المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، العدد ١، ٢٠٠٩ (٣٣-٣٦)

التحري عن مستوى الأجسام المضادة لداء البروسيلا في الماعز في الموصل، العراق

عمار محمود العالم، صفوان يوسف البارودي، إحسان منير احمد و مزاحم ياسين العطار

فرع الأحياء المجهرية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ١٦ كانون الأول ٢٠٠٨؛ القبول ٢٥ آذار ٢٠٠٩)

الخلاصة

شملت هذه الدراسة ١٨٤ عينة مصل جمعت من الماعز، وتوزعت هذه العينات بين إناث مجهضة وأخرى ملقحة وغير ملقحة للفترة بين شباط – أيلول ٢٠٠٧ في مدينة الموصل.حيث تم أجراء اختباري الروزبنكال واختبار 2-mercaptoethanol على هذه العينات. وكانت نسبة العينات الموجبة ٧٢% و٢٥,٦% و ٥٢,٩% في الحيوانات الملقحة وغير الملقحة والمجهضة على التوالي باستخدام اختبار الروزبنكال. بينما لوحظ ارتفاع النسبة المئوية للعينات الموجبة لتصبح ٨٣,٣% و٥١,٧% في الحيوانات الملقحة و غير الملقحة على التوالي و انخفضت النسبة في الحيوانات المجهضة لتصبح ١١,١% عند إعادة فحص العينات الموجبة باختبار الروزبنكال باستخدام اختبار 2-mercaptoethanol.

Detection of antibodies level for goat brucellosis in Mosul, Iraq

A. M. Al –Aalim, S. Y. Al-Baroodi, I. M. Ahmed and M. Y. Al-Attar

Department of Microbiology , College of Veterinary Medicine University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

This study included 184 serum samples collected from goats, the samples were distributed between aborted, vaccinated and unvaccinated females in the period between February–September 2007 in Mosul city. Rose Bengal Test and 2-mercaptoethanol test were used to evaluate antibodies in serum samples. The results showed that the percentage of positive cases reached 72% , 25.6% and 52.9% in vaccinated, unvaccinated and aborted females, respectively by using rose Bengal test. Where as the percentages of positive cases reached to 83.3%, 51.7% in vaccinated and unvaccinated animals, respectively and decreased to 11.1% in aborted animals when positive rose Bengal test samples were tested with 2-mercaptoethanol test.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

داء البروسيلا احد الأمراض المعدية المسببة بواسطة بكتريا عصوية سالبة لصبغة الكرام تعود لجنس البروسيلا Brucella والمشتمل على الأنواع الاتية *Br. abortus, Br. canis , Br. suis , Br. melitensis* (٢،١).

تحدث الإصابة بالمرض بعد التلامس المباشر وغير المباشر مع الطرح الملوث من الحيوانات،ويعد تناول المواد الملوثة بالجراثيم أو الاتصال الجنسي أهم طرق انتقال المرض ولكن قد تحدث الإصابة أيضا عن طريق الجهاز التنفسي أو ملتحمة العين أو عن طريق الرحم. جميع الحيوانات البرية والمستأنسة معرضة للإصابة وتعمل كناقل للمرض للحيوانات المستأنسة الأخرى (٤،٣،٢)، تتراوح أعراض الإصابة بالمرض بين الإجهاض إلى انعدام الخصوبة والتهاب البربخ والخصى في الذكور وذلك لتفضيل جراثيم البروسيلا النمو في الأعضاء التناسلية من مشيمة وسوائل جنينية والخصى (٥،٣،٢). كما يسبب المرض خسائر اقتصادية كبيرة في بلدان حوض البحر الأبيض المتوسط نتيجة الإجهاض وانعدام خصوبة الحيوانات وقلة إنتاج الحليب بالإضافة لكلفة الرعاية الصحية البيطرية وتحيد انتقال وتصدير الحيوانات وكلف

استبدال الحيوانات المصابة في القطيع (٦،٣) فضلا عن تواجد الجانب الصحي للمرض المتمثل بانتقاله إلى الإنسان (٧). وتختلف الدول في كيفية السيطرة على المرض حيث تعتمد البلدان النامية على طريقة التلقيح أكثر من اعتمادها على طريقة الاستبعاد للحيوانات المصابة من القطيع نظرا لارتفاع كلفة استبعاد الحيوانات (٩،٨) ويعد اللقاح المصنع من البروسيلا المالطية *Br. melitensis* عترة Rev1 من أكثر أنواع اللقاحات استخداما في دول العالم (١٠)، فضلا عن استخدامه بشكل كبير للوقاية من داء البروسيلا في الضان والمعز حيث يؤدي تنفيذ برامج التلقيح في الحيوانات الصغيرة العمر باستخدام لقاح.Rev1 إلى إنتاج مناعة تستمر لمدة طويلة تتراوح بين ٤-٧ سنوات كما يعمل على التقليل من مشاكل التشخيص بعد التلقيح بالإضافة إلى تجنب حدوث الإجهاض (١١).

