J. of Agricultural Chemistry and Biotechnology, Vol. 1 (2): 133 - 140, 2010

EFFECT OF SOME ANTIBIOTICS ON BRUCELLIS OF SHEEPS

Al-Ashker, Bothina*; A.El-Merirey and Ebtissam Ahmed*****
** Biological (Botany) Dept., Fac. of Science, Demascus Univ.
** Molecular Biology Dept. Fac. of Science, Demascus Univ.
*** Ecological Sci. Dept, Fac. of Science, Demascus Univ.**

أثر بعض مضادات الحيوية على البروسيلا الضأنية داخل البالعات الضخمة للأغنام

بثينة الأشقر*[1]، أيمن المريري[2]، ابتسام حمد[3]
[1] قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق
[2] قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية، هيئة الطاقة الذرية السورية
[3] قسم علم البيئة، كلية العلوم، جامعة دمشق

الملخص

تم دراسة الأثر المثبط لثمانية مضادات حيوية على 33 عزلة بروسيلا ضأنية معزولة من الحليب الخام من المنطقة الجنوبية في سورية. البروسيلا بكتيريا سالبة غرام، داخل خلوية، اختيارية، تسبب أمراض خمجية للأغنام والماعز والأبقار والجمال ذات السنام الواحد، كما أنها البكتريا المسؤلة عن أهم الأمراض المشتركة التي تصيب الإنسان. تم دراسة نشاط البكتيريا القاتل للبالعات الضخمة للأغنام العواس وذلك لتخمين قدرتها على قتل البروسيلا داخل خلوية أثناء المقايسة بوجود ثمانية مضادات حيوية: الستربتومايسين – الجنتاميسين - السيبروفلوكساسين – التتراسكلين – السيفتازيديم- الريفامبيسين- الدوكسسيكلين والسيفازولين. أستنبتت البالعات الضخمة للأغنام العواس بتركيز 10^5 خلية في كل حفرة من صفيحة 24 حفر المعقمة، ثم تم إصابتها بالبروسيلا بنسبة 100 خلية بكتيرية لكل خلية من البالعات الضخمة مع أو بدون 1% (10 µg/ml) من مضادات الحيوية. بعد 2-4-24-48-72-96-144 ساعة من الإصابة، تم غسيل البالعات الضخمة وتفجيرها. أستنبتت الخلايا المتفجرة بعد 5 دقائق من الحضن بدرجة حرارة الغرفة، على وسط الـ 2YTA (آجار الخميرة والترتبون - تريبتون) ثم حُضنت أطباق البتري على بدرجة 37°م لمدة 48 ساعة. أظهرت نتائج هذه الدراسة بأن عزلات بكتريا البروسيلا الضأنية مقاومة للستربتومايسين والجنتاميسين كما لوحظ أثر مثبط للمضادات الحيوية الأخرى. يمكن استخدام مزيج من كل من المضادين سيفازولين و سيبروفلوكساسين كمثبط فعال للبكتيريا داخل خلوية.

كلمات مفتاحية: بكتريا البروسيلا، البالعات الضخمة، مضادات حيوية، مقايسة خلوية.

المقدمة

تُعْتَبَر بكتريا البروسيلا الضأنية *Brucella melitensis* العامل الرئيسي المُسَبِّب لداء البروسيلوسيى عند الأغنام والماعز. إذ ينتمي هذا المرض إلى قائمة الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان، والتي تؤدي إلى تأثيرات هامة على كلٍ من الصحة العامة والإنتاج الحيواني. تنتشر الإصابات بالبروسيلا الضأنية انتشاراً واسعاً حول العالم، ولاسيما في دول حوض البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط. وقد سُجِلَت في بعض هذه المناطق، إصابات بالبروسيلا الضأنية عند جِمال وحيدة السنام (Camelus dromedarius) وعند أبقار موجودة على تماس مع أغنام وماعز مصابة (Corbel, 1997). سريرياً، يتميز المرض عند المجترات الصغيرة بواحد أو أكثر من المظاهر التالية: إجهاض، انخفاض في إنتاج الحليب، احتباس المشيمة retained placenta، التهاب الخصية، التهاب البربخ، ونادراً التهاب المفاصل (Gorvel and Moreno, 2002). تُعْتَبَر بكتريا البروسيلا الضأنية عاملاً شديد الإمراضية للبشر فهي تسبب حدوث حمى تموجية (تُعْرَف أيضاً بالحمى المالطية أو حمى البحر الأبيض

* Correspondance: buthaina@tigerproduction.net, Fax:11 6115433, Damascus P.O.Box :31044

المتوسط)، كما أنها تؤدي إلى الإصابة بأحد أهم الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان في العالم. يُصاب البشر بهذا المرض عادةً عند استهلاك حليب ملوَّث غير مبستر أو جبنة طازجة مصنعة من حليب ملوث أو عن طريق استنشاق المتعضيات المُعْدِية أو عن طريق التطعيم بالسلالة اللقاحية للبروسيلا الضأنية (Boschiroli *et al*., 2001).

