دراسة جرثومية ومصلية عن داء البروسيلات في الجاموس في بغداد

سحر أحمد البياتي
قسم المختبرات والبحوث البيطرية / الشركة العامة للبيطرة / وزارة الزراعة

وامنة نعمة الثويني
معهد الهندسة الوراثية والتقنيات الاحيائية / فرع الهندسة الوراثية / جامعة بغداد

وسوسن عبد الستار السامرائي
قسم المختبرات والبحوث البيطرية / الشركة العامة للبيطرة / وزارة الزراعة

وابتسام عباس هاديقاسم
المختبرات والبحوث البيطرية / الشركة العامة للبيطرة / وزارة الزراعة

الخلاصة

لدراسة مدى انتشار داء البروسيلات في الجاموس في بغداد، جمعت 144 عينة دم من الجاموس أجرى على مصولها اختباري الروزبنكال Rose Bengal Plate Test (RBPT) والتلازن المصلي بالأنابيب Tube Agglutination Test (TAT)، كما تم فحص 44 عينة حليب باختبار حلقة الحليب Milk Ring Test (MRT). ولغرض عزل جراثيم البروسيلا وتحديد الأنواع والأنماط الحيوية المسببة للمرض في الجاموس تم اخذ عينات من 15 جنين جاموس مجهض. أما لمعرفة الأهمية الصحية للقيمر المحلي المصنع من حليب الجاموس كمسبب للمرض في الإنسان، فقد تم استخدام (76) عينة قيمر للزرع الجرثومي.

اظهرت نتائج الدراسة نسب إصابة بلغت 38.19% ، 29.86% و 20.45% لاختبارات RBPT , TAT و MRT على التوالي.

وجد ان جراثيم البروسيلا هي المسبب الرئيسي للاجهاض في الجاموس حيث بلغت نسبة العزل من الاجنة المجهضة 53.33%، وان جميع العزلات هي من نوع البروسيلا المجهضة، الأنماط الحيوية الثامن والثالث.

لم يظهر القيمر المحلي المصنع من حليب الجاموس أهمية كمصدر لعدوى الإنسان حيث لم يتم عزل جراثيم البروسيلا من جميع عينات القيمر المستخدمة.

BACTERIOLOGICAL & SEROLOGICAL STUDY OF BRUCELLOSIS IN BUFFALO IN BAGHDAD

S.A. Al-Bayatti*; A.N. Al-Thwani**; S.A. Al-ammaraie* and A.A. Haddi*

* Veterinary Laboratory and Researches Department, General Veterinery Company, Ministry of Agriculture.
** Genetic Engineering and Biotechnology Institute for Post Graduate Studies, University of Baghdad

Summary

To study the prevalence of brucellosis among buffalo in Baghdad, 144 serum samples were collected and tested serologically using Rose Bengal Plate Test (RBPT) and Tube Agglutination Test (TAT), also 44 milk samples tested by Milk Ring Test (MRT). For isolation and identification of Brucella species and behavior, 15 buffalo aborted fetuses were used. And for evaluation of the health hazzard caused by the consumption of the locally manufactured cream from the milk of buffalo, 76 cream samples were used for cultivation.

The results of the RBPT, TAT and MRT revealed the prevalence of the disease in the percentages (38.19%, 29.86% and 20.45%) respectively.

It was found that Brucella abortus was the main cause of abortion in the buffalo (53.33%). There biotypes were the 8^{th} and 3^{rd}.

The cream samples manufactured from the milk of buffalo doesn't show health hazzard as a cause of brucellosis in human, because it didn't revealed any Brucella isolates in all samples used.

المقدمــة

يعد داء البروسيلات من الأمراض الخطيرة التي تصيب معظم الفقريات بما فيها الإنسان، إذ يؤثر على فعاليته ونشاطه وقد يسبب له مضاعفات خطيرة وذلك للقابلية العالية للجرثومة المسببة له على اختراق أنسجة الجسم والانتشار في أغلب أعضاءه. هذا فضلاً عن الخسائر الاقتصادية التي يسببها والتي تتمثل في قلة إنتاجية الحيوانات المصابة والاجهاض في الإناث الحوامل إضافة للمبالغ التي تصرف على العلاج وعلى برامج الوقاية والسيطرة على المرض. ومن الحيوانات المعرضة للإصابة بالمرض والمهمة اقتصادياً الجاموس، والتي تعد من أهم مصادر اللحوم والألبان.

