التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية المصاحبة للاصابة بداء البروسيلوسز في الضأن

سامح هدايت ارسلان، مدركة محمود حسن، هديل عاصم محمد، نبيل احمد الحصري* و قيس طالب العبيدي

فرع الطب الباطني والوقائي، *فرع الفسلجة والكيمياء الحياتية والادوية، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ١٧ تشرين الثاني ٢٠٠٩؛ القبول ١٩ مايس ٢٠١٠)

الخلاصة

استهدفت الدراسة الحالية معرفة نسبة تواجد أضداد داء البروسيللوسز في أمصال الضأن غير الملقحة بالاعتماد على الاختبارات المصلية المختلفة والمتمثلة بأختبار وردية البنكال واختبار التلازن الأنبوبي وأختبار الاليزا غير المباشر، فضلا عن معرفة التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية المصاحبة للإصابة بداء البروسيلوسزفي الضأن، تم فحص ٢٢٨ عينة مصل مثلت ١٩٠٦ رأسا من الضأن غير الملقحة ومن كلا الجنسين، توزعت على عشرة قطعان تم تأمينها من مناطق مختلفة من مدينة الموصل، اظهرت النتائج أن النسبة الكلية لتواجد اضداد البروسيللوسز في الضأن بأستخدام أختبار وردية البنكال واختبار الاليزا غير المباشر كانت (٨,٧٧% و٢٣,٦%) على التوالي، وكانت معايير الاضداد للعينات الموجبة لاختبار وردية البنكال ولاختبار الاليزا غير المباشر مابين (١/٤٠ -١/٦٤٠) باستخدام اختبار التلازن الانبوبي، وبينت النتائج حدوث ارتفاع معنوي في خميرة الاسبارتات ناقلة الامين aspartate transaminase (AST)، وخميرة الالنين ناقلة الأمين alanin transaminase (ALT)، وخميرة نازعة هيدروجين اللاكتات lactate dehydrogenase (LDH)، وخميرة الفوسفاتاز القلوي alkaline phosphatase (ALP)، كما لوحظ ارتفاع معنويا في نسبة تركيز الكلوكوز glucose concentration، والبيلروبين الكلي total bilirubin والبيليروبين المباشر direct bilirubin، وثلاثي الكلسريد triglycerides والكولسترول cholesterol، مع انخفاض معنوي في مستوى البروتين الكلي total protein والألبومين albumin في عينات الأمصال الموجبة لاختباري الاليزا غير المباشر والتلازن الأنبوبي في الضأن المصابة طبيعيا بداء البروسيللوسز مقارنة مع الأمصال السالبة لتلك الاختبارات.

Changes in some biochemical parameters accompanied with brucellosis in sheep

S. H. Arslan, M. M. Hassan, H.A. Mohammed, N. A. Al-Hussary* and Q. T. Al-Obaidi

Department of Internal and Preventive Medicine, *Department of Physiology, Biochemistry and Pharmacology, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The aim of the present study was to determine seroprevalence of brucellosis in serum of non vaccinated sheep by using different serological tests, Rose Bengal test, tube agglutination test and indirect ELISA test, in addition to study of changes in some biochemical parameters accompanied with Brucellosis in sheep. Study included examination of 228 blood serum samples in different areas of Mosul city. Results showed that prevalence of Brucellosis by using rose Bengal test and indirect ELISA test was (8.77% and 23.6%) respectively. Titers of seropostive sera of Rose Bengal and indirect ELISA ranged (1/40 - 1/640) using tube agglutination test. Results also showed significant increased in aspartate transaminase, alanin transaminase, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase, in addition to significant increase in glucose concentration, total bilirubin, direct bilirubin, triglycerides and cholesterol, whereas total protein and albumin values significantly decreased. All these parameters examinated on seropostive sera for indirect ELISA and tube agglutination tests in sheep naturally infected with Brucellosis compared with seronegative sera for same tests.