تنقسم كلمة antibiotic ذات الأصل الإغريقي إلى قسمَيْن هما: anti وتعني "ضد"، و bios وتعني "حياة". أما في اللغة العربية فيُطْلَق على الـ antibiotic اسم: صادات أو مضادات حيوية، وهي عبارة عن مركبات كيميائية تُسْتَخْدَم لقتل أو تثبيط نمو المتعضيات الخامجة infectious. وقد كانت الكلمة تشير أصلاً إلى المركبات العضوية التي تنتجها البكتيريا أو العفن والتي تكون سامةً لغيرها من المتعضيات المجهرية (Alp *et al*., 2006; Akova *et al*., 1993). يتطلب علاج داء البروسيلات أنظمة علاج مشتركة بالصادات الحيوية انطلاقاً من حقيقة كون البروسيلا عاملاً ممرضاً داخل خلوي؛ من هنا، كان العلاج الناجع يستلزم استخدام عناصر ذات قدرة جيدة على اختراق البالعات الكبيرة. ويتكون النظام المنصوح باستخدامه في علاج داء البروسيلوسيس من مشاركة بين التتراسكلين الفموي والستربتومايسين العضلي (Pappas *et al.*,2005a). أما البرنامج الآخر المستخدم في المعالجة فهو دوكسي سيكلين (DOX) إلى جانب الريفامبين (RIF) والكينولونات الأخرى كانت فعالةً ضد بكتريا البروسيلا الضأنية في التجارب المعملية (Solera *et al*., 1995; Ariza *et al*., 1992;). كما تبين أن السيبروفلوكساسين (CIP) Solera *et al*., 1997;). الأزيتروميسين (AZI) هو العضو الخامس عشر في حلقة صادات الأزاليد. وبالنظر إلى المستويات الممتازة التي تم الوصول إليها باستخدام الكينولونات والأزيتروميسين داخل البالعات الضخمة، يمكن استعمال هذه العوامل كبدائل في علاج داء البروسيلوسيس (Giannakopoulos *et al*., 2006; Roushan *et al*., 2004; Ozbay and Inanmis, 2006). والهدف من هذه الدراسة هو تحديد نشاط الستربتومايسين – الجنتاميسين - السيبروفلوكساسين – التتراسكلين – السيفتازيديم- الريفامبيسين- الدوكسسيكلين والسيفازولين ضد 33 سلالة من بكتريا البروسيلا الضأنية معزولة من عينات حليب أغنام عواس تم جمعها من المنطقة الجنوبية في سورية في التجارب المعملية، إلى جانب تقصي نشاط التآلفات مثل الستربتومايسين - الريفامبسين و الجنتاميسين - الريفامبيسين والتراسكلين – الريفامبيسين والدوكسيسكلين – الريفامبيسين والسيفازولين - الريفامبسين والسيفتازيديم- السيبروفلوكساسين والسيفازولين - السيبروفلوكساسين ضد بكتريا البروسيلا الضأنية في التجارب المعملية.

المواد والطرائق

1- استنبات بكتريا البروسيلا الضأنية:

اسْتُخْدِمَت 33 سلالة من بكتريا البروسيلا الضأنية المعزولة من مزارع حليب أغنام العواس تم جمعها من المنطقة الجنوبية في سورية في مختبر الميكروبيولوجيا والمناعيات في هيئة الطاقة الذرية السورية من أجل هذه الدراسة. تُرِكت البروسيلا لتنمو في الشروط المثالية على وسط الزراعة 2YTA (والذي يتكون من آغار [20 غ]، ببتون [10 غ]، كلور الصوديوم [5 غ]، خلاصة اللحم [5 غ] والماء المقطر [1 لتر]) في الدرجة 37°م في حمام مائي (حمام مائي هزاز كبير، موديل OLS200، كامبريدج، المملكة المتحدة) من أجل تأمين عدد كافٍ من الخلايا. وأُضيف عدد من المضادات الحيوية لمنع نمو المتعضيات الأخرى غير البروسيلا: سيكلوهيكسيميد cycloheximide (100 ملغ)، باسيتراسين bacitrcin (2500 وحدة)، بوليميكسين ب سلفات polymyxin B sulphate (5000 وحدة)، فانكومايسين vancomycin (20 ملغ)، حمض ناليديكسيك nalidixic acid (20 ملغ) ونيستاتين nystatin (10000 وحدة) (Al-Mariri *et al*., 2001).

