Ministry of higher education

And Scientific Research

University Of Al-Qadisya

Collage of Veterinary Medicine

Review of the importance of *Brucella abortus* in Cattle and Its Prevalence in Iraq

A research submitted to

Veterinary medicine college/ Al-Qadisiyah university, its partial of fulfillment to get B.Sc.in medical and surgery

Of Vet.. med.

By

Wissam Mohammed Noor

The Instructor

M.Jameela Radi

2015A.D. 1436 A.H.

Summary

Brucella diseases common in Iraq and endemic disease that affects many of the animals, from the most important are cows, Of the most important species that infect cattle is *Brucella abortus*. study was aimed to Review of importance of the *Brucella abortus* in cattle and its Prevalence in Iraq.

Characterized by *Brucella abortus* infection disease among cows with one or more of the following clinical signs: - abortion, a decrease in milk production, retention of the placenta, epididymitis, and rarely arthritis. Milk is the main source of transmission to humans Iraq considerd is one of the endmic countries of the infection *by brucella abortus,* the infection is increases in most of Iraqs provinces, specially rural areas. The bacteria are of great importance in bringing about abortion in cattle is endemic, leading to significant economic and health losses and there is similarities in phenotypic and cutural characteristics of genuses which located within the family Brucellacease, as well as having great similarities between the dynamic patterns of *Brucella abortus* (biovars).

الفصل الأول

المقدمة

Introduction

المقدمة Introduction

إن داء البروسيلا في الأبقار Bovine Brucellosis هو واحد من أهم الإمراض المعدية المنتشرة بشكل واسع في العالم خصوصا في جنوب وشرق أسيا والمناطق المطلة على البحر المتوسط ودول الخليج العربي (1).

إن أهم الأنواع التي تصيب الأبقار هي البروسيلا المجهضة *Brucella abortus* وهذا النوع من الجراثيم اختيارية في تطفلها للخلايا facultative intracellular والمرض الذي تسببه يرتبط بمرحلة البلوغ الجنسي والحمل مسببة الإجهاض لإناث الحيوانات المصابة في النصف الثاني من الحمل (2).

يحدث المرض بسبب الإصابة بجراثيم من نوع بروسيلا المجهضة *Brucella abortus* وهي عصيات مكورة (coccobacili)، اختاريه المعيشة داخل الخلايا (Facultative intra cellular Bacteria) وان هذا المرض مرتبط بالبلوغ الجنسي والحمل، حيث يحصل الإجهاض لإناث الحيوانات المصابة في النصف الثاني من الحمل وذالك لوجود سكر الاريثريتول (erythritol) في رحم الحيوانات، فضلا عن التهاب الخصية والمفاصل في الذكور والعقم المؤقت أو الدائم في الذكور والإناث (2).

إن أول من تمكن من عزل جراثيم البروسيلا من خالة إصابة بحمى مالطا هو العالم David Bruce في العام 1887 وأطلق عليها فيما بعد المكورات الدقيقة المالطية *Micrococcus melitensis* فيما تمكن الطبيب البيطري الدنماركي Bernard Bang من الكشف عن عصية الإجهاض التي كانت مسببا للإجهاض في الأبقار وسمي المرض باسم بأنك (Bang s disease) (3).

الفصل الثاني

استعراض المراجع

Review of Literatures

الصفات العامة لجرثومة البروسيلا المجهضة *Brucella abortus*

هي جراثيم سالبة لصبغة كرام ذات شكل عصوي كروي coccobacillary قصيرة ونحيفة ونهاياتها دائرية الشكل ذات إبعاد تتراوح بين (0.6-1.5)مايكروميتر طولا و(0.5-0.7) عرضا.وقد تترتب على شكل منفرد أو أزواج أو عناقيد صغيرة، غير متحركة non-motile غير منتجة للمحفظة، غير مكونة للابواغ non-spore forming (4).

تتميز جراثيم البروسيلا المجهضة بكونها هوائية أو لاهوائية اختيارية، منتجة لكبريتيد الهيدروجين (H2S)، موجبة لاختبارات Urease، Catalase، Oxidase وغير مخمرة للكلكوز واللاكتوز وغير محللة للدم وسالبة لاختبارMethyl red –Vogus proskaur ومقاومة لصبغة Acid fast stain بشكل جزئي لأنها لا تقتصر بحامض ألخليك بنسبة 0.5 الموجود في صبغة زيل نيلسون المحورة Modified Zeihl Neelson stain(5).