يعد التأكيد التشخيصي المختبري بواسطة الزرع الجرثومي أساسيا لإثبات الإصابة بالبروسيلا، ألا أن استخدام المضادات الحيوية ووجود بعض الصعوبات في عملية الزرع الجرثومي جعلت من استخدام الطرق المصلية غير المباشرة مثل (اختبار التلازن المصلي Serum agglutination test، اختبار 2-mercaptoethanol (٢ ME)، اختبار تثبيت المتمم Complement fixation، واختبارات التقيم المناعي الإنزيمي Enzyme immunoassay (EIA) بالإضافة الاختبار الروزبنكال (Rose Bengal test (RB) التي تكشف عن الزيادة المعنوية في معيار الأجسام المضادة البروسيلا في الدم وسوائل الجسم الأخرى مقبولة للتشخيص (١٤،١٣،١٢) حيث تسهل الاختبارات المصلية من عملية الكشف عن الإصابة وعلاج الحالات قبل بلوغها المراحل المتقدمة (١٥) فضلا عن أن برامج السيطرة على المرض تعتمد كليا على طرائق التشخيص المصلي (١٦).

ونظرا لأهمية الماعز في العراق كمصدر غذائي لإنتاج الحليب واللحم تم تصميم هذه الدراسة لغرض التحري عن انتشار الإصابة بجراثيم البروسيلا في الماعز.

المواد وطرائق العمل

جمعت العينات من قطعان الماعز الملقحة ضد داء البروسيلا (٢٥ عينة) و غير الملقحة (١٤٢ عينة) والمجهضة (١٧ عينة) في مدينة الموصل في محافظة نينوى وللفترة الممتدة بين شباط -أيلول ٢٠٠٧.

جمعت ١٨٤ عينة دم من الوريد الو داجي للماعز، حيث وضع ٥ مل من الدم في أنابيب بدون مانع التخثر ثم استخدم جهاز الطرد المركزي المبرد بسرعة ٢٠٠٠ دورة / بالدقيقة لغرض فصل المصل. جمع المصل باستخدام ماصات باستور معقمة ووضع في المجمدة (-٢٠ مئوية) لحين أجراء الاختبارات.

اختبار الروزبنكال Rose Bengal Test

مزجت حجوم متساوية ٠,٣ µl من المصل ومستضد البروسيلا القياسي المجهز من شركة (Omega Diagnostic. UK) على شريحة زجاجية ثم قراءة النتائج تحت المجهر خلال ٤ دقائق حيث أن حدوث التلازن خلال ١-٢ دقيقة يعطي نتيجة موجبة بينما تأخر حدوث التلازن لأكثر من ٤ دقائق عد نتيجة سالبة (١٧).

اختبار 2-mercaptoethanol

استخدمت مادة 2-mercaptoethanol بمعيارية ٠,٢ M حيث أضيفت لحجوم متساوية من المصل الموجب باختبار الروزبنكال وحضنت المصول لمدة ٦٠-٩٠ دقيقة في درجة ٣٧ مئوية ثم اجري تخفيف ثنائي للمصل المعامل بوضع ٠,٠٥ مل منه مع ٠,٠٥ مل من محلول الملح الفسلجي تلاه نقل ٠,٠٥ مل بعد مزج جيد إلى الأنبوب الثاني الحاوي على من محلول الملح الفسلجي ٠,٠٥ مل واستمرت العملية ليتم إهمال ٠,٠٥ مل من التخفيف الأخير ثم وضع مستضد البروسيلا القياسي (Omega Diagnostic. UK) ٠,٠٥ مل على جميع التخافيف وعد ظهور التلازن كنتيجة موجبة (١٨).