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

المقدمة

يعد داء البروسيللوسز من الامراض المعدية المنتشرة والمستوطنة في منطقة الشرق الاوسط ومنها العراق وقد تباينت نسبة انتشاره في العراق اعتمادا على نوع الاختبارات المستخدمة في التشخيص (١)، كما ويعد من الامراض المشتركة بين الانسان والحيوان حيث يصيب انواع عديدة من الحيوانات لاسيما المجترات، ويسبب المرض جراثيم تعيش داخل خلايا الجهاز الشبكي البطاني(٢)، وتختلف فوعة الجرثومة حسب نوع الجرثومة وحجم الجرعة الممرضة، وبعد دخول الجرثومة عن طريق الاغشية المخاطية للقناة التنفسية والقناة التناسلية الذكرية والانثوية تهاجم من قبل دفاعات الجسم المختلفة وعندما تتغلب الجراثيم على مقاومة الجسم تصل الى مجرى الدم وتجرثمة (Bacteremia) ويمكن ان تشخص الحالة بعد ١٠-٢٠ يوم من بدء الاصابة وتبقى لمدة ٣٠ يوما او اكثر من ٦٠ يوما (٣)، ومسبب المرض في الضأن بروسيلا من نوع *B.melitensis* و*B.ovis* (٤،٥)، ويسبب المرض في النعاج الاجهاض وحدوث ولادات ضعيفة (Still-birth) ويحصل الاجهاض خلال الشهرين الاخيرين من الحمل والذي يعقبة في بعض الاحيان احتباس للمشيمة (٣). أن لجرثومة البروسيلا القابلية على احداث تغيرات كيموحيوية في الحيوانات المصابة حيث تؤدي الى ارتفاع فعالية بعض الخمائر كخميرة ناقلة امين الاسبارتات وناقلة امين الالنين وخميرة نازعة هيدروجين اللاكتات والفوسفاتاز القلوية (٦) وسبب ذلك يعود الى تورم والتهاب الخلايا الكبدية ونخرها وتشمعها والتهاب القناة الصفراوية والبنكرياس في كافة الحيوانات الاليفة والتي تؤدي أيضا الى ارتفاع تركيز الكلوكوز (٧)، واشارStockham (٨) ان الجرثومة يمكن ان تسبب التهاب كبيبات الكلية مع التهاب الكبد مما يؤدي الى انخفاض تركيز البروتين الكلي في الابقار كماتؤدي الى زيادة البيليروبين بنوعيه المباشر وغير المباشر، ويعزا سبب ذلك الى الاذى الحاصل في اعداد كبيرة من الخلايا الكبدية اوتدميرها مما يؤدي الى ركود الصفراء (٧)، كما ان قصور الكلية في الحيوانات الصغيرة المصابة بالمرض تؤدي الى ارتفاع اليوريا بألاضافة الى ارتفاع مستوى شحوم الدم بأنواعها (٩). ونظرا لاهمية وقلة الدراسات حول معرفة التغيرات في المعايير الكيموحيوية وضعت هذة الدراسة، بألاضافة الى معرفة النسبة الكلي للإصابة بداء البروسيللوسز في الضأن.