لتحضير وسط الزراعة الاصطفائي الصلب، أذبنا الوسط الأساسي ثم بَرَدْناه حتى الدرجة 56°م في حمام مائي ومن ثم أضفنا المحاليل الأم للمضادات الحيوية. واخترنا البكتيريا موجبة تفاعليْ الأوكسيداز والبولة من أجل اختبار التراص مع ضد-البروسيلا المصلي وحيد النوعية (مضاد-A ومضاد-M) (آركومكس ARCOMEX، عمان، الأردن). وخُزِنَت السلالات التي حُدِدَت على أنها بروسيلا ضأنية في وسط نمو البروسيلا السائل (BD، سبارك، الولايات المتحدة الأمريكية) في الدرجة -20°م لحين إجراء اختبارات الحساسية عليها.

2- المقايسة الخلوية:

بما أن البروسيلا بكتيريا داخل خلوية اختيارية وهي تُفضل الوحيدات والبالعات الضخمة في الجسم؛ فقد عُزلت الكريات البيضاء للأغنام العواس السليمة، وذلك لإصابتها بالبروسيلا الضأنية (معمليا) حيث تمت دراسة أثر بعض المضادات الحيوية في تثبيط البكتيريا الداخل خلوية. تم حل 1 مغ من الستربتومايسين – الجنتاميسين - السيبروفلوكساسين – التتراسكلين – السيفتازيديم- الريفامبيسين- الدوكسسيكلين والسيفازولين بحجم 1 مل من الموقي وتم تخزينها في الدرجة -20°م لحين الاستخدام.

أُستنبتت الخلايا المعزولة في دوارق مخروطية Flasks ذات سعة 25 مل مستخدمين وسط الاستنبات الخلوي RPMI 1640 المضاف إليه مصل جنين البقر 10%. بعد يومين أو ثلاثة أيام من الاستنبات، تم الحصول على الخلايا مستخدمين التربسين، ومن ثم أُستنبت 10^5 خلية في كل حفرة من الصفيحة 96 (Tissue culture test plate)، وحُضنت الصفيحة في حاضنة الـ CO_2 (10%) بدرجة 37°م لليوم التالي حيث تم إصابتها بإضافة البروسيلا الضأنية للخلايا وحُضنت لمدة ساعة بالشروط نفسها، ثم تم غسيل الآبار ثلاث مرات ومن ثم إضافة الوسط المغذي إليها مع تركيزات من المضادات الحيوية المراد اختبارها (أربع آبار لكل مضاد حيوي)، ولفترات زمنية محددة. حُلت الخلايا المدروسة بواسطة التريتون Trito، وتمت زراعة السائل المُعلق على أطباق بتري تحوي وسط الاستنبات البكتيري الصلب 2YTA وحُضنت لمدة 2-3 يوم في الحاضنة بدرجة 37°م ومن ثم تم التعداد البكتيري.

3- التحليل الاحصائي:

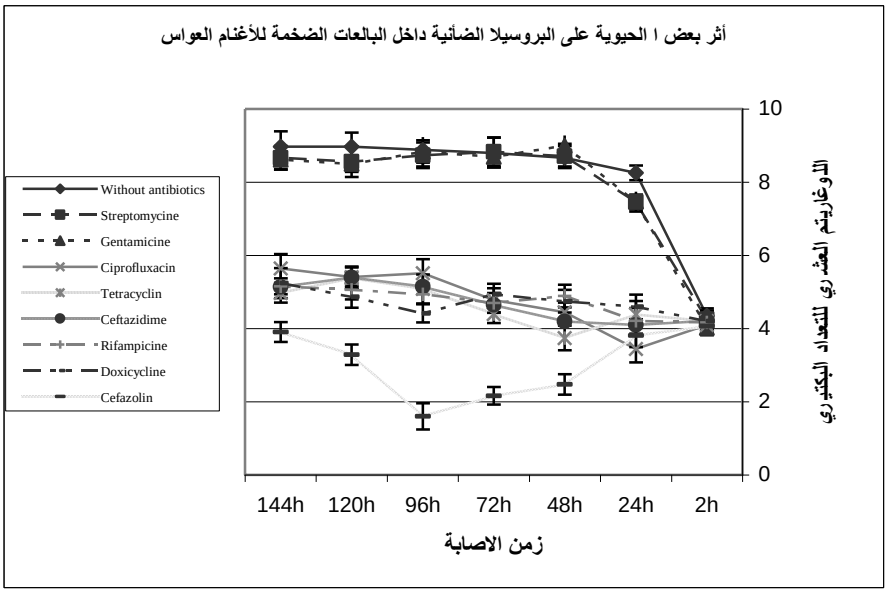
أجرينا كل تجربة نموذجياً في ثلاث مكررات. وحددنا الاختلافات ذات القيمة (الهامة) بين المتوسطات بواسطة كلٍ من اختبار الطالب Student's t test أو تحليل التباين. وتمت الاختبارات باستخدام الميكروسوفت إكسلMicrosoft Excel، النسخة 4، البرنامج الإحصائي. حيث يُعْتَبَر الفرق معنوى عندما تكون $p < 0.05$.