النتائج

بلغت نسبة العينات الموجبة في الحيوانات الملقحة 72% باستخدام اختبار الروزبنكال بينما كانت هذه النسبة 25.6% في الحيوانات غير الملقحة و 52.9% في الحيوانات المجهضة. وعند إعادة فحص العينات الموجبة باستخدام اختبار 2-mercaptoethanol لوحظ ارتفاع النسبة المئوية للعينات الموجبة في الحيوانات الملقحة لتصبح 83.3% وكذالك الحال في الحيوانات غير الملقحة لتصبح 51.7% بينما انخفضت نسبة العينات الموجبة الى11.1% في الحيوانات المجهضة جدول رقم (١).

الجدول (١): نتائج اختبار الروزبنكال Rose Bengal Test و اختبار 2- mercaptoethanol في الماعز

عدد العينات	الملاحظات	الروزبنكال المناعي Rose Bengal Test			2-mercaptoethanol Test		
		عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	النسبة المئوية للعينات الموجبة
٢٥	ملقحة	18	7	% 72	15	3	%83.3
١٧	مجهضة	9	8	% 52.9	1	8	%11.1
١٤٢	غير ملقحة	29	113	%25.6	15	14	%51.7

المناقشة

يصيب داء البروسيلا الأبقار والمجترات الصغيرة في مناطق الشرق الأوسط (٢١,٢٠,١٩). يعد فحص التلازن فحص حساس ومتخصص لتشخيص الإصابة بالبروسيلا (١) كما أن اختبار 2-mercaptoethanol ضروري للتفريق بين الإصابة الحادة والمزمنة حيث أن الكشف عن تواجد الضد المناعي المتخصص IgM مهم جدا للكشف عن الإصابة الحادة بالبروسيلا حيث يعمل 2-mercaptoethanol على تحطيم أصرة الكبريت الثنائية في جزيئة الضد المناعي IgM وبالتالي فقدان خاصية التلازن وعدم إمكانية الكشف عنه في اختبار تلازن الشرائح (٦) من دراسة النتائج يلاحظ ارتفاع النسبة المئوية للحيوانات الموجبة باختبار الروزبنكال لتصل إلى ٧٢% بالنسبة للحيوانات الملقحة وقد يعود ذلك لارتفاع معيار الأجسام المضادة في المصل نتيجة عملية التلقيح حيث يسبب التلقيح زيادة أو ارتفاع عابر في مستوى الأجسام المضادة والتي عادة تحمي لمدة عدة سنوات (٢٢) حيث ذكر Al-Khafaji أن تلقيح الضان بلقاح Rev.1 وبعمر ١٤ شهر وبالجرعة الكاملة تحت الجلد يؤدي إلى ارتفاع سريع في معيار الأضداد باستخدام اختبار الروزبنكال وتثبيت المتمم (٢٤،٢٣) بينما يلاحظ انخفاض النسبة المئوية للحيوانات الموجبة باختبار الروزبنكال بالنسبة للحيوانات غير الملقحة لتصل إلى ٢٥,٦% والمقاربة للنسبة ٢٧,٧% المسجلة من قبل Al-Majali في الأردن (٢) إلا أنها أكثر من النسب المسجلة في العراق في بغداد ٩,٩% (٢٥) ومنطقة نينوى/ تلكيف٢٠,٥ % (١٦) وفي كركوك/ داقوق ١١,٥% والسليمانية ١,٤٧% (٢٦) وكذلك في سوريا ٢,٩٤ % (١٩) و مصر ٨,١٧ % وعمان ٦,٤ % (٢٧) وقد يعود السبب في انخفاض معيار الأجسام المضادة في الحيوانات التي مضى فترة طويلة على إصابتها بالمرض في القطعان التي جمعت منها العينات والتي تعطي نتائج سالبة بالفحص المصلي إلى تحطم الأجسام المضادة في الدم وذلك لبقائها لفترة زمنية طويلة في المجرى الدموي (٨) بينما قد يكون ارتفاع النسبة المئوية عن المسجلة في مناطق العراق المختلفة وسوريا ومصر وعمان ناتجا عن الزيادة في إصابة الحيوانات نتيجة عدم إتباع الطرق الصحية في التخلص من الأجنة المجهضة فضلا على عدم السيطرة على دخول الحيوانات من الدول المجاورة للعراق والقصور في برامج السيطرة المتبعة (٢٩،٢٨) وذكر Al-Khafaji أن العديد من الدراسات أشارت إلى أن الموقع الجغرافي قد يلعب دورا مهما في اختلاف نسبة الإصابة (٢٢) ومن دراسة جدول رقم ١ يلاحظ ارتفاع النسبة المئوية للحيوانات الموجبة باختبار الروزبنكال بالنسبة للحيوانات المجهضة لتصل إلى ٥٢,٩% والمقاربة للنسبة المسجلة من قبل Mustafa والتي سجلت ٤٩,٨% في النعاج (٣٠) والذي قد يدل على حدوث الإصابة وإجهاض الحيوان وارتفاع مستوى الأجسام المضادة بشكل طردي، حيث أن الحيوانات التي تجهض بسبب البروسيلا عادة يكون مستوى الأجسام المضادة للبروسيلا فيها عاليا مقارنة مع الحيوانات غير المجهضة وقلة منها تفشل في إعطاء أي ملزنات بعد عدة أيام من الإجهاض ولكنها تصبح موجبة مصليا بعد مرور ٢-٣ أسابيع بعد الإجهاض (٣١،٢١).

