دراسة الاستجابة المناعية للأغنام والماعز الملقحة بلقاح S19 المنتج محلياً بالتقطير على ملتحمة العين للسيطرة على داء البروسيلات

وفاء عبد الإله احمد[1] وغازي موسى الخطيب[2]

1-وحدة الامراض المشتركة- كلية الطب البيطري - جامعه بغداد 2- جامعة المثنى سابقا

الخلاصة

لقح قطيعين من الاغنام والماعز بلقاح S19 المنتج محليا في المشروع الوطني للسيطرة على مرض الاجهاض الساري والسل , اذ يتالف كل منهما 35,30 على التوالي, بطريقة التقطير على ملتحمة العين بتركيز 10^9 X 2 خليه جرثومية بالقطرة الواحدة في كل عين, تم متابعه المجموعه المكونة في كل قطيع من عشرة حيوانات, قيمت الاستجابة المناعية الخلطية من خلال سحب الدم في الاسابيع 19,8,6,4,2 , باجراء فحصي الروزبنكال (RBPT) Rose Bengal Plate Test والتلازن الأنبوبي (SAT) Serum Agglutination Test لتحديد المعيار الحجمي للاضداد المتكونة، كانت نتائج فحص الروزبنكال 100% حتى الاسبوع السادس والثامن في الاغنام والماعز على التوالي، بينما اظهر فحص التلازن الانبوبي معدلات في المعيار الحجمي للاضداد المتكونة بعد التلقيح والتي بلغت 100 ، 84 ، 47 ، 21 ، 7 في الاغنام بينما كانت 144 ، 192 ، 100 ، 62 ، 13 في الماعز، كما قيمت الاستجابة المناعية الخلوية باجراء فحص الجلد باستعمال مستضد بروسلين البيبتايدوكلايكان peptidoglycan brucellin (PGB) , والذي تم معايرته بأربعة تراكيز 10 ، 100 ، 200 ، 500 مايكروغرام في 10 خنازير غينيا وستعملت جرعة 200 مايكروغرام التي حقنت في الاسبوع السادس والثالث عشر أدت الى حدوث احمرار وتثخن في الاغنام والماعز الملقحة بينما لم يعطي البروسلين اي نتائج ايجابية في مجاميع السيطرة.اظهرت الدراسة سهولة استخدام طريقة التقطير على ملتحمة العين فضلا عن سرعة انخفاض معيار الاضداد المتكونه بعد التلقيح ,علاوةً على كون الطريقه اقتصاديه ولوحظ عدم حدوث أية اعراض جانبيه خلال عملية التلقيح مقارنة بالاصابات العرضية الناجمة عن الحقن تحت الجلد مثل الخراجات والالتهابات المختلفة الشدة التي تمهد لاصابات الذبابة الحلزونية في منطقة الحقن. نستنتج من الدراسة إمكانية تعميم طريقة التقطير على ملتحمة العين ضمن خطط تلقيحات البرنامج الوطني للسيطرة على داء البروسيلات في الاغنام والماعز ، فضلاً عن امكانية استعمال لقاح واحد مشترك لتلقيح الحيوانات الحقلية ضد الاصابة بهذا الداء.

Study the Immune Response of Conjunctival Vaccinated Sheep and Goats with Locally Produced S19 Vaccine for Controlling the Brucellosis

Waffa A.A.[1] and G.M. AL-Khatib[2]

1-College of Veterinary Medicine - Baghdad University 2- AL-Muthanna University Previously.

Summary

Two flocks of sheep and goats (30 and 35 animals) were vaccinated by locally produced S19 vaccine, each animal instilled with 2 X 10^9 cfu in each drop conjunctively. From each flock, a group of 10 heads was used to study the immune response serologically at intervals 2, 4, 6, 8, and 19 week through blood samples using the rose bengal plate test (RBPT) and serum agglutination test (SAT) to determine Ab titres.

The results of RBPT were 100% positive till 6 and 8 weeks in sheep and goats respectively, while SAT showed means of Ab titer after vaccination 100, 84, 47, 21, and 7 in sheep while in goats reached 144, 192, 100, 62, and 13. Also, the cellular immune response was evaluated by prepared Peptidoglycan Brucellin (PGB), which was injected in 10 guinea pigs through 4 concentrations 10, 100, 200, and 500 µg, 200 µg was used in brucellin test at the sixth and thirteenth week after vaccination, the antigen caused erythemia and induration in the vaccinated sheep and goats while the test give negative results in non-vaccinated animals.

The study revealed that the conjunctival route is more safe, easy, and economic, and also the rapid reduce of Abs titer compared with subcutaneous route. Also, it is noticed that there were no side effects in the conjunctival route comparatively with subcutaneous route such as inflammation, abscess, and screw worm in the worm infestation in the site of injection.

The study concluded the possibility of using conjunctival route in the vaccination campaign for controlling brucellosis in sheep and goats and also possibility of using one vaccine for different field animals against brucellosis.

