Faculty of Vet. Med., AL Baath University, Syria.

SEROLOGICAL STUDY ON BRUCELLOSIS OF SHEEP IN SOUTH SYRIA

(With 5 Tables)

By

S. AL-RHMOON and Y. ALYASINO

(Received at 3/4/2010)

دراسة مصلية لمرض البروسيلا في الأغنام بجنوب سوريا

سلطان الرحمون ، ياسين الياسينو

تم جمع 1115 عينة مصل دم أغنام وذلك بشكل عشوائي من القطعان المنتشرة في جنوب سورية وذلك حسب كثافة التربية حيث شملت 4 محافظات تغطي المنطقة الجنوبية من سورية وكانت على الشكل الآتي : ريف دمشق – القنيطرة – درعا - السويداء. وتم إجراء الاختبارات المصلية التشخيصية المعتمدة للكشف عن الأجسام المضادة للبروسيلا في الأغنام حيث تبين أن 54 عينة أعطت تفاعلاً إيجابياً لاختبار التراص السريع(RBT) وكانت نسبة الانتشار الكلي(4.84%). بينما أعطت 46 عينة تفاعلاً إيجابياً باستخدام اختبار تثبيت المتممة(CFT) والذي يعتبر الاختبار الأهم والتأكيدي للكشف عن الأجسام المضادة للبروسيلا وكانت نسبة الانتشار الكلي (4.12 %)، وقد تمت مناقشة النتائج وفقاً لمعطيات الدراسة وبالتالي محاولة إيجاد مراقبة ناجحة لوضع خطة لمكافحة المرض والسيطرة عليه.

SUMMARY

One thousand one hundred fifteen sheep blood serum samples have been collected arbitrary from the prevailed herds in South Syria and that is according to the breeding density which covered 4 Provinces as following: Damascus, Quoneitra, Daraa and Sueida. Diagnostic serological tests were performed to detect the brucellosis antibodies which showed that 54 samples were positive for Fast agglutination test and the entire prevalence rate was (4.84%). Whereas 46 samples were positive for the Complement Fixation Test which is considered the most important test to assure the existence of brucellosis antibodies, and the entire rate was (4.12%). These results were discussed according to the study data with a trial to find successful monitoring in order to put a plan to control and eradicate this disease.

Key words: مرض البروسيلا ، الأغنام ، اختبار الروزبنغال ، اختبار تثبيت المتممه

INTRODUCTION
المقدمة

تعتبر منظمة الصحة العالمية WHO ومنظمة الأغذية والزراعةFAO ومكتب الأوبئة الدولي OIE أن مرض البروسيلا أكثر الأمراض المشتركة انتشاراً في العالم (Anonymous 2007; Pappas *et al*., 2006) ، ويصنف هذا المرض تحت قائمة مجموعة الأمراض B حسب تصنيف مكتب الأوبئة الدولي (OIE, 2000).

ويعتبرهذا المرض مستوطناً في معظم بلدان الشرق الأوسط وأجزاء من أفريقيا وأوروبا وأمريكا اللاتينية ، ونوع البروسيلا التي تصيب الأغنام تسبب خسائر اقتصادية كبيرة لدى المزارعين كما تشكل خطراً كبيراً على صحة الإنسان (Corbel,1997).

وتعود أهميته لأثره الاقتصادي على الثروة الحيوانية والخسائر الاقتصادية من إجهاضات ، وانخفاض في إنتاج الحليب، والعقم، وتكلفة المعالجة والرعاية، وخطورته العالية التي يمثلها على صحة الإنسان من خلال التماس المباشر مع الحيوانات المصابة أو التعامل مع منتجات الحليب والألبان الملوثة (Garin-Bastuji, *et al*,. 1998 ; Corbel, 1997).

اكتشف David Bruce مرض البروسيلا أول مرة في العالم في عام 1887 وذلك في جزيرة مالطة حيث تم عزل البكتيريا من طحال جندي كان مصاباً بالحمى وأطلق على هذه البكتيريا اسم Micrococcus melitensis ولم يستطيع أحد أن يحدد سبب العدوى وطرق انتقاله حتى عام 1905 حيث شكل بروس فريق بحثه الذي اكتشف أن العدوى تنتقل عند تناول حليب الأغنام والماعز الطازجة (Rhman, *et al*., 2006).