ومن دراسة النتائج المستحصلة باختبار 2-mercaptoethanol يلاحظ أن معظم عينات الحيوانات الملقحة الموجبة باختبار الروزبنكال تعطي نسبة عالية تصل الى (٨٣,٣%) أي أن اللقاح قد سبب ارتفاع مستوى الاجسام المضادة لجراثيم البروسيلا وهذا يتفق مع نتائج الباحثين ومنظمة OIE الموصية بضرورة تلقيح الحيوانات باستخدام لقاح الحي لـ *Br. melitensis* للسيطرة على البروسيلا في المجترات الصغيرة (٣٣،٣٢،٢)، كما يلاحظ انخفاض النسبة

لتصل الى ١١,١% في الحيوانات المجهضة وهذا يدل على إن الإصابة حادة حيث فقدت خاصية التلازن نتيجة تحطم الضد المناعي المتخصص IgM.

إن معظم عينات الحيوانات غير الملقحة وغير المجهضة الموجبة باختبار الروزبنكال تعطي نسبة مرتفعة تصل الى ٥١,٧% و ذلك قد ينتج عن الإصابات القديمة حيث تزداد فرصة الحصول على نتائج مصلية موجبة كلما تقدم عمر الحيوان لحصول الإصابات المتكررة له أو نتيجة وجود التفاعل المتصالب مع الطور الناعم للجراثيم البروسيلا الناتج عن التعرض للإصابة ب*Br. abortus,Br. suis* (٩،٨).