المقدمة

ان لقاحي البروسيلا المجهضة عترة S19 والمستخدمة في الأبقار ولقاح البروسيلا المالطية عترة Rev1 والمستعمل في المجترات الصغيرة ولقاح البروسيلا الخنزيرية الضرب –2- والمستعمل في الخنازير والأغنام وأنواع أخرى من الحيوانات هي لقاحات مضعفة حية وذات ضراوة واطئه وهي من اكثر اللقاحات المستعملة في السيطرة على إصابات الحيوانات بداء البروسيلات. تجريبياً وحقلياً وأثبتت كفاءتها وهي مفضلة على اللقاحات المقتولة Killed Vaccines (1). ان اهم خاصية سلبية لهذا النوع من اللقاحات انها تحدث تداخلاً مع الفحوصات المصلية وقد تستمر لمدة طويلة عند تلقيح الحيوانات البالغة وهذا يمنع التمييز بين الحيوانات المصابة والملقحة، ولغرض تحاشي أو منع هذه التداخلات تعطى اللقاحات للإناث غير البالغة او الحيوانات البالغة عن طريق التقطير على ملتحمة العين او بجرع مخفضة (2)،(3). طريقة التقطير على ملتحمة العين استعملت بشكل واسع في فرنسا ،منذ عام 1980، وفرت حماية كاملة للقطعان من الاصابة بالمرض وان استعمال هذه الطريقة مع استبعاد الحيوانات المصابة ادى الى انخفاض سريع للاصابة بلمرض اذ يتم اعطاء اللقاح بطريقة التقطير بالعين بقطرة واحدة بحجم 33 مايكروليتر وبتركيز 5-10×10^9 لكل قطرة في العجلات والابقار (1) ، ويعطى بجرعة 4-10×10^9 خلية حية/قطرتين وبجرعتين تفصلهما مدة 4-10 اشهر وهي مفضلة على طريقة الحقن تحت الجلد لانها لاتحدث تداخلاً مناعياً لمستوى الاضداد المتكونة عند اجراء الفحوصات المصلية اذ لاتتجاوز مدة 4 اشهر بعد التلقيح حتى في الحيوانات البالغة فان مستوى المناعة يرتفع بعد اول جرعة ويزداد بقوة بعد الجرعة الثانية (4), وتستعمل هذه الطريقه في الماعز في المناطق التي تعتمد على حليب الماعز للاستهلاك البشري, اذ ان هذه الطريقه لا يحدث فيها طرح جرثومي مع الحليب كما ان المستوى التمنيعي بهذه الطريقة مساوي لمثيله في الحقن تحت الجلد لاسيما عند اجراء العملية مرتين خلال 6 اشهر, بوصفها حدا فاصلا بين التلقيحين , كما ان مدة بقاء تاثير الاضداد المتكونة وتاثيرها في الفحوصات المصلية تستمر لمدة قصيرة مقارنه باسلوب الحقن تحت الجلد (5), وفي الاغنام اعطت هذه الطريقة التي تم تطبيقها لاول مرة في العراق، نتائج جيدة قياساً مع نتائج التلقيح بالحقن تحت الجلد(6).

ولقد استعمل لقاح Rev 1 في تلقيح الابقار والذي ادى الى انخفاض نسبة الاصابة بالمرض، وتبين ذلك من خلال الفحوصات المصلية وسهولة الولادات وارتفاع عددها ومتابعة الافرازات المهبلية ، كما ثبت فعالية هذا اللقاح ضد جرعة التحدي لكلا العترتين الضاريتين (7)،(8). وذكر (1) بأنه تمكن من استعمل اللقاح الذي حضرة من البروسيلا الخنزيرية الضرب2- في تلقيح الأغنام والماعز وتمكن من استعماله بجميع الاعمار وبجرعة 10^{10} عن طريق الفم (Orally).

ان فحصي الروزبنكال والتلازن الانبوبي استعملا لقياس المعيار الحجمي للاضداد المتولدة في مصول الحيوانات الملقحه, لعدم وجود فحص مثالي للكشف عن هذه ضدات البروسيلا اذ يستعمل اكثر من فحص مصلي للكشف عن هذه الاضداد عند الاصابه بهذه الجراثيم وهذا يعتمد على نوع الاصابه ونوع والمعيار الحجمي للاضداد في مصول الحيوانات ثم درجة حساسيه الفحوص المصليه المستعملة للاختبار (9) .

ان التجربة العالمية وما اقره مؤتمر الطاولة المستديرة لخبراء المنظمات الدولية FAO و WHO و OIE سنة 1995 في فرنسا توصي بضرورة الاعتماد على لقاح واحد وليست لقاحات متعددة المناشيء لما له من خطورة في عدم استقرار نتيجة فحص الضراوة المتبقية Residual virulence وانخفاض القابلية التمنيعية للقاح immunogenicity .

بناءاً على ما تقدم فقد تبلورت فكرة دراسة الاستجابة المناعية للقاح S19 المنتج محلياً عند اعطائه للاغنام والماعز وهي حيوانات غير مخصصة للتلقيح به واعتماد طريقة التقطير على ملتحمة العين كونها اكثر اماناً سواء كان ذلك على مستوى الحيوانات الملقحة او القائمين بعملية التلقيح ضمن اطار البرنامج الوطني للسيطرة على داء البروسيلات في العراق.