وقد ذكر Refai (2002) أنواع البروسيلا التي تصيب الأغنام والماعز بشكل رئيسي وهي البروسيلا المالطية Brucella melitensis ولها ثلاثة أنماط حيوية والبروسيلا الضأنية Brucella ovis وذكر Alton *et al*. (1988) , Erdenlig (2000) أن جراثيم البروسيلا سلبية الغرام ، مكورة على شكل عصيات حمراء ذات نهاية مدورة عند تلوينها بصبغة غرام أو صبغة ستامب أو زيل نيلسون المعدلة، وهي جراثيم غير متحركة ، وغير متبوغة ، وليس لها محفظة ، وبطيئة النمو على المنابت، وتحتاج بعض العترات إلى وسط من غاز ثاني أوكسيد الكربون بين (10%- 5%) وتحتاج إلى درجة حضانة (37م) لنموها، ودرجة حموضة (PH=6.6-7.4) ، كما أضاف Blasco *et al*. (1994) أنها تحتاج إلى منابت نوعية يضاف لها الفيتامينات والمصل والديكستروز لكي تنمو مستعمراتها بعد 3-4 أيام من زرعها على وسطBrucella agar وتكون المستعمرات صغيرة – دائرية – ملساء، وتكون خشنة بالنسبة للبروسيله الضأنية. كما أضاف Alton *et al*. (1988) من الصفات البيوكيميائية للبروسيله أنها إيجابية للكاتالاز، إيجابية للأوكسيداز، إيجابية لليورياز، مرجعة للنترات، ومؤكسدة للحموض الأمينية.

ويتميز المرض عند الأغنام بالتهابات في الأعضاء التناسلية وحدوث الإجهاض و ضعف في الإخصاب ويسبب عند الكباش التهاب في الخصية والبربخ وحدوث عدم إخصاب (Blasco, 1992)وغالباً يسير المرض بدون أعراض عند الأغنام عدا حالات الإجهاض التي تحدث في الثلث الأخير من الحمل، كما أنه يمكن مشاهدة ولادات مبكرة والتهابات رحمي ـة عند الأغنام المصابة وقد يحدث التهابات ضرع تحت سريريـة (Corbel *et al*., 1978) وقد تم الكشف عن مرض البروسيلا عند الأغنام في سوريـة لأول م ـرة عام 1982 (Darwish and Ben kiraney, 2001).

أجريت عدة أبحاث ودراسات للكشف عن مرض البروسيلا في سورية وتحديد نسبة الانتشار للمرض، ولكن أكثر ما يميز هذه الأبحاث أنها تركزت على قطعان الأبقار ومحطات التربية الحكومية بينما أغفلت قطعان الأغنام التي تعتبر من روافد الاقتصاد الوطني حيث أشارت بعض الأبحاث أن نسبة الانتشار الكلي عند الأبقار 5.6% (التركاوي، 2004)، وأظهرت دراسة أخرى في سورية أن نسبة انتشار المرض لدى الأبقار عام 1989 كانت 2.86% (البشعان 1991).

وأشار الباحثان Darwish and Ben kiraney (2001) أن نسبة انتشار المرض تراوحت بين (2.59-17.48%) وذلك حسب نتائج المسح الذي أجرياه عام 1996 في محافظة دمشق، بينما أشارت منظمة الفاو أن نسبة الانتشار الكلي للمرض في سورية 5.95%(FAO,2001).

هدف البحث Objectives of the Study:

1 - معرفة مستوى الانتشار المصلي للبروسيلا عند الأغنام في المنطقة الجنوبية من سورية.

2 - وضع التوصيات الخاصة ببرامج التحكم والسيطرة على المرض وإمكانية إيجاد الحلول المناسبة.

