التشخيصية المصلية فيدل وجودها في المصل على حدوث الإصابة وأشار Baldi وآخرين [10] إلى وجود IgA القليل الإنتاج .

ينتج IgG ، IgM منذ بدء الإصابة إلا أن تحفيز إنتاج النوع IgM يكون أكبر من IgG في بداية الإصابة وإنتاج IgM يكون أكثر حساسية للأعداد القليلة من المحفزات المناعية مقارنة مع IgG [12] ، وفي الحالة الحادة يكون مستوى IgM مرتفع بعد الأسبوع الأول من الإصابة ، بعد ذلك يرتفع IgG مع زيادة عدد الجراثيم ويصل إلى أعلى مستوى له بعد بضعة أسابيع ويبقى IgM مرتفع إلى أن يعطى العلاج المناسب . وبعد أن يختزل عدد الجراثيم في الجسم وينخفض يبقى IgM مرتفع إذا كان العلاج غير مناسب وفعال ويؤدي إلى تحول الحالة المرضية إلى حالة مزمنة ويستمر إنتاج IgG عدة شهور أو سنوات خاصة IgG_1 و IgG_2 اللذان يقتلان الجراثيم خارج الخلايا البلعمية [21] . ينخفض مستوى IgM في الدم ويصل أدنى مستوى له في الحالة المزمنة وعند حدوث الانتكاسات يزداد مستوى IgG وينتج IgA بكميات أكبر كما في الحالات الأخرى [22] .

أجريت على العزلات البكتيرية عدد من الفحوصات البايوكيمياوية التأكيدية ، إذ كانت موجبة لاختبار أنزيم الأوكسديز والكاتاليز واختبار اختزال النترات ، واستطاعت المستعمرات النمو على وسط البروسيلا الحاوي على صبغة الفوكسين القاعدي بتركيز ٢٠ مايكروغرام /سم^3 ، وكذلك نمت على وسط البروسيلا الحاوي على صبغة الثايونين بتركيز ٢٠ مايكروغرام /سم^3 و ٤٠ مايكروغرام /سم^3. وكان تحليل المستعمرات لليوريا والدم جزئيا . لم يكن نمو المستعمرات مشروطا بوجود CO_2 ، كما أعطت نتيجة سالبة لاختبارات IMVC وإنتاج H_2S وتحلل الجيلاتين وتحلل الحليب والحركة (الجدول-١-) .

كذلك تمكنت جميع العزلات من اختزال النترات إلى نتريت وإنتاج اليوريز بعد ٧٢ ساعة تحضين ولم تتمكن من إسالة الجيلاتين وهذا يتفق مع ما وجده الزبيدي [3] ولم تبدي أي عزلة قدرة على تخمير السكريات.

تبين أن العزلات الثلاثة تعود للنوع *Br.melitensis* spp.*melitensis* وذلك من خلال مقارنة نتائج (الجدول-١-) مع نتائج اختبارات تمييز أنواع بكتريا البروسيلا التي جاء بها Alton وآخرون [6] و Collee وآخرون [13] و Koneman وآخرون [22] والزبيدي [3] .

الجدول ١ : نتائج اختبارات الكيموحيوية لجميع العزلات

اختبارات الكيموحيوية	العزلات جميعا
• **إنتاج أنزيم :**	
- الاوكسديز	+
- الكاتاليز	+
- Dnase	-
- Lipase	-
- Licithinase	-
- اليوريز خلال (٤٨-٧٢) ساعة	-
- الهيمولايسين (تحلل الدم)	V
- الجيلاتينيز	(جزئي +)
• **تحلل الاسكولين**	-
• **تحلل الحليب Litmus milk**	-
• **اختبارات IMVC**	-
• **اختزال النترات**	- - -
• **الحركة**	-
• **إنتاج H_2S**	+
• **النمو بوجود غاز CO_2**	-
• **النمو في ملح الطعام NaCl تركيز ١,٥ %**	+
• **النمو بوجود صبغات بتراكيزمختلفة (مايكروغرام /سم^3) :**	-
- الفوكسين القاعدية 20	-
- الثايونين : 20	+
40	+

إن عدم احتياج الجرثومة للـ CO_2 يميزها عن السلالة *Br. Abortus* وعدم إنتاج H_2S يميزها عن السلالتين *Br.suis* و *Br.canis* فضلا عن تمكنها من النمو على وسط البروسيلا الصلب بوجود الصبغتين الفوكسين القاعدي والثايونين وبذلك تتميز عن السلالة *Br.abortus* التي يتثبط نموها بوجود الثايونين وتنمو بوجود الفوكسين على عكس السلالة *Br.suis* التي يثبط نموها بوجود الفوكسين ولا يثبط بوجود الثايونين [13].