النتائج والمناقشة

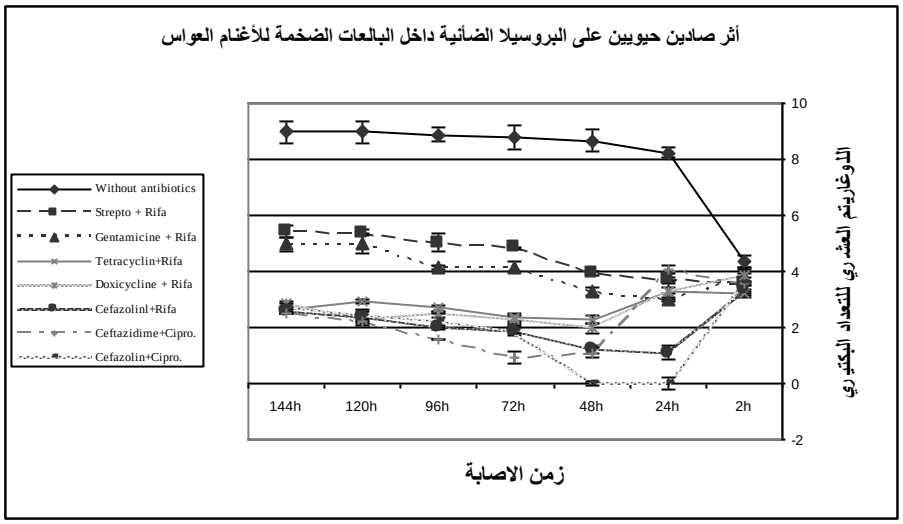
يُلاحظ من الشكل 1 أنه عندما تم استخام مضاد حيوي وحيد للحماية من بكتريا البروسيلا الضأنية، بعد 2 ساعة من الإصابة، لا يوجد تأثيراً كبيراً لهذه المضادات على البكتيريا خاصةً أن التعداد البكتيري بدون مضادات كان منخفضاً نسبياً، لكن تأثير بعض المضادات يبدأ بعد 24 ساعة من الإصابة إلى نهاية فترة المقايسة الخلوية. لم يكن هناك تأثيراً للمضاد Cefazolin بعد ساعتين من الإصابة، بينما كان له تأثيراً بعد 24 ساعة من الإصابة حتى 144 ساعة؛ فقد تراوح اللوغاريتم العشري لتعداد بكتريا البروسيلا من CFU 4.05بعد ساعتين من الإصابة ليصبح CFU 3.91 بعد 144 ساعة. كان تأثير الـ Doxicycline تأثيرا متوسطاً حيث تراوح اللوغاريتم العشري للبكتيريا بين CFU 4.1 ليصل إلى CFU 5.2 في نهاية فترة المقايسة.

لوحظ أثر الحماية للمضادات Rifampicine و Ceflazine، Tetracycline، و Ciprofluxacin بعد 24 ساعة من الإصابة، واستمر الأثر المثبط المتوسط حتى نهاية فترة المقايسة. لم يُلاحظ أي أثر للحماية للستربتومايسين أو للجنتاميسين عندما أضيفا كمضادين وحيدين.