مسبب المرض جرثومه من جنس البروسيلا,الانواع والانماط الحيويه العائدة لجنس البروسيلا ممكن ان تصيب فضلا عن الانسان مدى واسع من المضائف الحيوانيه بما فيها الابقار والجاموس والاغنام والماعز والخنازير والكلاب والغزلان وحتى اللبائن البحريه (1) . جنس البروسيلا يضم ستة انواع وهذه الانواع وجدت بحسب الدراسات الجينيه الجزيئيه (Molcular Genetics) وبحسب خصائصها الكيموحيويه بأنها في الآصل نوع واحد لذا أقترح Verger وجماعته (2) بأن تسمى كنوع واحد هو البروسيلا المالطيه وبقية الأنواع تكون كأنماط حيويه ضمن هذا النوع , لكن Corbel [3] فضل بقاء التسميه التقليديه للأنها اكثر وضوح .

تم القضاء على المرض في كثير من دول العالم لكنه لايزال يمثل مشكله كبرى في دول حوض البحر الآبيض المتوسط والخليج العربي وغرب اسيا وأجزاء من أفريقيا وأمريكا اللاتينيه[3] .

لوحظ إصابة الجاموس بالمرض في أرجاء مختلفة من العالم وفي نمط مشابه لإصابة الأبقار في تلك المناطق، حيث ان البروسيلا المجهضة هي السائدة، كما ان النمط الحيوي السائد في الابقار في كل منطقة يكون غالباً هو السائد في الجاموس أيضاً مثال على ذلك نلاحظ ان البروسيلا المجهضة النمط الحيوي الثالث هو السائد في جاموس منطقة شرق حوض البحر الأبيض المتوسط [4].

تعد مصر من أبرز الدول التي تربي الجاموس في الوطن العربي وقد تم تشخيص أصابة الجاموس فيها بالبروسيلا منذ سنة 1939 وكانت نسبة الاصابه أنذاك8% [5] وأخذت النسبه تنخفض حتى وصلت الى 0.1% بفضل برامج السيطرة والتلقيح المدعمة من قبل الامم المتحدة [6] وحاليا يكاد ان يتم القضاء على المرض في الجاموس بينما لاتزال هناك نسبة اصابة تبلغ 1% في الاغنام واقل منها في الابقار [5] .

أما بالنسبة للعراق فقد أجريت بعض الدراسات المصلية لمعرفة مدى انتشار داء البروسيلات في الجاموس في بغداد وبعض محافظات القطر المعروفة بتربية الجاموس، ففي بغداد ومن خلال دراسة في وبائية داء البروسيلات في بعض الحيوانات الإنتاجية ومنها الجاموس وجد ان نسبة انتشار المرض في الجاموس بلغت 18.8% و 12.72% حسب RBPT و TATعلى التوالي [7]، أما في محافظات وسط وجنوب العراق فقد بلغت نسبة الإصابة في الجاموس (7.2% ، 4.9% ، 8.3% ، 11.1%) حسب اختبارات RBPT, TAT ، تثبيت المتمم (CFT)وMRT على التوالي [8]، يظهر من خلال تلك الدراسات ان المرض منتشر بين الجاموس .ونظراً لأهمية المرض وأثره من الناحيتين الصحية والاقتصادية جاءت هذه الدراسة والتي استهدفت:

1-عزل وتحديد الأنواع والأنماط الحيوية لجرثومة البروسيلا المسببة لداء البروسيلات في الجاموس في بغداد.

2-التعرف على نسبة إصابة الجاموس في بغداد باستخدام بعض الطرق المصلية.

3-التعرف على الأهمية الصحية للقيمر المحلي المصنع من حليب الجاموس كمسبب للمرض في الإنسان.