أوضحت نتائج اختبار الحساسية للمضادات الحيوية أن أفضل المضادات تأثيرا على أفراد النوع *Br.melitensis* spp.*melitensis* هي Cefepime (CPM_5) و Gentamicin (GM_{10}) و Streptomycin (S_{10}) حيث بلغت الحساسية للعزلات الثلاثة ١٠٠% وتفاوتت الحساسية إزاء ال Cloramphenicol (C_{30}) و Doxycycline (DA_2) و Tetracycline (T_{30}) و Ciprofloxacin (Cip_5) و Rifampicin (RA_{10}) وأبدت مقاومة للمضادات Ampicillin (Am_{25}) و Clavulinic acid (AMC_{20}) [Amoxicillin +] و Amoxicillin (AX_{25}) و Clarithromycin (CLR_{15}) و Erythromycin (E_{10}) .

تلعب الدالة الحامضية دور مهم في مدى استجابة الجرثومة للمضادات الحيوية حيث تنخفض فعاليتها مرتين إلى أربع في الدالة المعتدلة 7 [5] ولكون الجرثومة داخل خلوية لذا تستعمل المضادات الحيوية التي لها القدرة على اختراق جدار الخلية والتي تقاوم البيئة الحامضية وينصح بدمج المضادات مثل S مع DA . كما أن هناك عدد من العوامل تؤثر في فاعلية المضاد الحيوي مثل ضراوة الجرثومة وكثافة النمو ومدة الحضانة وتركيز المضاد [29] .

.

المصادر

١.الحيـاني، نـور نـاجي رديـف ٢٠٠٥. دراسـة بكتريولوجيـة ومناعيـة لمرضى حمى مالطا في الإنسان في مدينة الرمادي. رسالة ماجستير، كلية الطب،جامعة الأنبا ر.

٢.الخياط، عالية إبراهيم ١٩٨١ .الاستجابة المناعية لبعض المكونات الاستضـــادية لجرثومـــة Brucella فـــي خنـــازير غينيـــا. رســـالة ماجستير ،بغداد.

٣.الزبيدي، حسين محمد عبد حسن ٢٠٠٥ . دراسة تشخيصية ووراثية لجرثومة *Br. melitensis* المعزولة من الأشخاص المصابين بحمى مالطا. رسالة ماجستير، كلية التربية، جامعة الموصل.

4. Abo-Shehada, M., Odeh, J.S., Abu-Essud, M. and Abuharfeil, N. 1996. Seroprevalence of brucellosis among high risk people in Northern Jordan. Int. J. Epidemiol. 25:450-454.
5. Akova, M., Gur, D., Livermore, D.M., Kocag, T. and Akalin, H.E. 1999. *In vitro* activities of antibiotics alone and incombination against *Br. melitensis* at natural and acidic pHs. Antimicrob. Agents and Chemother., 43(5): 1298-1300.
6. Alton, G. G., Jones, L. M., Angus, R. D. and Verger, J.M. 1988. Techniques for the Brucellosis Laboratory, Institut National de la Rercherche Agronomique, Paris, France., pp. 240-360.
7. Araji, G. F. and Azzam, R. A. 1996. Seroprevalence of brucella antibodies among persons in high-risk occupation in Lebanan. Epidemiol. Infect. 117:218-288.
8. Ariza, J. 1996. Brucellosis. Curr. Opin. Infect. Dis. 9:126-131.
9. Ariza, J., Corredoira, J., Pallares, R., Fernandez-Viladrich, P., Rujol, M. and Gudiol, F. 1995. Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. Clin. Infect. Dis. 20: 1241-1249.
10. Baldi, P. C., Giambarrolomia, G. H., Wallach, J.C., Velikovisky, C. A. and Fossali, C. A. 2001. Limited diagnosis usefulness of antibodies to cytoplasmic proteins of *Brucella* spp. In early treated human brucellosis, Scand J. Infect. Dis. 33: 200-205.
11. Boschiroli, M. L., Foulongne, V. and OCallaghan, D. 2001. Brucellosis : a worldwide zoonosis. Curr. Opin. Microbiol. 4: 58-64.
12. Christie, A. B. 1980. Infection disease : Epidemiology and clinical practice 3rd ed. Longman Group Limited, pp. 100-106.
13. Collee, J. G., Frasen, A. G., Marmion, B. P. and Simmons, A. 1996. " Practical Medical Microbiology" 14th ed. Churchill Livingstone Inc., New York.
14. Colmenero, J.D., Regureal, L.M., Martos, K., Sauches-De-Mora, D., Delgado, M., Juaree , C. 1996. Complications associated with *Brucella melitensis* infection: a study of 530 cases. Medicine Baltimore, 75(4): 195-211.
15. Corbel, M. J. 1997. Brucellosis: an overview. Emerg. Infect. Dis. 3: 213-222.
16. Crouch, N. 2002. Level a produce for the presumptive identification of *Brucells* spp. LRN level a , Bioterrism Manual Procedure 1-7.
17. Daddod, W.A. and Abdulia, Z.A. 2000. A panel of eight tests in the serodiagnosis and immunological evaluation of acute brucellosis. East. Med. Health J. 6: 304-312.
18. Finegold, S. M., Martin, W. J., Scott, E. G. 1978. Bailey and scott's "Diagnostic Microbiology" 5th ed. C.V. Mosby Company. London.
19. Gardener, S. 2003, The biology of brucellosis. Biotech. Times, 9: 1-3.
20. Izadjoo, M. J., Polostey, Y. Mense, M. G. Bhattocharjee, A., Paranoritana, C. M., Hadfield, T. L. and Hoover, D. L. 2000. Impaired control of *Brucella melitensis* infection in Ragt- deficient mice. Infect. Immunol. 68: 5314-5320.
21. Ko, J. and Splitter, G. A. 2003. Molecular host pathogen interaction in Brucellosis : Current understanding and future appnaches to vaccine development for mice and human. Clin. Microbiol. Rev. 16: 65-78.
22. Koneman, E. W., Allen, S. D., Junda, W. M., Schrenchenberger, P. C. and Winn, W. C. 1997. "Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology" 5th ed. Lippincott- Raven Publishers, Philadelphia.
23. Lesterate, P., Delrue, R. M., Danese, I., Didembourg, C., Taminiau, B., Mertens, P., De-Bolle, X., Tibo, A., Tang, C. M. and Letteson, J. 2000. Identification and characterization of *In vivo* mutant of *Brucella melitensis*, Mol. Microbiology, 38: 543-551.
24. Marrodan, E., Nenova-Poliakova, R., Ariza, J., Clavijo, E., Smits, H. and Diaz, R. 2001. Comparison of three serological methods for the detection of *Brucella* specific immunoglobulin M antibodies. J. Med. Microbiol. 50: 1-4.
25. McQuiston, J. R.,Vemulapalli, R., Inzana, T. J., Schung, G. G., Sriranganatha, N., Fritzinger, D., Hadfield, T. L., Warren, R. A., Snellings, N., Hoover, D., Halling, S. M., and Boyle, S. M. 1999. Genetic characterization of a Tn5-disrupted glycosyltransferase gene homology in *Brucella abortus* and its effect an lipopolysaccharide composition and virulence. Infect. Immunol. 67: 3830-3835.
26. Memish, Z. A., Almuneef, M., Mah, M.W., Qassem, L., A. and Osoba, A.O. 2002. Comparison of the *Brucella* Standard