MATERIALS and METHOD
مواد وطرائق البحث

جمع العينات:

أجريت هذه الدراسة في المنطقة الجنوبية من سورية حيث شملت أربعة محافظات رئيسية تغطي هذا الجزء من سورية.

حيث تم جمع عينات دم أغنام ناضجة جنسياً من الوريد الوداجي وكان عددها (1115) عينة جمعت عشوائياً بأنابيب دم معقمة ومفرغة من الهواء سعة 5-10 مل وتم نقلها ضمن حوامل بشكل مبرد وبعد وصول العينات إلى المخبر تم تثفيلها مباشرةً بواسطة مثفلة بسرعة دوران 3000 دورة /د ومن ثم فصل المصل وتعبئته بأنابيب أبندروف لإجراء الاختبارات اللازمة وحفظه على درجة حرارة –20ْم.

جدول رقم (1): يوضح عدد العينات التي تم جمعها من المحافظات المدروسة

المحافظة	نعاج	كباش	المجموع
ريف دمشق	317	15	332
القنيطرة	218	14	232
درعا	209	20	229
السويداء	305	17	322

طرق التحليل المصلي:

بعد الحصول على المصل وتعبئته في أنابيب أبندروف تم إجراء أهم الاختبارات المصلية الكلاسيكية المعتمدة والمسجلة لتشخيص البروسيلا حسب مكتب الأوبئة الدولي (OIE,2000):

1 - تفاعل روز البنغالRose Bengal (RBT) ويستخدم للكشف السريع عن الإصابة في العينة المدروسة حيث يكشف IgM فقط.

2 - تفاعل تثبيت المتممة Complement Fixation test (CFT): ويكشف عن وجود IgG في المصل المدروس ويعتبر هذا التفاعل بالإضافة إلى تفاعل روز البنغال الأكثر حساسية ونوعية بين الاختبارات المصلية الكلاسيكية Blasco *et al.* (1994).

حيث تم فحص (1115) عينة مصل دم باستخدام اختبار التراص السريع (RBT) والعينات التي أعطت تفاعلاً ايجابياً تم إعادة فحصها بإجراء اختبار تثبيت المتممة (CFT) حيث تم اعتبار النتيجة ايجابية من التمديد 10/1 فما فوق حسب Lennette and Alton *et al.* (1988), Schmidt (1979).

التحليل الإحصائي:

تم إجراء التحليل الإحصائي لنتائج الدراسة باستخدام اختبار بيرسون مربع كاي (Pearson's Chi Square) لمقارنة الانتشار المصلي للبروسيلا بين مناطق الدراسة وتم استخدام برنامج التحليل الإحصائي الأمريكي (Analytical Software, 2000) النسخة الثالثة.

RESULTS
النتائج

أظهرت النتائج المسحية التي اعتمدت على اختبار التراص السريع (RBT) على وجود (54) عينة أعطت تفاعلاً إيجابياً من أصل (1115) عينة مفحوصة وبنسبة انتشار كلي (4.84%) ، بينما انخفض عدد الحالات التي أعطت تفاعلاً إيجابياً وبشكل ملحوظ باستخدام اختبار تثبيت المتممة (CFT) حيث تبين أن هناك (46) عينة إيجابية من أصل (1115) عينة مفحوصة وبنسبة انتشار كلي (4.12%) كما يتضح في الجدول رقم (2).

جدول (2): نسبة الانتشار المصلي في المحافظات المدروسة بجنوب سوريا اعتماداً على اختباري RBT, CFT.

المحافظة	عدد العينات المفحوصة	RBT		CFT	
		عدد الحالات الإيجابية	نسبة الانتشار%	عدد الحالات الإيجابية	نسبة الانتشار%
ريف دمشق	332	21	6.32	19	5.72
القنيطرة	232	9	3.87	6	2.58
درعا	229	11	4.80	10	4.36
السويداء	322	13	4.03	11	3.41
المجموع الكلي	1115	54	4.84	46	4.12

وأظهرت النتائج المسحية للعينات المدروسة بعد إجراء اختبار تثبيت المتممة (CFT) على النعاج أن(45) عينة أعطت تفاعلاً ايجابياً من أصل (1049) عينة مفحوصة وبنسبة انتشار

(4.28 %)، بينما (1) عينة واحدة فقط من الكباش أعطت تفاعلاً ايجابياً من أصل (66)عينة مفحوصة وبنسبة انتشار (1.51 %) كما يتضح في الجدول رقم (3).