يُظهر الشكل 2 أنه كان هناك أثر مثبط عندما أُضيف الستربتومايسين أو الجنتاميسين إلى الريفامبيسين حيث تراوح التعداد البكتيري للبروسيلا الضأنية بعد 24 ساعة 3.7 و 3.2 CFU ليصل بعد 144 ساعة إلى 5.3 و 4.97 CFU على التوالي. أوضحت النتائج أنه أفضل مضادين حيويين لتثبيط بكتريا البروسلا الضانية داخل خلوية هما الـ Cefazolin + Ciprofluxacin حيث كان هناك تثبيطاً تاماً للبروسيلا بعد 24 و 48 ساعة من فترة المقايسة وليرتفع التعداد البكتيري إلى 2.7 CFU بعد 144 ساعة من الإصابة فقط (الشكل 2).



الشكل 1. إصابة البالعات الضخمة للأغنام العواس بواسطة بكتريا البروسيلا الضأنية،ومعالجتها ببعض المضادات الحيوية (من ساعتين إلى 144 ساعة من الإصابة).



الشكل 2. إصابة البالعات الضخمة للأغنام العواس بواسطة بكتريا البروسيلا الضأنية،ومعالجتها ببعض المضادات الحيوية كثنائيات (من ساعتين إلى 144 ساعة من الإصابة).

لقد طورت بكتريا البروسيلا آليات لتستطيع التأقلم والتكاثر داخل البالعات الضخمة، وأي علاج فعال ضد هذه البكتيريا يجب أن يكون نفاذا للخلايا ومثبطاً للبروسيلا ضمن البلعميات (Pappas *et al.*, 2005b) لهذا فقد درسنا أثر ثمانية مضادات حيوية على تثبيطها داخل البالعات الضحمة للأغنام العواس.

تحدث الإصابات المزمنة بالبروسيلا بسبب قدرة هذه البكتيريا على المحافظة على حياتها داخل الخلايا البلعمية التي تُبقيها في مأمن من الآليات الدفاعية خارج الخلوية لدى المضيف مثل بروتينات المتممة

والأضداد (Gorvel and Moreno, 2000). يوجد علاقة ما بين فوعة سلالة strain وما بين قدرتها على التكاثر داخل الخلايا البلعمية. وهكذا فقد تبين أن سلالة البروسيلا الضأنية تقاوم بشكل أفضل الهدم الذي تقوم به الكريات البيض للمضيف من السلالة الموهنة. Aballay *et al*., 2002) (. وكذلك تقاوم السلالات الملساء للبروسيلا الضأنية التفكيك الذي تقوم به الكريات البيضاء المعتدلة والبالعات الضخمة الموجودة في الغدد الثديية بشكل أكبر من السلالات اللقاحية الموهنة الخشنة (20/45 أو RB51) أو الملساء (S19) ولازالت آلية المرور داخل الخلوية للبروسيلا إلى قلب الخلايا البلعمية غير معروفة (Liautrad *et al*.,1996) ومع ذلك فقد تبين أن الاس الهيدروجيني (pH) الحامضي للجسيم البلعمي الحال مهم من أجل بقاء البروسيلا على قيد الحياة داخل البلعميات (Reichow *et al*., 2006)

هذا وقد تفاقمت مشكلة مقاومة المضادات الحيوية نتيجةً لاستخدام هذه الأخيرة كوقاية من المرض، بقصد منع العدوى قبل حدوثها. حيث أن الاستخدام غير الملائم للمضادات الحيوية في علاج نزلة البرد الشائعة والإصابات الفيروسية الأخرى العادية، والتي لا تملك المضادات أي تأثير ضدها، يؤدي إلى القضاء على البكتيريا الحساسة للمضادات ويسمح بتطور الأنواع المقاومة (Bayindir *et al*., 2003). وعلى نحوٍ مشابه، فإن استخدام الصادات الحيوية في تغذية الدواجن والمواشي عزز ظاهرة مقاومة الأدوية وأدى إلى الانتشار واسع الطيف لتلوث اللحوم والدواجن بالبكتيريا المقاومة للمضادات كالسالمونيلا؛ ونعتقد أن هذا هو السبب الرئيسي لمقاومة البروسيلا الضأنية للستربتومايسين والجنتاميسين (الشكل 1)، وهذا ما ذكره تقرير الصحة العالمية أن استخدام المضادات الحيوية في علاج الحيوانات ذات الأهمية الاقتصادية (أغنام-ماعز- أبقار- دواجن- أسماك ...الخ)؛ يؤدي إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لهذه المضادات حيث تنتقل إلى الإنسان عبر السلسلة الغذائية (Anonymous, 1986).. وتشكل عملية تعطيل نشاط inactivation المضاد إحدى هذه الآليات الرئيسية. وهذه هي طريقة الدفاع المألوفة ضد البنسلينات والكلورامفينيكول. أما آلية الدفاع الثانية فتستلزم حدوث طفرة تُغَيِّر الأنزيم البكتيري الذي يؤثر عليه الدواء بطريقةٍ لا يمكن للمضاد بعدها أن يثبط الأنزيم. وهذه هي الآلية الرئيسية المُسْتَخدمة في مقاومة المركبات المُثَبِّطة لتركيب البروتين، مثل التتراسكلينات.