المواد وطرائق العمل

أ- عينات الأجنة المجهضة

تم أخذ عينات (Specimens) من أحشاء 15 جنين مجهض جمعت اغلبها من منطقة الفضيلية ومن التي تم ورودها الى قسم المختبرات والبحوث البيطرية وكالآتي الرئة، الكبد، الطحال، سائل المعدة ومن ثم تم زراعة أجزاء منها على وسط اكار البروسيلا مباشرة ومرتين، مرة حضن هوائياً وأخرى بوجود 5- 10% CO_2. تم متابعة النمو على الأوساط الزرعية والمستعمرات المشكوك بها (صفاتها المظهرية

مشابهة لصفات جراثيم البروسيلا) خضعت للفحوصات الكيميا حيوية للتأكد من كونها مستعمرات بروسيلا، بعد التأكد من كونها تنتمي إلى جنس البروسيلا ثم إخضاعها إلى اختبارات التصنيف لمعرفة النوع والنمط الحيوي والتي تشمل:

1-إنتاج H_2S.

2-احتياج CO_2.

3-التلازن مع المصل أحادي الخاصية M أو A.

4-اختبار النمو على الأوساط الحاوية على الصبغات المثبطة للنمو البكتيري (الثايونين والفوكسين القاعدي) حسب المصدر [9].

5-التحلل العاثي، تم إجراءه في معهد المصول واللقاح وحسب الطريقة الموصوفة في المصدر [10].

ب- عينات الدم

تم جمع144 عينة دم بصورة عشوائية(صادف أن خمسة منها كانت لجاموس مجهض) ومن مناطق ضواحي بغداد المعروفة بتربية الجاموس مثل الفضيلية وقرية الذهب الابيض، سحب الدم عن طريق الوريد الوداجي باستخدام أنابيب مفرغة من الهواء وأجري على مصولها اختبار الروزبنكال، والعينات التي كانت موجبة في اختبار الروزبنكال أجري عليها اختبار التلازن الانبوبي، حسب الطريقة الأوربية الموصوفة في المصدر [9]

جـ- عينات الحليب

تم جمع 44 عينة حليب من منطقة الفضيلية تحت ظروف معقمة، وقد أجري عليها اختبار حلقة الحليب بعد حفظ العينات في الثلاجة بدرجة 4^oم لمدة 24 ساعة، وبعد ان تركت في جو المختبر لمدة ساعة قبل إجراء الاختبار، تم إجراء الاختبار وقراءة النتيجة حسب الطريقة الموصوفة في المصدر [11].

د- عينات القيمر

جمعت من الأسواق المحلية ومن مربي الجاموس مباشرة وقد تم استخدامها للاستنبات المباشر على وسط اكار البروسيلا.

النتائج والمناقشة

أولاً: نتائج الزرع الجرثومي

اسفر الزرع الجرثومي للأجنة المجهضة عن عزل جراثيم البروسيلا من ثمانية اجنة من مجموع خمسة عشر جنين مجهض وبنسبة عزل بلغت 53.33%(جدول 1) وكانت جميع هذه العزلات من نوع البروسيلا المجهضة ستة من النمط الحيوي الثامن واثنان من النمط الحيوي الثالث. جدول 2 ان نسبة العزل العالية من الأجنة المجهضة وكون جميع العزلات تعود إلى البروسيلا المجهضة قد يكون بسبب أنتقال العدوى من الابقار الى الجاموس الذي غالبا مايربى في منطقة واحدة اوحتى في حضائر مشتركة

وقد لوحظ من قبل أن النوع والنمط الحيوي الذي يكون سائد في الابقار يكون غالبا هو السائد في الجاموس ايضا[4]. ومما زاد علية طبيعة عيش الجاموس الاجتماعية، حيث يعيش على شكل قطعان وهذه القطعان غالباً ما تكون محصورة داخل حضائر صغيرة وفي ظروف غير صحية حيث لا يتم عزل الجاموسة المجهضة، مما يساعد في انتشار وتوطن المرض في تلك القطعان ونقله إلى بقية قطعان المنطقة عندما يتم توريد القطعان إلى المناطق المائية والتي غالباً ما تكون على شكل حفر فيها ماء راكد، ويتم توريد قطعان المنطقة عليها بالتناوب (حيث ان الجاموس يحب الغطس لفترات طويلة في الماء) أو حتى عندما يتم جمع القطعان في مناطق محددة من سواقي أو أنهار صغيرة جارية، حيث ان جمع القطعان في أماكن محددة يسهل انتقال الجرثومة من قطيع إلى آخر. وعموماً فان هذه النسبة مقاربة للنسبة في الأبقار المجهضة، حيث في دراسة عن الأسباب الجرثومية لـ 144 حالة إجهاض في الأبقار وجد الشمري [12] ان نسبة 43% منها كان بسبب داء البروسيلات. وهي أقل من نسبة عزل الجرثومة من ذبائح الأبقار والبالغة 24.6% في الدراسة التي أجريت من قبل محمد [13] ان الباحث المشار إليه قد جمع عيناته من المجازر التي تذبح الثيران صغيرة العمر غالباً والتي تكون نسبة الإصابة فيها أقل.