30. Tiltoon, R. C., Lang, C. T. and Maquez, D. J. 2002. "Microbiology" 10th ed. McGrad-Hill companies, Inc.pp. 241-245.
31. Vandepitte, J., Engback, K., Piot, P. and Heuck, C. C. 1991. "Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology" . World Health Organization, Geneva.
32. Veerman, J., Basahi, M. A. and Al Qadasi, M. 1995. Human brucellosis. An old enemy or a new threat ? Practitioner (East Mediterr. Ed.) 15:687-689.
33. Yagupsky, P. 1999. Detection of Brucella in blood cultures. J. Clin. Microbiol. 37: 3437-3442.
34. Yagupsky, P. 1994. Detection of *Brucella melitensis* by BACTEC NR660 blood culture system. J. Clim. Microbiol. 32: 1899-1901.
35. Young, E. J. 1995. An overview of human brucellosis. Clin. Infect. Dis. 21:283-290.

Agglutination Test with the ELISA IgG and IgM in patients with *Brucella* bacteremia. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 44: 129-132.
27. Pellicer, T., Ariza, J., Foz, A., Pallares, R. and Gudiol, F. 1988. Specific antibodies detected during relapse of human brucellosis. J. Infect. Dis. 157: 918-924.
28. Ritting, M. G., Kaufmann, A., Robens, A., Shaul, B., Sprenger, H., Gemsa, D., Faulong, N., Rouot, B. and Dornand, J. 2003. Smooth and rough lipopolysaccharide phenotypes of *Brucella* induce different intracellular trafficking and cytokine/ chemokine release in human monocytes. J. Leukocyte Biology, 74: 1045-1055.
29. Solera, J., Martinez- Alfaro, E. and Espinosa, A. 1997. Recognition and optimum treatment of Brucellosis, Drugs, 53:245.

The importance of serological and bacteriological diagnosis of malta fever in Mosul

[1] Basima A. Abdulla & [2] Nada F. Al-Rawi

[1] Bio. Dept., Coll. Sci., Mosul University, Mosul, Iraq.
[2] Ninevah Med. Coll., Musul University, Mosul, Iraq.

Abstract

Isolation and identification of *Brucella* spp. were carried out from (75) suspected patients with brucellosis (between February 2004- February 2005). Standard agglutination test for their sera gave positive results in 45 patients only.

Three isolates of *Brucella* spp. from (38) blood samples which cultured on selective media, were isolated only from patients which gave their sera positive results above the titer 160 I.U./ml using Rosebengal antigen.

Biochemical and physiological tests were indicated that they are belonged to *B.melitensis* spp. *melitensis*. Their susceptibility to antibiotics was also carried out.