تجري الأبحاث المخبرية حول معالجة البكتيريا، ومن بينها البروسيلا، منذ الثمانينات. إن فعالية الكينولونات quinolones ضد البكتيريا داخل الخلوية تقلل من خطورة حدوث السمية الكلوية nephrotoxicity، كما وأن تمتع هذه الزمرة بخصائص ديناميكية دوائية جيدة جداً يزيد من أهميتها العلاجية (Jonse *et al*., 1999).

وُجِد أن الـ Clinofloxacin (وهو من عائلة الكينولونات) يؤثر على البروسيلا بتراكيز بين الـ 0.06 و2 مغ/مل، ولا يوجد إلا دراسات قليلة حولهما مقارنةً مع مضادات أخرى من العائلة ذاتها (García-Rodríguez *et al*., 1994; Kocagöz *et el*., 2002; Lang *et al*., 1990)؛ بينما كانت نتائج دراستنا أن تأثير هذا المضاد على البروسيلا داخل خلوية هو تأثير متوسط حيث تراوح من 3.44 CFU بعد 24 ساعة ليرتفع إلى 5.5 CFU بعد 72 ساعة من الإصابة.

كما أوضحت بعض الدراسات أن فعاليات مضادات هذه العائلة تنخفض في درجة الحموضة pH = 5 [هي درجة حموضة الجسيم الحال البلعمي في البالعات الضخمة، حيث تتكاثر البروسيلا]. حيث وجد Garcia Rodriguez وزملاؤه (García-Rodríguez *et al*., 1994)، أن فعالية صادات هذه العائلة تنخفض مرتين أو أربع مرات بدرجة الـ pH = 5 مقارنةً مع الـ pH = 7. كما أوضح Akova وزملاؤه (1999) أن الريفا والدوكسي سكلين يمتلكان فعالية جيدة في درجة الـ pH = 5، بينما كانت صادات حيوية أخرى مثل: سيبروفلوكساسين وفلوكساسين وستربتومايسين وأريتروميسين وأزيتروميسين أقل فعالية في درجة الحموضة 5. بينما بيَّن بعض الباحثين أن الريفا فقط يمتلك فعالية أكبر في درجة الحموضة بين 5 و 7. بينما أظهرت نتائجنا أنه لا يوجد أثر لدرجة الحموضة 5 أو 7 على فعالية المضادات الحيوية المستخدمة في دراستنا (نتائج غير منشورة).

قام Sturniolo وزملاؤه (Sturnioloet *et al*,.1993)في دراستهم بوضع مختلف المضادات مع بعضها لاختبار أثرها على البروسيلا الضأنية، إلا أنهم لم يجدوا نظام معالجة فعال أفضل من نظام ريفا – دوكسي. إذ وجد هؤلاء الباحثين أن إضافة السيبروفلوكساسين إلى minocycline كانت ذات تأثير منخفض على قتل البروسيلا، بينما كان لإضافة الستربتومايسين إلى أي مضاد حيوي آخر تأثير سريع في قتل البروسيلا. ولكن نعتقد أن هذا المضاد الحيوي غير فعال لمعالجة الحمى المالطية في سورية وذلك لأن أغلب العزلات كانت مقاومةً له وحتى بتركيز 100 ميكرو غرام/مل (نتائج غير منشورة). وفي هذه الدراسة، وُجِد أن تطبيق نظام ريفا + سيفازولين هو الأفضل من ناحية التآزر بينما الأفضل لتثبيط البروسيلا الضأنية داخل خلوية عندما أُضيف سيبروفلوكساسين + سيفازولين .

كما هو معلوم فإن ارتباط نجاح معالجة مرضى الحمى المالطية يعتمد على المدة والجرعة والفترة التي بُدِئ بها العلاج. ذكر Al-Sibai وزملاؤه (Al-sibai *el al.*, 1992) أنه عند معالجة الحمى المالطية بدواء وحيد هو السيبروفلوكساسين، كانت حالات النكس مرتفعة وبنسبة 26.7 % و21.4% على التوالي. بينما أظهرت دراسة علمية أخرى أُجْرِيَت على 22 مريضاً تمت معالجتهم بالمضاد الحيوي نفسه، وجود فشل في بداية المعالجة بنسبة 9.1% دون حدوث نكس (Sturniolo *et al*., 1993). وعموماً يمكننا القول أن المعالجة بالسيبروفلوكساسين لوحده غير كافية حيث توجد حالات نكس كثيرة (Akova *et al.*, 1993).