المواد وطرائق العمل

استعمل لقاح S19 المنتج في المشروع الوطني للسيطرة على مرض الإجهاض الساري والسل، والعائد الى الشركة العامة للبيطرة , في عملية التلقيح والمحضر حسب طريقة (4) وتم اعطائه بتركيز 4 × 10^9 خليه حيه/جرعه بحجم 33 مايكروليتر. تم تلقيح قطيعين، قطيع الاغنام المؤلف من 30 رأس وقطيع الماعز المؤلف من 35 رأس, بطريقه التلقيح على ملتحمه العين وحددت مجموعه متابعه لكل قطيع مؤلفه من 10حيوانات لغرض متابعه الاستجابه المناعيه على فترات 19,8,6,4,2 اسبوع , الحيوانات الملقحه كانت تشمل الذكور والاناث والتي كانت بمختلف الاعمار وبكافه مراحل الحمل.

اجري فحص الروزبنكال, باستعمال المستضد المحضر في المشروع الوطني للسيطرة على الاجهاض الساري والسل, ولغرض فحص الحيوانات قيد التجربه للتاكد من خلوها من الاصابه المسبقه ومن ثم متابعه الاضداد المتكونه بعد التلقيح وحسب طريقة (4).

كذلك اجري فحص التلازن الانبوبي وفق الطريقة الاوربيه باستعمال المستضد المحضر في المشروع المذكور لغرض تحديد المعيار الحجمي الاضداد المتكونه بعد التلقيح .

كما تم تحضير بروسلين البيتايدوكلايكان باعتماد طرائق كيميائية مع اجراء بعض التحويرات في عملية الاستخلاص من جرثومة *B. abortus* S19, اذ استخلص البيتايدوكلايكان حسب طريقة (10). جرى تجريب 4 تراكيز مختلفة من

البروسلين المحضر في خنازير غينيا غير الملقحة 10µg ، 100µg، 200µg، 500µg، وقرأت النتائج بعد مرور 24 و 48 ساعة ، واستعملت جرعة 200 µg في اجراء فحص الحساسية الجلدي المنأخر (في الاسبوع السادس والثالث عشر) للاغنام والماعز الملقحة بلقاح S19 وحقنت بالجلد في منطقة تحت الابط ، وسجل التفاعل الجلدي في منطقة الحقن خلال 24 ، 48 ساعة بعد الحقن من خلال قراءة قطر الاحمرار وتثخن الجلد بوساطة المسطرة المعدنية.

النتائج

1/ قطيع الاغنام: الفحوصات التي اجريت قبل التلقيح على مجموعه المتابعه اظهرت عدم وجود نتائج موجبه قد تشير الى وجود اصابات مسبقه, كما واظهرت نتائج متابعه الفحوصات المصلية، في الاسابيع 19,8,6,4,2, معدلات المعيار الحجمي للاضداد المتكونة بعد التلقيح والتي بلغت 7,21,47,84,100 على التوالي في حين كان مستوى الاضداد المتكونه بعد التلقيح لمدد سحب الدم المذكورة أعلاه مختلفا حسب مدة المتابعه اذ كانت في الأسبوع الثاني محصورا بين Ve– و 160, وفي الاسبوع الرابع بين40_160 . وفي الأسبوع السادس محصورا بين 10_160 . وفي الاسبوع الثامن بين Ve– 80 , اما في الأسبوع التاسع عشر فكان المدى بين Ve–و40. وكما موضح في جدول رقم 1, شكل رقم 1.

2/ قطيع الماعز: الفحوصات التي اجريت قبل التلقيح على مجموعه المتابعه اظهرت عدم وجود نتائج موجبه قد تشير الى وجود اصابات مسبقه ,ولقد اظهرت نتائج المتابعه المصلية في الفترات الزمنية 19,8,6,4,2 أسبوع في مجموعه المتابعه ,معدلات في المعايير الحجميه للاجسام المضادة المتكونه بعد التلقيح بلغت 13,62,100,192,144 على التوالي, في حين كان مدى للاضداد المتكونه بعد التلقيح لفترات سحب الدم المذكورة أعلاه مختلفا حسب فترة المتابعة حيث كانت في الاسبوع الثاني محصورا بين80_160 وفي الاسبوع الرابع كان محصورا بين 160_320 وفي الاسبوع السادس كان محصورا بين 120_160 وفي الاسبوع الثامن بين 20_80 وفي الاسبوع التاسع عشر كان محصورا بين 10_20 .