جدول (3): نسبة الانتشار المصلي في النعاج والكباش اعتماداً على اختبار CFT

الجنس	عدد العينات المفحوصة	الحالات الايجابية	نسبة الانتشار%
نعاج	1049	45	4.28
كباش	66	1	1.51
المجموع الكلي	1115	46	4.12

وعند إجراء اختبار تثبيت المتممة على عينات الأغنام المجهضة تبين أن (7)عينات أعطت تفاعلاً ايجابياً من أصل (27) عينة أغنام مجهضة مفحوصة وبنسبة انتشار كلي (25.92%) كما يتضح في الجدول رقم (4).

جدول (4): نسبة الانتشار المصلي في النعاج المجهضة وغير المجهضة اعتماداً على اختبار تثبيت المتممة CFT

الإجهاض	عدد العينات	الحالات الايجابية	نسبة الانتشار %
أغنام مجهضة	27	7	25.92
أغنام غير مجهضة	1022	38	3.71
المجموع الكلي	1049	45	4.28

وتم دراسة حد الثقة 95% لنسب الانتشار المصلي والخطأ المعياري بين المحافظات المدروسة كما يتضح من خلال الجدول رقم (5)

جدول (5): حد الثقة 95 % لنسبة الانتشار المصلي والخطأ المعياري بين المحافظات المدرسة

المحافظات والمناطق	حدود الثقة الأدنى والأعلى مابين	الخطأ المعياري
السويداء	0.0539-0.0143	0.0101138
درعا	0.0700-0.0171	0.0134941
القنيطرة	0.0462-0.0054	0.0104085
ريف دمشق	0.0821-0.0323	0.0127449

DISCUSSION
المناقشة

مازال مرض البروسيلا من أخطر الأمراض على صحة الإنسان والتي تسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الأغنام والماعز والحيوانات الأخرى (Pappas *et al.*, 2006).

وأكدت هذه الدراسة على ايجابية المرض عند الأغنام في المحافظات الجنوبية من سورية، واعتماداً على اختبار تثبيت المتممة تراوحت نسبة الانتشار المصلي بين (2.58%-5.72%) وبنسبة انتشار كلي (4.12%) وهذا أقل من النتائج التي أو ردتها منظمة الصحة والغذاء في سورية عام 2001 وهي 5.95%(FAO,2001). وهذه النسبة أقل بقليل من نسبة انتشار المرض عند الأغنام في مصر 4.8% (Samaha *et al.*, 2008).

والنسبة التي توصلنا لها في المنطقة الجنوبية من سوريا أعلى من النسبة التي توصل إليها الباحث الرفاعي في الجزائر (2.18 %) في البحث الذي أجراه على الانتشار المصلي عند الأغنام في عام 2000 (Refai, 2000). كما لم تتوافق نسبة الانتشار في بحثنا حيث كانت أقل من النسبة التي توصل إليها الباحث مميش (6.5%) عند الأغنام و(9.7 %) عند الماعز في البحث الذي أجراه عام 2001 في المملكة العربية السعودية (Memish , 2001).

ونسبة الانتشار في هذه الدراسة لا تتوافق مع Darwish and Ben kiraney (2001) حيث كانت نسبة الانتشار الكلي عند الأغنام والماعز في سورية (2.94%) في الدراسة التي أجرياها بين 1990- 1996، وكان حجم العينات التي تم جمعها 166عينة أغنام وماعز معاً.

وكانت هناك فروق معنوية واضحة مابين ريف دمشق والقنيطرة حيث كانت قيمة P < 0.001 ، وهناك فروق معنوية متوسطة مابين ريف دمشق وكلاً من السويداء ودرعا حيث كانت قيمة 0.001 < P < 0.05 ، بينما كان هناك فروق معنوية بسيطة مابين القنيطرة و كلاً من السويداء ودرعا حيث كانت قيمة P< 0.05 ، ولم يكن هناك فروق معنوية مابين السويداء ودرعا حيث كانت قيمة P > 0.05.