وقد أجرى Aygent وزملاؤه (Aygen *et al.*,2002)دراسةً علميةً على 480 مريضاً، حيث تم استخدام مضادات مختلفة لعلاج داء البروسيلات، فلوحظت حالات نكس بنسبة 4.6 % إذا كانت المضادات لا تنتمي إلى عائلة الكينولونات، و 17.9 % عند المرضى الذين تمت معالجتهم بمضادات من زمرة الكينولونات كمضاد وحيد، و 14.3 % عندما كان أحد المضادين من عائلة الكينولونات والآخر من عائلة مختلفة. أخيراً، في دراسة لـ Tasova وزملائه (Tasova *et al*.,1999) على 87 مريضاً يعانون من أمراض عظمية مفصلية osteoarticular بسبب البروسيلا [12 منها التهاب فقرات]، كانت النتائج متشابهة سواءً تمت المعالجة بواسطة مضادات الكينولونات أو مضادات منتمية إلى عائلة أخرى. كما أوضحت الدراسات فعالية مضادات الكينولونات عند مرضى التهاب شغاف القلب الناجم عن بكتريا البروسيلا (Micozzi *et al*., 1990).

REFERENCES

Corbel, J. M.(1997). Brucellosis: an overview. *Emerging Infectious Diseases*, 3(2), 213-221.

Gorvelm J. P. and E. Moreno (2002). *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet. Microbiol,*, 20;90(1-4), 281-297.

Boschiroli, M. L.; V. Foulongne and D. O'Callaghan (2001). Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4:58-64.

Akova, M.; O. Uzun; H. E. Akalin; M. Hayran; S. Unal and D. Gur (1993). Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampicin versus doxycycline-rifampicin.*Antimicrob Agents Chemother*., 37:1831-1834.

Alp, E.; R. K.; A.C. Koc; O. Durak Yildiz; B. Aygen; B. Sumerkan and M. Doganay (2006). Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis [ISRCTN31053647]. *BMC Infect. Dis*., 6:72.

Pappas, G.; N. Akirtidis and E. Tsianos (2005a). Effective treatments in the management of brucellosis. *Expert. Opin. Pharmacother,* 6(2), 201-209.

Solera, J.; M. Rodríguez-Zapata; P. Geijo; J. Largo; J. Paulino Sáez; L. Martínez-Alfaro; E. Sánchez; M. A. Sepulveda and M. D. Ruiz-Ribó (1995). Doxycycline-rifampicin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother*., 39(9):2061-2067.

Ariza, J.; F. Gudiol; R. Pallares; P. F. Viladrich; G. Rufi; J. Corredoira and M. R. Miravitlles (1992). Treatment of human brucellosis with doxycycline plus rifampicin or doxycycline plus streptomycin. A randomized, double-blind study. *Ann. Intern. Med*., 117: 25-30.

Giannakopoulosm I.; N. M, Nikolakopoulou; M. Eliopoulou; A. Ellina; F. Kolonitsiou and D. A. Papanastasiou (2006). Presentation of childhood brucellosis in Western Greece. *Jpn. J. Infect Dis*., 59: 160-3.

Roushan, M. R.; S. M. and S. A. Gangi Ahmadi (2004). Comparison of the efficacy of two months of treatment with co-trimoxazole plus doxycycline vs. co-trimoxazole plus rifampicin in brucellosis. *Swiss Med. Wkly*. ,134:564-8.

Ozbay, K. and R. A. Inanmis (2006) .Successful treatment of brucellosis in a twin pregnancy. *Clin. Exp. Obstet.Gynecol*. 33:61-2.

Al-Mariri, A.; A. Tibor; P. Mertens; X. Debolle; P. J. Michel Godefrod; K. Walravens and J-J. Letesson (2001). Protection of BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant. *Infect .and Immun*, 69(8), 4816-4822.

Aballay, A.; L. S. Mayorga; G. N. Arenas and L. Staskevich (2000). Intracellular trafficking of *Brucella abortus* in J774 macrophages*. Infect. Immun.,* 68(7), 4255-4263.