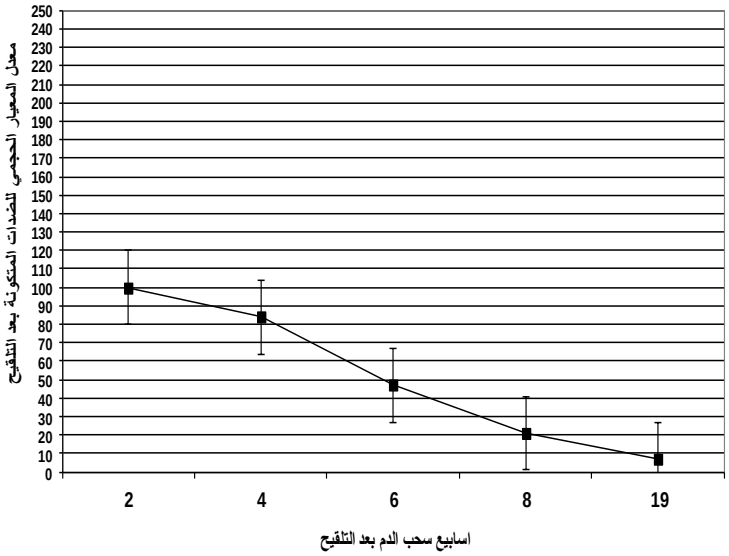
اما فحص الروزبنكالجدول (رقم 2,شكل رقم 2) فقد كان مثبتا 100% حتى الاسبوع السادس في الاغنام وفي الماعز حتى الاسبوع الثامن ، اظهر فحص البروسلين في خنازير غينيا ان البروسلين المحضر أعطى تفاعلا موجباً مع أحد حيوانات المجموعة بجرعة 500 µg لهذا استبعدت هذه الجرعة من الفحص وجرى تثبيت 200 µg لاجراء فحص البروسلين في الاغنام والماعز .أظهر الفحص الذي أجري في الاغنام والماعز الملقحة نتائج إيجابية واضحة بعد 6 أسابيع من التلقيح وكانت المعدلات الحسابية في الاغنام 17.13 ملم لقطر منطقة الاحمرار ولفرق التثخن 1.2 ملم للقراءات بعد 24 ساعة وانخفضت القراءات بعد 48 ساعة فاصبحت 12.39 ملم و 0.3 ملم لقطر منطقة الاحمرار وتثخن الجلد على التوالي. بينما كانت المعدلات الحسابية بعد 13 اسبوع من التلقيح 12.47 ملم لقطر الاحمرار و 0.24 ملم لتثخن الجلد بعد 24 ساعة وانخفضت بعد 48 ساعة لتصبح 8.44 ملم لقطر الاحمرار و 0.2 ملم لتثخن الجلد جدول رقم3.

اما في الماعز، فكانت المعدلات الحسابية بعد 6 اسابيع 15.28 ملم لقطر الاحمرار و 2.26 ملم لتثخن الجلد بعد 24 ساعة وانخفضت بعد 48 ساعة فاصبحت 11.14 ملم و 0.88 ملم على الجلد على التوالي بعد 24 ساعة وانخفضت لتصبح 3.74 ملم و 0.22 ملم بعد 48 ساعة على التوالي جدول رقم4.

جدول رقم (1) :نتائج الفحوصات المصلية للاغنام الملقحة بلقاح S19 بطريقة التقطير بالعين

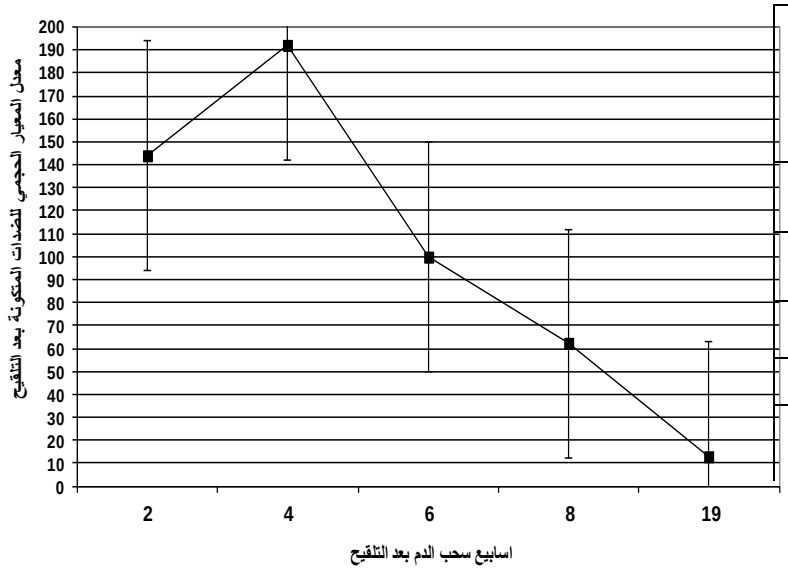
		اســـابيع ســحـــب الـــدم									
	فحص الروزبنكال قبل التلقيح	2		4		6		8		19	
التسلسل		فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي
1	-ve	+	80	+	80	+	80	+	20	-ve	-
2	-ve	+	160	+	160	+	160	+	80	+	40
3	-ve	+	160	+	80	+	80	+	40	+	10
4	-ve	+	40	+	80	+	20	-ve	-ve	-ve	-ve
5	-ve	+	80	+	40	+	40	-ve	10	-ve	-ve
6	-ve	+	160	+	160	+	40	+	20	+	10
7	-ve	+	80	+	40	+	10	-ve	-ve	-ve	-ve
8	-ve	+	160	+	80	+	40	-ve	10	-ve	-ve
9	-ve	+	-ve	+	80	+	40	+	20	+	10
10	-ve	+	80	+	40	+	40	-ve	10	-ve	-ve