ان البروسيلا المجهضة هو النوع السائد على بقية أنواع البروسيلا ليس في الجاموس فقط وإنما وجد من خلال عدد من الدراسات التي أجريت في العراق انه هو النوع السائد في الأبقار والأبل وحتى الأغنام [14,15,13]. وهذا يتفق مع كون البروسيلا المجهضة هي الأكثر أنتشارا من بين الأنواع الآخرى لجنس البروسيلا كمسبب للمرض, بينما البروسيلا المالطية أكثر وضوح لأنها تسبب اعراض أكثر حدة [3].

وبالنقيض من نسبة العزل العالية من الأجنة المجهضة، لم يتم عزل جراثيم البروسيلا من جميع عينات القيمر الـ 76 المستخدمة،(جدول1) والسبب في ذلك قد يعود إلى ان فرز الجرثومة في الحليب لا يكون مصاحباً لكل حالات المرض. لكن غالباً ما يكون مرتبط بتموضع الجرثومة في العقد اللمفاوية الموجودة فوق الضرع، كما ان طريقة تحضير القيمر والتي تتطلب غلي الحليب قد يكون العامل الحاسم في القضاء على الجرثومة. وهذا يتفق مع الدراسة التي أجريت من قبل شنشل [16] والتي لم تتمكن خلالها من عزل جراثيم البروسيلا في الـ 100 نموذج للقشدة المحلية رغم انها عزلت الجرثومة من الحليب الخام والجبن والايس كريم.

ثانياً: نتائج الفحوصات المصلية واختبار حلقة الحليب

أظهرت النتائج نسب إصابة مرتفعة بلغت 38.19% ، 29.86% و 20.45% لاختبارات الروزبنكال، التلازن المصلي بالأنابيب وحلقة الحليب على التوالي، كما موضحة في الجداول 5,4,3 ان النسب المسجلة من خلال هذه الدراسة هي أعلى من النسب المسجلة من قبل عبد الحسن [8] والبالغة 7.2% ، 4.9% و 11.1% لنفس الاختبارات أعلاه، والسبب في ذلك قد يعود إلى ان الباحث المشار إليه قد جمع عيناته من المحافظات التي تربي الجاموس في أماكن مفتوحة وفي بيئات مائية واسعة بالإضافة إلى

بغداد. كما انها أعلى من النسب المسجلة من قبل الثويني وآخرون [7] والبالغة 18.18% و 12.72% لاختباري الروزبنكال والتلازن المصلي بالأنابيب على التوالي. ان ارتفاع نسب الإصابة متوقعة لمضي فترة على الدراسة السابقة في ظل غياب برامج السيطرة على المرض أو حتى علاج الحالات المصابة.

جدول 1 نتائج العزل الجرثومي

ت	نوع العينة	عدد العينات الكلي	عدد العينات الموجبة العزل	النسبة المئوية للعزل %
1	الأجنة المجهضة	15	8	53.33
2	القيمر المحلي	76	0	0

جدول 2 النوع والنمط الحيوي لجراثيم البروسيلا المعزلة

ت	نوع جراثيم البروسيلا المعزولة	النمط الحيوي	عدد العزلات	النسبة المئوية %
1	B. abortus	الثامن	6	75
2	B. abortus	الثالث	2	25

جدول3 نتائج اختبار RBPT

العدد الكلي للعينات	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	النسبة المئوية للإصابة %
144	**55**	**89**	**38.19**

جدول 4 نتائج اختبار TAT

العدد الكلي للعينات	≤ 80 وحدة دولية/مل مصل(الموجبة)	> 80 وحدة دولية/مل مصل(السالبة)	النسبة المئوية للإصابة %
144	43	101	29.86

* تم اعتبار عينات الدم التي يحتوي مصولها أجسام مضادة 80 وحدة دولية/مل مصل فأكثر موجبة حسب المصدر [9].