المواد وطرائق العمل

أجريت الدراسة على ٢٢٨ عينة مصل دم مثلت ١٩٠٦ راسا من الضأن توزعت على مناطق مختلفة من مدينة الموصل شملت (حقل كلية الزراعة والنمرود والرشيدية وتلكيف وبعشيقة وشهرزاد والجبان والحمدانية وبازوايا وكوكجلي)، وللفترة من شهر أيار ٢٠٠٨ ولغاية أيار ٢٠٠٩. تم جمع (٥مل) من الدم من الوريد الوداجي بأستخدام سرنجات معقمة ووضعت في أنابيب زجاجية وتركت لمدة ٢٤ ساعة لكي يتخثر الدم، ثم وضعت الأنابيب في جهاز الطرد المركزي (٣٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة خمس دقائق) وفصل المصل ووضع في أنابيب بلاستيكية معقمة وحفظت في درجة حرارة (-٢٠°م) لحين اجراء الاختبارات المصلية. تم إجراء اختبار وردية البنكال على عينات المصل وحسب تعليمات الشركة التركية المجهزة (GÖKHAN) والذي يحتوي على المستضدات الخاص بجرثومة *B.abortus* (١٠)، واجراء اختبار الاليزا غير المباشر على العينات الموجبة والسالبه لاختبار وردية البنكال وحسب تعليمات الشركة الامريكية المجهزة (VMRD,Inc./ USA) والذي يحتوي على المستضدات الخاصة بجرثومتي *B.melitensis* و *B.abortus*، واستعمال المستضد المجهز من الشركة التركية المجهزة (GÖKHAN) والذي يحتوي على المستضدات الخاص بجرثومة *B.abortus* لاجراء اختبار التلازن الانبوبي على العينات الموجبة لاختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشرة (١٠).

أجريت الاختبارات الكيموحيوية على امصال الضأن التي اعطت نتائج موجبة مع اختبار الاليزا غير المباشروالتلازن الانبوبي (٢٠ عينة مصل) فضلا عن مجموعة العينات السالبة لنفس الاختبارين (١٥ عينات مصل). شملت الاختبارات الكيموحيوية قياس فعالية خميرة ناقلة امين الاسبارتات aspartate transaminase(AST) وخميرة ناقلة امين الالنين alanin transaminase(ALT) وخميرة نازعة هيدروجين اللاكتات lactate dehydrogenase (LDH)، فضلا عن قياس تركيز الكلوكوز glucose concentration، والاعتماد على الطريقة اللونية لتقدير تركيز ثلاثي الكليسيريد triglycerides وتركيز البيليروبين الكلي total bilirubin والبيليروبين المباشرdirect bilirubin، واستخلصت نتائج معدلات البيليروبين غير المباشر indirect bilirubin وذلك بطرح معدلات البيليروبين المباشر من معدلات البيليروبين الكلي وتقدير تركيز الالبومين albumin، جميع هذة المعايير تم قياسها بالاعتماد على محاليل قياس جاهزة (Kits) وحسب تعليمات شركة سيربايو السورية، وتم قياس البروتين الكلي total protein وحسب طريقة بايوريت(١١)، كما تم قياس فعالية خميرة الفسفاتاز القلوية alkaline phosphatase (ALP) و الكولسترول cholesterol وحسب تعليمات شركة بايومريكس (Biomerieux) الفرنسية. تم تحليل النتائج احصائيا بأجراء اختبار t-test (١٢).

النتائج

اظهرت النتائج ومن خلال فحص ٢٢٨ عينة مصل دم للضأن أن النسبة الكلية لتواجد اضداد جرثومة البروسيلا وبأستخدام اختباري وردية البنكال و الاليزا غير المباشر بلغت (٨,٧٧% و٢٣,٦%) على التوالي،كما تم اجراء اختبار التلازن الأنبوبي على العينات الموجبة لاختبار وردية البنكال (٢٠ عينة)

حيث كان المعيار الحجمي للأجسام المضادة لهذه العينات أكثر من ٦٠ وحدة دولية / مل وبمقدار تخفيف (٤٠/١ الى ٦٤٠/١)، في حين أظهرت نتائج اختبار التلازن الأنبوبي للعينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر (٥٤ عينة) إن المعيار الحجمي ل (٣٤ عينة) منها تراوح مابين (١٠/١ الى٢٠/١) أو مايعادل ١٥-٣٠ وحدة دولية /مل امابقية العينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر (٢٠ عينة) فقد كان المعيار الحجمي أكثر من ٦٠ وحدة دولية / مل وبمقدار تخفيف (٤٠/١ الى ٦٤٠/١)، (الجدول١).