وكانت نسبة الانتشار المصلي عند الإناث (4.28%) تزداد عما هي عند الذكور(1.51%) وهذا قد يدل على أن الإناث أكثر قابلية للإصابة ، وكانت هناك فروق معنوية واضحة في نتائج الانتشار المصلي بين الذكور والإناث وهذه النتيجة تتوافق مع ما ذكره Hussein *et al.* (2005) حيث أشار أن نسبة الإصابة بداء البروسيلا تكون في الإناث أعلى مما هي في الذكور ، كما يوافق ما توصل إليه Gulaand and Kahan (2007) من أن نسبة الاصابة عند الاناث أعلى مما هي عند الذكور ، وقد يعزى السبب إلى زيادة سكر الأريتريتول في رحم الإناث الحوامل مقارنة مع مستوياته في أعضاء الجهاز التناسلي الذكري مما يجعله عاملاً مساعداً لتكاثر الجراثيم المسببة للمرض بشكل أكبر في الإناث عما هو عليه في الذكور (Charanjeet, 2004) ، ولا تتوافق هذه النتيجة مع ما توصل إليه (Cadmus, *et al.* 2006) حيث لم يجد فروق معنوية في نسبة انتشار المرض بين الكباش والأغنام في نيجيريا.

بينما نجد أن هناك فروق معنوية واضحة في نسبة انتشار المرض عند الأغنام المجهضة (25.92%) وبزيادة (7) مرات تقريباً عما هي عند الأغنام غير المجهضة (3.71%) ، وهذا يدل على تزامن المرض مع حدوث الإجهاض ، وهذه النتيجة لا توافق النسبة التي توصل إليها الباحثان Darwish and Ben kiraney (2001) وكانت (19.09%) في الدراسة التي أجرياها بين عامي 1990- 1996 ويعود ذلك أن البحث قد شمل الأغنام والماعز المجهضة معاً وبنسبة انتشار تراوحت بين (6.25%-56%).

CONCLUSIONS
الاستنتاجات

بناءً على هذه الدراسة والتي تؤكد على ايجابية مرض البروسيلا في قطعان الأغنام في محافظات المنطقة الجنوبية من سورية وبنسبة مرتفعة (4.12%) مقارنة مع الدول الاسكندنافية التي وصلت إلى استئصال المرض فإننا نوصي بالآتي:

إجراء مسوحات مستمرة لعينات عشوائية من الأغنام والكباش في المحافظات الجنوبية لإعطاء صورة واضحة وبشكل مستمر عن المرض.

ضرورة اعتماد برنامج ناجح للتحكم والسيطرة على المرض ، وتقييم البرنامج المتبع في وزارة الزراعة بتلقيح الأغنام بلقاح العترة Rev 1 والمستمر منذ فترة طويلة.

ضرورة التخلص الصحي من الحيوانات التي تعطي نتائج ايجابية حتى لا تبقى مصدراً لانتشار المرض لاسيما أن أعدادها لا يشكل عبء اقتصادي كبير.

REFERENCES
المراجع

المراجع الأجنبية:

Alton, G.G.; Jones, L.M.; Angus, R.D. and Verger, J.M. (1988): Techniques for brucellosis laboratory. Institute National De La Recherche Agronomique, Paris, pp. 123-130.

Analytical Software (2000): Statistix, Version for windows 4.0, USA.

Anonymous. (2007): FAO, WHO, OIE, Guidelines for a Regional Brucellosis Control Programme for the Middle East.Prepared at the Workshop Of Amman, Jordan 14-17 February 1993, by Drs. Mustafa and Nicoletti, FAO Consultants, Amended at the Round-Table of Maisons-Alfort, France 21-22 September 1995.

Blasco, J.M. (1992): Diagnosis of Brucella melitensis infection small ruminants. In: Prevention of brucellosis in Mediterranean countries, ed. Plommet M, pp. 272-278. Pudoc Scientific, Wage- ningen The Netherlands.