شكر وتقدير

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

المصادر

1. Merta A , Ozarasa R , Tabaka F , Bilirb M , Yilmaza M , Kurt C , Ongorenb S , Tanriverdib M , Ozturka R. The sensitivity and specificity of *Brucella* agglutination tests. Diag.Microbiol. Infect. Dis. 2003;46: 41–243
2. Al-Majali A M. Seroepidemiology of caprine Brucellosis in Jordan. Small Rumin. Res. 2005;58: 13–18
3. Radostits O M, Gay C C, Hinchcliff K W, Constable P D. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses,sheep,pigs and goats,10th ed. 2007; W.B. Saunders Elsevier, London.
4. Godfroid J, Cloeckart A, Liantard J P, Kohler S, Fretin D, Walravens K, Garin-Bastuji B, Letesson J J. From the discovery of the Malta fevers agent to the discovery of amarine mammal reservoir ,Brucellosis has continuously been a re-emerging zoonosis.Vet. Res.2005;36:313-326.
5. Garin-Bastuji B, Blasco J M , Mar´ýn C, Albert D. The diagnosis of brucellosis in sheep and goats, old and new tools. Small Rumin. Res. 2006;62:63–70
6. Altuglu I , Zeytinog¢lu A , Bilgic A, Kamcioglu S , Karakartal G , Smits H. Evaluation of Brucella dipstick assay for the diagnosis of acute brucellosis. Diag. Microbiol. Infect. Dis.. 2002; 44:241–243
7. Quinn P J , Markey B K, Carter M E, Donnelly W J C, Leonard F C. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 1st ed. 2002;Blackwell Science Ltd., London.pp.163-167.
8. Solorio-Rivera J L , Segura-Correa J C ,. Sa´nchez-Gil L G. Seroprevalence of and risk factors for brucellosisof goats in herds of Michoacan, Mexico. Prev. Vet. Med. 2007; 82:282–290
9. Al-Talafhah A H , Lafi Q Sh , Al-Tarazi Y. Epidemiology of ovine brucellosis in Awassi sheep in Northern Jordan. Prev. Vet. Med. 2003; 60:297–306
10. Minas A.control and eradication of brucellosis in small ruminants. Small Rumin. Res. 2006;62:101-107.
11. Blasco J M. A review of the use of *Br. melitensis* Rev1. vaccine in adult sheep and goats. Prev. Vet. Med.1997;31:275-283.
12. Yumuk Z , Afacan G , CSalVsSkan SS, Irvem A , Arslan U. Relevance of autoantibody detection to the rapid diagnosis of brucellosis. Diag. Microbiol. Infect. Dis. 2007 ;58:271–273.
13. Delpino M V, Cassataro J, Fossati C A, Baldi P C.Antibodies to CP24 protein of *Brucella melitensis* lack diagnostic usefulness in ovine Brucellosis. Vet. Microbiol.2003;93:101-107.
14. 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.1999: pp 625–631. ASM Press: Washington DC
15. Garrido F, Duran M, Macmillan A, Minas A, Nicoletti P, Vecchi G.brucellosis in sheep and goats (*Br.melitensis*).2001;European commissiom , report of Scientific committee on animal health and animal welfare.
16. Al-Hangawe O K S. Comparative diagnosis study of brucellosis in sheep and goats in Ninevah province using ELISA and other serological test. (Msc.thesis). college of veterinary medicine. Mosul university. 2006.
17. Alton G G, Jones L M, Pietz D E.Laboratory Techniques in Brucellosis.2ed edition.1975. WHO Monograph series, NO.454,Geneva.
18. Abdulah D A.Serological and histological study of toxoplasmosis in slaughtered animals and experminental infection in mice. (Msc.thesis). college of veterinary medicine. Mosul university. 2004.
19. Darwish M , Benkirane A. Field investigations of brucellosis in cattle and small ruminants in Syria, 1990–1996. Rev. Sci. Tech. 2001;20: 769–775.
20. Abdel-Ghani M , Osman K, Nada S M. Evaluation of serodiagnostic methods for brucellosis among sheep and goats in Egypt. Int. J. Zoonosis. 1983;10: 132–137.
21. Ismaily S I, Harby H A, Nicoletti P. Prevalence of Brucella antibodies in four animal species in the Sultanate of Oman. Trop. Anim. Health Prod. 1988;20: 269–270.
22. Wilson G S and Miles A. Principle of Bacteriology ,Virology and Immunity. 6th ed. Edward Arnold. UK.1975.2185-2201.
23. Al-Khafaji W S I. Diagnosis of contagious abortion (Brucellosis) in sheep by serological test with efficacy evaluation of Rev.1 vaccine. (Msc.thesis). college of veterinary medicine. Mosul university. 2008.
24. Fensterbank R,Verger J M,Maggy G. Conjunctival vaccination of young goats with *Brucella melitensis* strain Rev.1.Ann. Rech. Vet.1987;18:397-403.
25. Al-Izzi S A, Barhoom S S. Prevalence of Brucellosis among sheep and goat in Baghdad, Iraq. Iraqi J. Vet. Sci.1988;1(1-2):108-115.
26. Karim M A, Penjonian E K, Dessouky F I. The prevalence of Brucellosis among sheep and goat in northern Iraq. Trop. Anim. Health Prod. 1979; 11(1):186–188.
27. Refai M. incidence and control of brucellosis in the Near East region. Vet. Microbiol. 2002;20:81-110.
28. Kabagamba E K, Elzer P H, Geaghan J P,Opuda-Asibo J,School D T and miller J E. Risk factor for Brucella seropositivily in goat herds in eastern and western Uganda. Prev. Vet. Med. 2001;52:91-108.
29. Omar M K,Skjerva E, Woldehiwet Z and Holstad G. Risk factor for Brucella spp. Infection in dairy cattle farms in Asmara, state of Eritrea. Prev. Vet. Med. 2000;46:257-265.
30. Mostafa H A M. Detection of Brucellosis in sheep using PCR with other serological test. Msc.thesis. college of veterinary medicine. Mosul university. 2006.
31. Mansour R S. Epidemiological and Diagnostic study of Brucellosis in Ninevah province. (Msc.thesis). college of veterinary medicine. Mosul university. 2006.
32. Brisibe F , Nawatheb D R , Bet C J. Sheep and goat brucellosis in Borno and Yobe States of arid northeastern Nigeria. Small Rumin. Res. 1996; 20:83-88.
33. OIE, Caprine and Ovine Broucellosis in:OIE manual of diagnostic test and vaccines for terrestrial animals. 5th ed. 2004;Capter: 2.4.2.