جدول5 نتائج اختبار حلقة الحليب (MRT)

العدد الكلي للعينات	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	النسبة المئوية للإصابة %
44	9	35	20.45

المصادر

1-Newby,D.T. ;Hadfield,T.L. and Roberto,F.F.(2003):Real-TimePCR Detection of Brucella abortus ,a Comparative study of SYBR Green 1,5`-Exonuclease, and Hybridization Probe Assy.J.of Appl Environ Microbiol , 69 (8):4753-4759.

2- Verger,J.;Grimont,F.;Grimont,P.; and Grayon,M. (1985): Brucella, amonospecific genus as shown by deoxyribonucleic acid hybridization. Int. J.Syst. Bacteriol. 35:292-295.

3-Corbel, M.J.(1997):Brucellosis: an overview.Emerg. Infect. Dis. 3:213-221.

4- Joint FAO/WHO (1986): Expert Committee on Brucellosis 6th Report WHO, Tech. Rep. Series 740.

5- عبد القادر,حسين علي (2002):بروسيلا. . . المرض الصعب بين الأنسان والحيوان. مجلة أسيوط للدراسات البيئية.العدد (23)

6-FAO,(1994):Zoonotic diseases in the near east region. Food and Agr. Org. of the United Nations. Regional office for the Near East, Cairo.

7-الثويني، آمنة نعمة؛ البياتي، سحر أحمد؛ ابتسام عباس وذكرى عبد الحسين (2000): دراسة في وبائية داء البروسيلات في بعض الحيوانات الإنتاجية في محافظة بغداد. مجلة الطبيب البيطري، مجلد (10)، العدد (1).

8- عبد الحسن، عماد جعفر (2002): دراسة مصلية لتشخيص داء البروسيلات في الجاموس في

محافظات وسط وجنوب العراق – رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

9-Alton, G.G.; Jones, L.M. and Pietz, D.E. (1975): Laboratory techniques in brucellosis 2nd Ed. Geneva. Monograph Series No.55.

10-Alton, G.G.; Jones, L.M.; Angus, R.D. and Verger, J.M. (1988): Techniques for the brucellosis laboratory Isted. INRA. Paris.

11-Morgan, W.J.; Makinnon, D.J.; Gill, K.P.; Gower, S.G. and Norris, P.I. (1978): Standard Laboratory Techniques for the diagnosis of brucellosis. 2nd Ed. Central Vet. Lab. New How. Weyberidge, UK.

12-الشمري، محمود فرحان عاشور (1990): دراسة حول المسببات البكتيرية للإجهاض في الأبقار – رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.

13-محمد، نجاح علي (1997): الأهمية الصحية لجرثومة البروسيلا المجهضة Brucella abortus في لحوم الأبقار. رسالة ماجستير مقدمة إلى فرع الأحياء المجهرية في كلية التربية – جامعة القادسية.

14–البياتي، سحر أحمد؛ مكاوي، طالب عبد الأمير؛ علي، نجلاء كاظم محمد؛ علاوي وايمان عبد الرضا (2005): التغيرات النسيجية المرضية لأجنة أغنام مجهضة لإصابتها بجرثومة البروسيلا. مجلة الزراعة العراقية، مجلد (10) العدد (2).

15-علي، سحر أحمد عبد الحسين (1998): دراسة جرثومية ومصلية عن داء البروسيلات في الأبل في العراق – رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية الطب البيطري. جامعة بغداد.

16-شنشل، ريم زهير شاكر (1999): دراسة في مدى انتشار داء البروسيلات في بعض مناطق بغداد – رسالة ماجستير مقدمة إلى كلية الطب البيطري – جامعة بغداد.