واظهرت نتائج الاختبارات الكيموحيوية على عينات مصل الدم للضأن التي اعطت نتائج موجبة لاختبار الاليزا غير المباشرو التلازن الأنبوبي حدوث ارتفاع معنوي (P<0.01) في خميرة الاسبارتات ناقلة الأمين، وخميرة الالنين ناقلة الامين، وخميرة نازعة هيدروجين اللاكتات وخميرة الفوسفاتاز القلوي، مقارنة مع مجموعة الامصال السالبة للاختبارات المصلية (الجدول ٢).

وبينت النتائج أيضا الارتفاع المعنوي (P<0.05) في نسبة تركيز الكلوكوز، والبيليروبين الكلي، والبيليروبين المباشر وثلاثي الكلسريد تحت مستوى معنويا (P<0.01)، والكولسترول تحت مستوى معنويا (P<0.05)، مع انخفاض معنوي (P<0.01) في مستوى البروتين الكلي والألبومين في العينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر في أمصال الضأن المصابة طبيعيا بداء البروسيللوسز مقارنة مع مجموعة الأمصال السالبة للاختبارات المصلية (الجدول ٣).

الجدول (١) النسب الكلية لتواجد اضداد جرثومة البروسيلا ومعاييرها في الضأن.

نوع الاختبار	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية %	معايير الأضداد						
				١٠/١	٢٠	٤٠	٨٠	١٦٠	٣٢٠	٦٤٠
وردية البنكال	٢٢٨	٢٠	٨,٧٧	-	-	٨	٤	٤	٢	٢
الاليزا غير المباشر	٢٢٨	٥٤	٢٣,٦	١٤	٢٠	٨	٤	٤	٢	٢

الجدول (٢) التغيرات في بعض خمائر امصال الضأن المصاحبة للاصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز.

الخميرة	مجموعة السيطرة المعدل ± الخطاء القياسي	الضأن المصابة المعدل ± الخطاء القياسي
ناقلة امين الاسبارتات (وحدة دولية/لتر)	١٠,٩٧ ± ١٦٨,١٣	١٣,٦٣ ± ١٨١,٧١ **
ناقلة امين الالنين (وحدة دولية /لتر)	٥,٤٤ ± ٣١,٩٣	٧,١٥ ± ٤٤,٩ **
نازعة هيدروجين اللاكتات (غرام/لتر)	٠,٤٧ ± ٠,٦٤	٠,٨١ ± ١,٨٨ **
الفسفاتايز القلوية (وحدة دولية /لتر)	٩,٠٥ ± ٨٩,٤٠	١٧,٨٠ ± ١٤٤,٠٠ **

**الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية (P<0.01).

الجدول (٣) التغيرات في بعض المعايير الكيموحيوية في أمصال الضأن المصاحبة للاصابة الطبيعية بداء البروسيللوسز.

نوع الاختبار	مجموعة السيطرة المعدل ± الخطاء القياسي	الضأن المصابة المعدل ± الخطاء القياسي
تركيز الكلوكوز (مليمول/لتر)	٠,٧٥ ± ٣,٧٧	٠,٧٣ ± ٤,٠٣ *
البيليروبين الكلي (مايكرومول/لتر)	١,٨١ ± ٧,٥٠	١,٢٠ ± ٨,٩٠ **
البيليروبين المباشر (مايكرومول/لتر)	٠,٢٧ ± ٣,٢٠	٠,٩٠ ± ٤,٧٠ **
البيليروبين غير المباشر (مايكرومول/لتر)	١,٥٣ ± ٤,٣٠	٠,٣٠ ± ٤,٢٠
ثلاثي الكليسريد (مليمول/لتر)	٠,٢٠ ± ١,٢٦	١,٥٥ ± ٢,٧٥ **
الكولسترول (مليمول/لتر)	٠,٦٦ ± ٢,٣٤	٠,٥٩ ± ٢,٤٦ *
البروتين الكلي (غرام/١٠٠مل)	٣,٩١ ± ٨,١٩	١,٣١ ± ٧,٩٠ **
الالبومين (غرام/١٠٠مل)	٠,٦٩ ± ٢,٩٤	٠,٣٠ ± ١,٩٠ **

**الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية (P<0.01).

*الاختلاف معنوي عن مجموعة السيطرة عند مستوى معنوية(P<0.05).