تمتاز البروسيلا بنموها البطئ على الأوساط الزرعية المختبرية وتحتاج إلى فترة حضانة Incubation period تصل إلى بضعة أيام وبدرجة حرارة 37م.

وتحتاج البروسيلا المجهضة إلى 5-10% من غاز ثنائي اوكسيد الكاربون عند عزلها بشكل أولي وتحتاج عند تنميتها على الأوساط الزرعية إلى توفر نسبة عالية من البيتون والمصل ويتم تثبيط نمو البروسيلا عند زرعها على أوساط حاوية على أملاح الصفراء Bile salts و Selenite و Tellurite (6).

تتميز البروسيلا بتكوينها لنوعين من المستعمرات الأولى ملساء smooth colonies والنوع الثاني مستعمرات خشنة Rough colonies (7).

إن عتر جراثيم البروسيلا المجهضة تكون مستعمرات ناعمة أو خشنة وهذا يعود لامتلاكها متعدد السكريد ألشحمي الناعم smooth lipopoly saccharide أو متعدد السكريد ألشحمي الخشن Rough lipopoly saccharide كمستضد السطح الرئيسي (8).

يتحسن نمو جراثيم البروسيلا المجهضة بإضافة افوكسين القاعدي Basic fuchsin والمثيل البنفسجي Methyl violet والسفرانين safranin (9).

*الوبائية Epidemiology

إن جراثيم البروسيلا المجهضة *Brucella abortus* تصيب الأبقار في إنحاء واسعة من العالم ولكنها تحددت في عدد من الدول المتقدمة (10).

إن البروسيلا المجهضة تعد مسببا رئيسيا للإجهاض والتهاب المشيمة في الأبقار، وتكون الإصابة في الحيوانات الناضجة جنسيا ويحدث الإجهاض في الأشهر6-9 من الحمل وفي حالة عدم حدوثه يتم طرح الجرثومة مع سوائل الجنين وسوائل الرحم والحليب وبعدها يحدث استقرار للجرثومة في الغدد اللبنية والعقد اللمفاوية والحيوانات الغير بالغة جنسياً لا تظهر عليها أعراض أكلينيكية غالباً وإن ظهرت عليها أعراض فإنها غالباً ما تكون محدودة بينما الحيوانات البالغة جنسياً هي الأكثر حساسية للإصابة خاصة في مواسم التناسل (1).

البروسيلا المجهضة يمكنها البقاء حية لمدة قد تصل إلي ثمانية أشهر في الظل داخل الأجنة المجهضة ولمدة ١-٢ شهر في التربة الجافة، ولمدة ٢- ٣ أشهر في التربة الرطبة، ولمدة ٣- ٤ أشهر في الروث وكذلك لمدة ثمانية أشهر عند ١٥°م في مستودعات تخرين الروث والصرف بالمزارع، ولكن الميكروب لا يمكنه مقاومة الشمس المباشرة إلا لعدة ساعات فقط.

تحدث الإصابة عن طريق تلوث الماء بالجرثومة أو اختراقها للجروح أو الجلد السليم والأغشية المخاطية وملتحمة العين إضافة إلى كون البروسيلا المجهضة تعيش في القناة التناسلية والبولية للأبقار وقد تنتقل عن طريق عملية التلقيح الاصطناعي (11).

عملية البسترة تقتل الجرثومة كما أنه لا يمكنها البقاء حية في اللبن المحمض "اللبن الرائب" أو أي منتجات ألبان ذات أس هيدروجين منخفض، جراثيم البروسيلا حساسة أيضاً للمطهرات الكيميائية مثل حمض الكربوليك بتركز ٢- ٥%.

ومؤخرا تم الكشف عن إن الذباب والطفيليات وحشرات أخرى يمكن إن تساهم في نقل الجرثومة وتعمل كخازن لها ولها دور في نقل المرض (11).