***الأرقام المجردة تمثل المعيار الحجمي للاضداد.**



الاسبوع	عدد الحيوانات	معدل المعيار الحجمي للاضداد المتكونة بعد التلقيح
2	10	100
4	10	84
6	10	47
8	10	21
19	10	7

الشكل رقم (1) : معدل معيار ومدى تكوين للاضداد في الاغنام الملقحة بلقاح S19 بطريقة التقطيرعلى ملتحمة العين باستعمال فحص التلازن الانبوبي للمصل



الاسبوع	عدد الحيوانات	معدل المعيار الحجمي للاضداد المتكونة بعد التلقيح
2	**10**	**144**
4	**10**	**192**
6	**10**	**100**
8	**10**	**62**
19	10	13

الشكل رقم (2) : معدل معيار ومدى تكوين الضدات في الماعز الملقح بلقاح S19 بطريقة التقطيرعلى ملتحمة العين باستعمال فحص التلازن الانبوبي للمصل

جدول رقم (2) : نتائج الفحوصات المصلية للماعز الملقحة بلقاح S19 بطريقة التقطيرعلى ملتحمة العين

اسابيع سحب الدم											
التسلسل	فحص الروزبنكال قبل التلقيح	2		4		6		8		19	
		فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازز الانبوبي	فحص الروزبنكال	فحص التلازن الانثوي
1	-ve	+	160	+	320	+	160	+	80	+	20
2	-ve	+	160	+	160	+	160	+	80	+	10
3	-ve	+	80	+	320	+	160	+	80	+	20
4	-ve	+	160	+	160	+	160	+	80	+	20
5	-ve	+	160	+	160	+	80	+	40	-	10
6	-ve	+	80	+	160	+	20	+	20	-	10
7	-ve	+	160	+	160	+	80	+	80	+	10
8	-ve	+	160	+	160	+	40	+	40	-	10
9	-ve	+	160	+	160	+	40	+	40	-	10
10	-ve	+	160	+	160	+	80	+	80	-	10

*الأرقام المجردة تمثل المعيار الحجمي للاضداد

جدول رقم (3) :نتائج اختبار فحص الحساسية الجلدية مستضد البروسلين في الاغنام الملقحة بلقاح S19 بطريقة التقطيرعلى ملتحمة العين بعد 6 و 13 اسبوع من التلقيح

التسلسل	الاسبوع السادس						الاسبوع الثالث عشر					
	الروز بنكال	نوع وتركيز مستضد البروسليين	التفاعل خلال 24 ساعة		التفاعل خلال 48 ساعة		الروز بنكال	نوع وتركيز مستضد البروسلين	التفاعل خلال 24 ساعة		التفاعل خلال 48 ساعة	
			قطر منطقة الاحمرار mm	تثخن الجلد mm	قطر الاحمرا ر mm	تثخن الجلد mm			قطر منطقة الاحمرار mm	تثخن الجلد mm	قطر الاحمرار mm	تثخن الجلد mm
.1	+	200µg	17.76	1.55	12.75	0.2	+	200µg	14.6	0.3	10.2	0.1
.2	+	200µg	14.81	0.3	10.5	-Ve	+	200µg	12.5	0.2	9.5	-Ve
.3	+	200µg	14.3	2.05	10.3	0.4	+	200µg	9.1	0.2	5.1	-Ve
.4	+	200µg	24.7	1.5	19.5	0.6	+	200µg	12.46	0.2	8.2	-Ve
.5	+	200µg	14.1	0.6	8.9	0.1	+	200µg	13.7	0.3	9.2	-Ve
	-Ve	PBS	VE-	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve
	-Ve	PBS	VE-	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve
المعدل الحسابي		200µg	17.13	1.2	12.39	0.3			12.47	0.24	8.44	0.2

جدول رقم (4) :نتائج اختبار فحص الحساسية الجلدية مستضد البروسلين في الماعز الملقحة بلقاح S19 بطريقة التقطير بالعين بعد 6 و 13 اسبوع من التلقيح

التسلسل	الاسبوع السادس						الاسبوع الثالث عشر					
	الروز بنكال	نوع وتركيز مستضد البروسلين	التفاعل خلال 24 ساعة		التفاعل خلال 48 ساعة		الروزبنكال	نوع وتركيز مستضد البروسلين	التفاعل خلال 24 ساعة		التفاعل خلال 48 ساعة	
			قطر منطقة الاحمرار mm	تثخن الجلد mm	قطر الاحمرار mm	تثخن الجلد mm			قطر منطقة الاحمرار mm	تثخن الجلد mm	قطر الاحمرار mm	تثخن الجلد mm
1.	+	200µg	15.88	2.26	10.8	1.1	+	200µg	5.5	0.02	2.5	-Ve
.2	+	200µg	10.46	1.0	7.5	0.2	+	200µg	12.0	1.0	7.5	0.2
.3	+	200µg	18.4	2.7	14.1	0.9	+	200µg	9.6	1.9	6.6	0.9
.4	+	200µg	10.9	0.84	7.5	-Ve	+	200µg	5.6	0.75	2.1	-Ve
.5	+	200µg	20.8	4.5	15.8	2.2	+	200µg	-Ve	0.7	-Ve	-Ve
	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve
	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve	PBS	-Ve	-Ve	-Ve	-Ve
المعدل الحساب			15.28	2.26	11.14	0.88			6.54	0.87	3.74	0.22