المناقشة

أظهرت النتائج ان النسبة الكلية للاصابة بداء البروسيللوسز في الضأن في الموصل بأستخدام اختباري وردية البنكال و الاليزا غير المباشر بلغت ٨,٧٧% و٢٣,٦% على التوالي وجاءت هذه مقاربة لنتائج أخرى (١٣-١٥) استخدمت نفس الاختبارات لتشخيص المرض. واظهرت الاختبارات الكيموحيوية في الضأن المصابة بالبروسيلوسز ارتفاع معنوي في خمائرالاسبارتات ناقلة الامين، و الالنين ناقلة الامين، و نازعة هيدروجين اللاكتات، والفسفاتاز القلوية، وارتفاع مستوى الكلوكوز، ومستوى البيليروبين الكلي والمباشر وجاءت متفقة مع ما سبق (١٦،١٧)، ويعزى ذلك الى الاذى في الخلايا الكبدية وتشمع الكبد ونخره، والتهاب القناة الصفراوية والتي تسبب ركود الصفراء في القناة الصفراوية ومن ثم ارتشاح البيليروبين من خلال جدارها الى الدم وبالتالي ارتفاعه في مصل الدم (١٨،٧)، ولوحظ الى ان الارتفاع في تركيز البيليروبين يعود الى اصابة الكبد نتيجة البروسيللوسز (١٩). وُذكر ان الارتفاع في خميرة الفسفتاز القلوية يعود الى تورم الخلايا الكبدية والتهاب البنكرياس في المجترات بالاضافة الى امراض العظام التي تحدث نتيجة اضطراب ايض فيتامين D (٢٠). واظهرت النتائج ارتفاعا معنويا في مستوى الدهون المتمثلة بثلاثي الكليسيرايد في الضأن المصابة واتفقت هذه النتيجة مع ما سبق (١٧) حول حصول الارتفاع في ثلاثي الكليسيرايد والذي يعود الى وجود الذيفان الداخلي في الدم، لذا قد يعزى الارتفاع في هذه الدراسة الى الاصابة بجرثومة البروسيلا التي تحتوي على الذيفان الداخلي. وبينت النتائج ارتفاع مستوى الكولسترول في الضأن المصابة وجاءت النتيجة متفقة مع ماسبق (٨) حيث لوحظ ان الارتفاع في تركيز الكوليسترول في المجترات يمكن ان يحدث لاعتلال الكلية والتهاب كبيبات الكلى والمتلازمة الكلائية. كما لوحظ من الدراسة انخفاض تركيز البروتين الكلي و الالبومين في الضأن المصابة ، وجاءت هذه النتائج مطابقة مع نتائج أخرى (٢١) ويعزى الانخفاض الى قلة صنعه في الكبد نتيجة الاصابة بداء البروسيلا، كما ان فقدان وتسرب الالبومين خلال النسيج التالف للكلية يؤدي الى انخفاض تركيزه (٢٢).

الشكر والتقدير

تم دعم البحث من قبل كلية الطب البيطري، جامعة الموصل.