Blasco, J.M.; Garin-Bastuji, B.; M.C.M.; Gerbier, G.; Fanlo, J.; Jimenez De Bagues, M.P. and CAU, C. (1994): Efficacy of different rose Bengal and complement fixation antigens for the diagnosis of brucella melitensis infection in sheep and goats. Vet. Rec., 134: 415-420.

Cadmus, S.I.B.; Ijagbone, I.F.; Oputa, H.E.; Adesokan, H.K. and Stack, J.A. (2006): Serological Survey of Brucellosis in Livestock Animals and Workers In Abadan, Nigeria. African Journal of Biomedical Research; 9: 163-168.

Charanjeet, MS.; Katoch, RC.; Prasenjeet, D.; Rajinider, K. (2004): Application of RBPT, SAT and Avidin – Biotin serum ELISA for detecting brucellosis among livestock in himachal Pradesh. Indian J comp Microbiol Immunol Infect Dis.; 25: 15-18.

Corbel, M.J.; Gill, K.P.W. and Thomas, E.L. (1978): Methods for the Identification of Brucella. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, UK, ADAS, RCV22.

Corbel, M.J. (1997): Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis.; 3: 213-21.

Darwish, M. and Benkirance, A. (2001): Fild Investigations of Brucellosis in cattle and small ruminants in Syria, 1990-1996, Sci. teah. off. int. Epiz, 20(3), 769-775.

Erdenlig, S. and Sen, A. (2000): Isolation and biotyping of Brucella species in aborted sheep fetuses. Pendik Vet. Microbiol. (31): 31-42.

FAO (Food and Animal Oeganisation) (2001): Syrian report. Directorate of Animal Health, Damascus.

Hussein, AAA.; Sayed ASM. and El Feki, MA. (2005): Seroepidemiological study on human brucellosis in Assiut Governorate. Egypt J. Immumol; 12: 49-56.

Garin-Bastuji, B.; Blasco, J.M.; Grayon, M. and Verger, J.M. (1998): Brucella melitensis infection in sheep: present and future. Vet Res. (29): 255–74.

Gulaand, ST. and Khan, A. (2007): Epidemiology and Epizootology of brucellosis A review. Pakistan Vet. J.; 27(3): 145-151.

Lennette, E.H. and Schmidt, N.J. (1979): Diagnostic procedures for viral and riskettsial infections. 5. Ausgabe, S. 35-42 New York.

Memish, Z. (2001): Brucellosis control in Saudi Arabia: prospects and challenges. J. Chemother., 13: 11–17.33-Anonymous, 1998. WHO Expert Committee on Brucellosis. WHO, Geneva, pp: 1-100.

OIE (Office International Epizooties) (2000): Manual of standards Diagnostic Tests and Vaccines .Section 2.3, Chapter 2.3.1.

Pappas, G.; Papadimitriou, P.; Akritidis, N.; Christouulm Tsianos EV. (2006): The new global map of human brucellosis. Lancet Infect Dis.(6): 91–9.

Rahman; Juddin, M.; Joon-Seok Chae; Brahman, M. and Islam, M.A. (2006): A short History of Brucellosis: Special Emphasis In Bangladesh Bangl. J. Vet. Med. 4(1): 01-06.

Refai, M. (2002): Incidence and control of brucellosis in the Near East region. Vet Microbiology 90. 81-110.

Samaha, H.; Al-Rowaily, M.; Khoudair, RM. and Ashourhm (2008): Multicenter study of brucellosis in Egypt. Emerg Infect Disease.

المراجع العربية:

البشعان ، منير (1991): دراسات جرثومية على البروسيلة في الأبقار في سورية. رسالة دكتوراه. جامعة البعث ، كلية الطب البيطري.

التركاوي ، محمد علاء وطباع ، دارم والعمر ، ياسر (2004): الانتشار المصلي للبروسيلة المجهضة في المزارع الحكومية لتربية الأبقار الحلوب في سورية. مجلة جامعة البعث، المجلد29، العدد12 .ص222-237.