المناقشة

يعد داء البروسيلات من الامراض المشتركة المهمة والتي تصيب ما يقارب 5 ملايين شخص سنوياً, وهذا يعكس صورة عن مدى انتشاره بين الحيوانات الإنتاجية (11) فضلاً عن أضراره الاقتصادية الكبيرة بالرغم من تغير وبائيته، فقد قل او زال خطر الاجهاض الساري في بعض البلدان المتطورة، لكن البلدان النامية لازالت تعاني من زيادة حدوث المرض بسبب استيراد حيوانات بدون شهادة صحية وزيادة اعداد الاغنام و الماعز ادى الى الزيادة السريعة في انتشار جرثومة البروسيلا المالطية *B. melitensis* ، مؤديا الى زيادة كبيرة في نسبة الاصابة في الانسان (4)،(12).

كانت جميع نتائج فحص الروزبنكال مع مصول الحيوانات الملقحه موجبه حتى الاسبوع السادس اوالثامن, وهذا يدل على تكوين الاضداد نتيجة التلقيح, وقد استعمل هذا الفحص لانه يكشف عن وجود الكلوبيولينات المناعية ولاسيما النوع (IgM) المتغلبة بعد التلقيح بلقاح(S19), فضلا عن ان الدارئ الحامضي لمستضد الروزبنكال يزيد من فعاليه الاضداد الخاصه بالبروسيلا ويقلل حساسية الاضداد غير الخاصة (13).

كانت نتائج التلقيح بلقاح S19 مشجعة جدا على المستويات التمنيعية والتطبيقية والاقتصادية، اذ اعطى اللقاح نتائج ايجابية جيدة باستعمال طريقة التقطير على ملتحمة العين في الماعز والاغنام اذ اظهرت الاشكال والجداول معدلات المعيار الحجمي الاضداد اعلى من النتائج التي ذكرها (6) وتعزى الى استعمال جرعة مخففة ($1X10^9$) خلية جرثومية لكل حيوان بطريقة التقطير على ملتحمة العين واعتبرها نتائج جيدة جداً قياساً بالنتائج التي حصل عليها بطريقة التلقيح بالحقن تحت الجلد، كما ان انخفاض المعيار الحجمي في الاسبوع 19 يتطابق مع ما ذكره (1)،(4) بان طريقة التقطير على ملتحمة العين لا تحدث تداخلاً مناعياً في مستوى الاضداد المتكونة عند اجراء الفحوصات السيرولوجية مدة لاتتجاوز اربعة اشهر بعد التلقيح.

ان وجود اعلى المعيار الحجمي للاضداد التي تكونت بعد التلقيح ظهرت بين الاسبوع الثاني والرابع يتطابق مع ما ذكره (14) بأن التحفيز بالمستضد يؤدي غالباً الى انتاج الكلوبيونات المناعية وبطورين يتم في الاول انتاج IgM ثم يتبعه انتاج IgG ، كما ان لقاح S19 تحفز انتاج الـ IgM التي تصل اعلى معيار له بعد 13 يوم ، في حين يصل IgG اعلى معيار له بعد 24-28 يوماً ويبقى مستوى IgM مرتفعاً ليس كما في حالة الاصابة الطبيعية (15) ، الا ان المعايير الحجمية للاضداد ظهرت أوطأ من المعايير الحجمية بطريقة التلقيح تحت الجلد ويعزى ذلك الى سرعة تجرثم الدم الذي يحدث بدرجة اعلى في الحقن تحت الجلد عما هو عليه بالتقطير على ملتحمة العين كما ان جراثيم العترة القاحية في حالة التقطير على ملتحمة العين سوف تتموضع في الغدد اللمفاوية لمنطقة الرأس ويعني هذا محدودية انتشارها في الجسم (6)،(16) ، وهذا يؤدي الى انخفاض نسبة الاجهاضات خلال فترة الحمل (17) ، فضلاً عن إمكانية تلقيح الأمهات حديثة الولادة بهذه الطريقة لانعدام طرح الجرثومة اللقاحية مع الحليب بعد الولادة وهذا له أهمية كبيرة في المناطق التي تعتمد على حليب الاغنام والماعز للاستهلاك البشري، كما اظهرت الطريقة عدم حدوث اصابات عرضية مثل التهاب العين في الحيوانات الملقحة او أي اصابات عرضية كالكدمات والجروح التري ترافق عملية التلقيح بالحقن تحت الجلد، كما تبين من خلال العمل بهذه الطريقة امان وسهولة العمل بها من قبل العاملين اذ اشار (18) إلى إمكانية العترة اللقاحية إصابة الإنسان من خلال الاصابة العرضية للقائمين بعملية التلقيح تحت الجلد.