المصادر

1. Al-Araji AHY, Nouri KA, Tawfik MR. Neurobrucellosis: report of Iraqi patients. J Fac Med. 1998;40(4):481-297.
2. Ficht TA. Intracellular survival of brucella defining the link with persistence. Vet Microbiol. 2003;92:213-223.
3. Radostitis OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. Veterinary medicine, A text of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats, 10th ed. London: W.B. Saunders Elsevier; 2007. p. 966-998.
4. Gall D, Nielsen K, Vigliocco A, Smith P, Perez B, Rojas K, Robles A. Evaluation of an indirect enzyme-linked immunoassay for presumption serodiagnosis of *Brucella ovis* in sheep. Small Rum Res. 2003;48:173-179.
5. Gupta VK, Verma DK, Singh SV, Vihan VS. Serological diagnostic potential of recombinant outer membrane protein (omp31) from *Brucella melitensis* in goats and sheep brucellosis. Small Rum Res. 2007;70:260-266.
6. Sker M, Devecioglue C, Yaramis A, Ozbek S, Zbek MN, Tuzun H. Microangiopathic, hemolytic anemia, thrombocytopenia and acute renal failure associated with acute brucellosis. Inter Ped 2001;16:105-108.
7. Burrows CF. Liver disorders. In: Clinical medicine of the dog and cat. Schaer M, ed. UK: Manson publishing; 2003. p. 69-85.
8. Stockham SL, Scott MA. Fundamentals of veterinary clinical pathology. USA: Iowa State Press; 2002. p. 251-277.
9. Senior DF. Urinary disorders. In: Clinical medicine of the dog and cat. Schaer M, ed. UK: Manson publishing; 2003. p. 54-68.
10. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the Brucellosis laboratory. Paris: INRA; 1988. p. 63-129.
11. Wootton IDP. Microanalysis in medical biochemistry. 5th ed. Edinburgh: Churchill Livingstone ;1974. p. 156.
12. Steel RG, Torrie JH. Principles and procedures of statistics, 2nd ed., McGraw: Hill Inc; 1985. p. 120.
١٣. العزاوي، زيادسعدالله. دراسة مصلية وجرثومية لمرض الأجهاض المعدي (البروسيللوسز) في الضأن و الماعز في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل ١٩٩٥.
١٤. منصور، ريم سالم. دراسة وبائية وتشخيصية لمرض البروسيلا في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل ٢٠٠٠.
١٥. الحنكاوي، عمر خزعل سلو. دراسة مقارنة لتشخيص مرض البروسيللوسز في الضأن والماعز في محافظة نينوى بأستخدام اختبار الاليزا مع الاختبارات المصلية الاخرى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل ٢٠٠٦.
١٦. العبدلي، ادريس بلال علي. الاصابة بالبروسيلا في محافظة نينوى وبعض الجوانب الكيمياوية الحيوية، اطروحة دكتوراة. كلية الطب البيطري، جامعة الموصل ٢٠٠٥.
17. Gur A, Geyik MF, Dikici B, Nas K, Cevik R, Sarac J, Hosoglu S. Complication of Brucellosis in different age groups: A study of 283 cases in south eastern Anatolia of Turkey. Yonsei Med J. 2003;44:33-44.
١٨. الصوفي، ليث عبد المجيد والسلطان، عماد ابراهيم. التغييرات المرضية المصاحبة لخمج البروسيلا المجهضة في خنازير غينيا الممنعة بلقاح الـ Rev1 المنتج محليا. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري. ٢٠٠٣، ١١:٢-٢٠.
19. Meyer DJ, Harvey JW. Hepatobiliary and skeletal muscle enzymes and liver function tests. In: Veterinary laboratory medicine interpretation and diagnosis. USA: Saunders; 2004. p. 156-168.
20. Grioriou I, Giannakaki A, Pagoni M, Karmiris TD, Mitsouli C, Nikiforakis E. Extreme hematological abnormalities associated with Brucellosis: Report of two cases. Haematol. 2003;6:93-96.
21. Gursoy S, Baskel M, Ozbakir O, Guven K, Patiroglu T, Yucesoy M. Spontaneous bacterial peritonitis due to brucella. Turk J Gastroenterol. 2003;14:145-147.
22. Newman DJ, Price CP. Renel function and nitrogen metabolites. In: Burtis CA, Ashwood ER, eds. Tietz–Textbook of Clinical Chemistry. Philadelphia: W.B. Saunders Co.; 1999. p. 1204-1270.

View publication stats