Liautrad, J. P.; A. Gross; J. Dornand; S. Kohler (1996). Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp. *Microbiologia,* 12(2), 197-206.

Reichow, H. E. Y. S.; S. Ramamoorthy; X. Ding; R. Lathilgra; S. M. Craig; J. C. Sobra; G. G. Schurig and N. Boyle (2006). *Brucella melitensis* triggers time-dependent modulation of apoptosis and down-regulation of mitochondrion-associated gene expression in mouse macrophages*. Infect. Immun.,*74(9), 5035-5046.

Pappas, G.; N. Akrtidis; M. Bosilkovski and E. Tsianos (2005b). *Brucellosis. The new Eng. J. of Med.,* 2;352(22), 2325-2336.

Bayindir, Y., E. Sonmez Aladag and A. Buyukberber (2003). Comparison of five antimicrobial regimens for the treatment of *brucellar spondylitis*: a prospective, randomized study. *J Chemother*. 15: 466-71.

Anonymous (1986). Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. WHO Tech. Rep. Ser., 740:1-132.

Jones, M. E.; M. R. Visser; M. Klootwijk; P. Heisig; J. Verhoef and F.-J. Schmitz (1999). Comparative activities of clinafloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin and nonquinolones linozelid, quinupristin-dalfopristin, gentamicin, and vancomycin against clinical Isolates of ciprofloxacin-resistant and -*Susceptible Staphylococcus aureus* Strains. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43: 421-423.

Kocagöz, S.; M. Akova; B. Altun; D. Gür and G. Hasçelik (2002). *In vitro* activities of new quinolones against *Brucella melitensis* isolated in a tertiary-care hospital in Turkey. *Clin. Microbiol. Infect*., 8(4):240-242.

García-Rodríguez, J. A.; J. E. García Sánchez; M. I. García Fresnadillo; M. J. Trujillano and E. García Sánchez (1994). *In vitro* activity of four new fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother*., 34(1):53-64.

Akovam M.; D. Gür; D. M. Livermore; T. Kocagöz and H. E. Akalin (1999). *In vitro* activities of antibiotics alone and in combination against *Brucella*

melitensis at neutral and acidic pHs. *Antimicrob. Agents. Chemother*. 43(5):1298-1300.

Sturniolo G., Ricciardi F., Ruggeri P., Costantino G., Pellicanò G.F., Bertuccio O., La Rosá F. (1993). Treatment of chronic brucellosis with ciprofloxacin. Personal experience. *Minerva. Med*. 84(4):187-190.

Al-Sibai, M. B.; M. A. Halim el-Shaker; B. A. Khan and S. M. Qadri (1992). Efficacy of ciprofloxacin for treatment of *Brucella melitensis* infections. *Antimicrob. Agents. Chemother*., 36(1):150-152.

Aygen, B.; M. Doganany; B. Sumerkan; O. Yildiz and U. Kayabas (2002). Clinical manifestation, complications and treatment of *Brucellar spondylitis*: a prospective, randomized study. *J. Chemoother*., 15:466-471.

Taşova, Y.; N. Saltoğlu; G. Sahin and H. S. Aksu (1999). Osteoarthricular involvement of brucellosis in Turkey. *Clin. Rheumatol*., 18(3):214-219.

Micozzi, A.; M. Venditti; G. Gentile; N. Alessandri; M. Santero and P. Martino (1990). Successful treatment of *Brucella melitensis* endocarditis with pefloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* ,9(6):440-442.

EFFECT OF SOME ANTIBIOTICS ON BRUCELLIS OF SHEEPS

Al-Ashker, Bothina*; A.El-Merirey and Ebtissam Ahmed*****

**** Biological (Botany) Dept., Fac. of Science, Demascus Univ.**

**** Molecular Biology Dept. Fac. of Science, Demascus Univ.**

***** Ecological Sci. Dept, Fac. of Science, Demascus Univ.**

ABSTRACT

Inhibitory effect of eight different antibiotics were tested on the growth of Brucella melitensis (33 strains) isolated from Syria. Growth of Brucella meltensis strains were tested on geast trypton agar and trypton agar media, cultivated in petri dishes, incubated at 37C for 48 ho.

The results cleared that Brucella strains were resistant for streptomycin and Gentomycine Mixed cefazolin cipro fluxacin more inhibitor effect after 2h and 48hr.

قام بتحكيم البحث

أ.د / محمد منصور قاسم — كلية الزراعة – جامعة المنصورة

أ.د / حسين عبدالله محمد الفضالى — كلية الزراعة – جامعة المنصوره(دمياط)