أضافت النتائج التي توصلنا اليها معلومات جديدة حول اللقاح المنتج محلياً وهو ان اللقاح اعطى نتائج إيجابية جيدة في الحيوانات غير المخصصة للتلقيح به وهي الاغنام والماعز مما يفتح الطريق واسعاً لدراسات لاحقة معمقة لاستبدال اللقاحين المنفردين بلقاح واحد مشترك يكون له دور كبير في تخفيض كلف الانتاج وهذا يتطابق مع ما ذكره باحثون اخرون بان اللقاحات المحضرة من أنواع جرثومة البروسيلا توفر حماية ضد الاصابة الطبيعية وضد جرعة التحدي للجراثيم المتناظرة والمختلفة في الأبقار والأغنام والماعز والخنازير فضلاً عن الفئران (1)، (7)، (8)،(19)،(20) وقد يفسر هذا بالتفاعلات التصالبية بين المستضدات A , M لجنس البروسيلا والذي يعزى الى وجود 1,2 Linked Perosamine residues بصورة متغلبة في كلا المستضدين لذلك فان المصل المتعدد النسيلة يتفاعل بقوة مع كلا المستضدين (21).

فحص الحساسية الجلدي شائع الاستعمال وهو وسيلة تشخيصية لتوكيد الفحوصات السيرولوجية المصلية (22)، ان بروسلين البيبتايدوكلايكان المحضر من العترة اللقاحية S19 اثبت حساسية عالية اذ اظهر اعلى المعدلات الحسابية من حيث سعة الاحمرار وفرق تثخن في الاغنام والماعز الملقحة بلقاح S19 بعد 24 ساعة وانخفضت تدريجياً حتى اختفت بعد 48 ساعة او اكثر وهذه تتطابق مع ما ذكرته (23) لان التفاعل الجلدي يصل ذروته بعد 24 ساعة ثم يبدأ بالتناقص تدريجياً حتى يختفي بعد 48 ساعة او اكثر.

كما يتطابق مع ما ذكره (10) بأن حقن 0.2 ml / 100 µg من البيتايدوكلايكان داخل الادمة يؤدي الى حدوث تثخن واحمرار بقطر 20 mm في الحيوانات المحسسة بجرثومة البروسيلا.

ان طريقة تحضير مستضد البروسلين لها الاثر الرئيس في اظهار فحص الحساسية الجلدي وان استعمال خليط الايثر والكحول في عملية استخلاص البروسلين للتخلص من الشحوم الفوسفاتية التي تتمثل بالـ Lipid A وهو المسؤول عن معظم التفاعلات البايولوجية لجزيئة LPS للغشاء الخارجي (24) ، ضمّن عدم حدوث التفاعل الالتهابي غير النوعي في الجلد والذي قد يؤدي الى نتائج موجبة كاذبة (25)، كما ان لنوع العترة المستعملة في تحضير مستضد البروسلين اثر في نتائج فحص الحساسية الجلدي اذ باستعمال العترة اللقاحية s19 الناعمة في تحضير بروسلين البيتايدوكلايكان وهذا يتطابق مع ما ذكره (26) بأن مستضد البروسلين المحضر من العترة الناعمة او المخاطية يعطي نتائج افضل من مستضد البروسلين المحضر من العترة الخشنة .

أظهرت نتائج الدراسة ان مستضد البروسلين أعطى نتائج جيدة في تثبيت الإصابة في الأغنام والماعز، اذ دلت نتائج اختبار الحساسية الجلدية كفاءة الاختبار في تقييم الاستجابة الخلوية التي ابدتها الحيوانات الملقحة بلقاح S19 ، وقد جاءت نتائجه متوافقة مع نتائج الفحوصات المصلية (فحص الروزبنكال والتلازن الأنبوبي).

نستنتج من دراستنا امكانية تعميم طريقة التقطير على ملتحمة العين على مستوى العراق باستعمال لقاح واحد مشترك لتلقيح الحيوانات الحقلية ضد الاصابة بداء البروسيلات.

المصادر

1- Ryke, J. (1993). The QC of vaccines against Brucellosis FAO animal production and health paper: 116: 155-161.

2- Alton, G.G.; Corner, L.A. and Plaekett, P. (1980). Vaccination of pregnant cows with low doses of *Brucella abortus* st. 19 Vaccine. Aust. Vet. J., 56: 389.

3- Nicoletti, P. (1993). The Eradication of Brucellosis in Animals. Saudi Med. J., 14: 288 – 292 .

4- Alton, G.G.; Jones, L.M.; Angus, R.D. and Verger, J.M. (1988). Techniques for the Brucellosis Laboratory. Institute national de La recherche agronomique 147, rue de I' university , 75007 Paris.

5- Alton, G.G. (1987). Control of *Brucella melitensis* infection in sheep and goats. A review. Trop. Anim. Hlth. Prod., 19: 65-74.

6- صالح ، حارث محمد سليم (1999) ، التقييم المناعي للبروسلينات المنتجة محلياً في الاغنام المصابة بالبروسيلا والملقحة بلقاح Rev1 . رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري- جامعة بغداد .

7- Kolar, J. (1995). Some experience from brucellosis control with Rev. I Vaccine in heavily infected country. Mongolia . FAO/ WHO/ OIE round table on the use of Rev.1 Vaccine in small ruminants and cattle . CNEVA , AL-FORT , France . Pp: 77 – 81 .

8- Banai, M.; Abramson, M.; lern-Mayer; Chechik, K.; Hoida, G.; Zami, O.; Bardenstein, S.; Cohen, A. and Davidson, M. (1995). Problems associated with the persistence and possible horizontal transfer of *Brucella melitensis* Rev.1 Vaccine in connection with serological surveillance in Israel. FAO/WHO/OIE : Round table in the use of Rev.1 vaccine in small ruminants and other CNEVA Alfort, France, (1995) PP: 69-76.

9- Morgan, B. (1977). Immunization Discussion in bovine brucellosis Ed, by Crawford, R,P, and Hidalgo, R,J, texas A and M, press, coll PP: 224-225.
10- (PIM) Protocol Institute Merieux (1986). Vaccine against brucellosis for human use . Lyon.
11- Atlas, R.M. (1995). Principles of Microbiology. 1st Ed. University of Lonsvilli Kentucky, Mosbi, Yearbook Inc.: 648.
12- Joint FAO/WHO (1971). Expert committee on brucellosis. 5th report WHO Tech. Rep. Ser. No., 464, Geneva.
13- Alton, G.G.; Jones, L.M. and Pietz , D.II. (1975). "Laboratory Technique". 2nd Ed. Geneva WHO Monograph series No. 55 .
14- Nash, G.S.; Macdermott, R.P.; Schloemann, S.; Bertovich; O'Neal, J.; porter, L. and Kulczycki, A. (1990). Bovine IgG1. But not IgG2 bind to human B cells and inhibits Ab Secretion. Immunol., 69: 361-366 .
15- Quinn, P.J.; Carter M.E.; Markey, B. and Carter, C.R. (1998). "Clinical Veterinary Microbiology". Mosby, Spain. Pp: 156-169
16- Verger, J.M. (1995). Efficacy and Advantages of the Rev.1 conjunctival vaccine against *Br. melitensis* infection, as evaluated in standard controlled conditions FAO/ WHO/ OIE round table on the use of the Rev.1 vaccine in small ruminants and cattle. CNEVA, Alfort. France, PP. 19-25.
17- Blasco, J.M. (1997). A review of the ewes of *Brucella melitensis* Rev1 vaccine in adult sheep and goat. Rev. Vet. Med. 31: 275-283.
18- Squaricone, S.; Maggi, P.; Lo, C.; Gennaro, M. and Carbonara, S. (1990). A case of humsn brucellosis caused by accidental injection of animal vaccine. J. Ital. Med., 12(1): 25-26.
19- Blasco, J.M.; Moriyon, I.; Marin, C. and Diaz, R. (1985). Evaluation of radial immunodiffusion test for differentiation infection from Rev1 vaccinated sheep in : Verger, J.M. and Plommet, M. 1985 *Brucella melitensis* a seminar in the CEC program of coordination of research on animal pathology, Martinez, Nijhof Publishers, Dordercht/ Boston / Lancaster. Pp: 147-154
20- Xie, X. (1986) orally administrated brucellosis vaccine, *Brucella swis* strain 2 vaccine. Vaccine, 4: 212 – 216.
21- Plackett, P.; Corner, L.A.; FiFis, T.; Radford, A.J. and Ripper, J.L. (1989). Discrimination between sheep antibodies to *Brucella melitensis* and to *Brucella ovis*. Vet. Microbiol., 20: 339-348 .
22- Bercovich, Z.; Haagsma, J. and Ter-Laak, E.A. (1990). Use of delayed-type hypersensitivity test to diagnose brucellosis in calves born to infected dams. Vet. Q., 12: 231-237.
23- حمزة، اسيل محمد (2003). دراسة مقارنة لكفاءة البروسلينات المحضرة محليا في الكشف عن مرض البروسيلوسز. رسالة ماجستير – كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.
24) Weintraub, A.; Larsson, B.E. and Lindberg, A.A. (1985). Chemical and immunochemical analysis of *Bacteroides fragilis* Lipopoly-saccharide. Infect. Immun., 49: 197-201.
25) Elberg, S.S. (1981). Rev 1 *Brucella melitensis* vaccine part II 1968–1980. Vet. Bull., 51 (2) : 67-73.
26) Bercovich, Z.; Eger, A.; Dekker, T. and Haagsma, J. (1995). Production of *Brucella* antigens and evaluation of their biological activity in guinea pigs. Bioassay J. Vet. Med. B., 42: 19-27.