ويعد داء البروسيلا من الإمراض المشتركة الخطيرة قي أكثر بلدان الشرق الأوسط لكون هذه البلدان تعتمد بشكل كبير على استيراد الحيوانات من خارج المنطقة وخصوصا الأبقار (13).

*انتشار الإصابة بالبروسيلا المجهضة في العراق

أجريت العديد من البحوث التي استعرضت انتشار الإصابة بداء البروسيلا المجهضة في الأبقار في العراق وتم ذلك من خلال العديد من الدراسات التي قام بها الباحثين في عدة محافظات في العراق.

حيث أشار (14) إلى إن نسبة إصابة الأبقار بمرض البروسيلا في المدة من 1995 ولغاية 2001 في محافظات بغداد وصلاح الدين وديالى كانت (17.4%) فيما بين (15) انه تمكن من عزل 19 عزلة من البروسيلا المجهضة في محافظة ديالى.

ووجدت (16) إن نسبة الإصابة في الأبقار بهذه الجرثومة في محافظة الموصل بلغت (6.7%) فيما أشارت (17) إن نسبة الإصابة في الأبقار في بغداد كانت (6.8%).

ومن ناحية أخرى أشار(18) من خلال المسح الوبائي الذي قام به لتقييم مستوى الإصابة بمرض الإجهاض الساري في مدينة الديوانية وتأثيرها في الصحة العامة فضلا عن تأثيرها في المستوى الإنتاجي للأبقار حيث جمع 220 عينة دم من الأبقار (إناث وذكور) و98 نموذج حليب من الأبقار باستخدام فحص الروز بنكال Rose Bengal Test وفحص حلقة الحليب Milk Ring للكشف عن الأجسام المضادة في دم وحليب الحيوانات المصابة تبين النتائج بان إناث الأبقار هي الأكثر عرضة للإصابة من الذكور بنسبة (33.3%) في إناث الأبقار مقارنة مع الذكور(11.2%) فضلا عن ذلك أشارت النتائج إلى إن نسبة الإصابة كانت اعلي في أشهر الصيف.

ووجد (19) إن نسبة العزل الجرثومي كانت (8.33%) في محافظة نينوى.

فيما أكدت (20) إن نسبة العزل الجرثومي للإصابة في مناطق مختلفة من مدينة الديوانية بلغت (14.2%).

قد يعزى سبب الاختلافات في نسب العزل الجرثومي للبروسيلا المجهضة إلى اختلاف نسب تواجد الجرثومة وتوطن الوباء بحسب المنطقة الجغرافية للباحث إضافة إلى الاختلاف في نوع العينات المأخوذة (حليب أو دم أو اجنه مجهضة وغيرها) فضلا عن الاختلافات في استخدام الأوساط الزرعية الانتقائية التي تزيد من فرص عزل الجرثومة (21).

وقد كشف عدة باحثين عن تواجد علاقة بين نسب العزل وزمن جمع العينات حيث أشار (22) إلى إن النسبة العظمى للإصابة كانت في فصلي الربيع والصيف فيما أشارت (20) إلى ارتفاع نسب الإصابة في شهر(نيسان وأيار).

*أمراضية جرثومة البروسيلا المجهضة

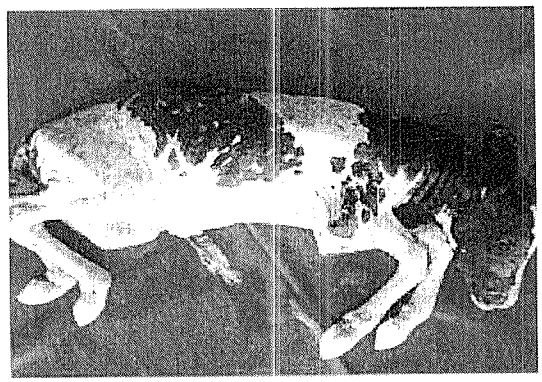
يتم دخول الجرثومة عن طريق الغشاء المخاطي للقناة الهضمية من خلال التهام الطعام الملوث أومن خلال القناة التنفسية العليا أو الملتحمة أو القناة التناسلية ويحدث انتقال الإصابة للإنسان في هذه المرحلة من خلال التلامس مع أنسجة الحيوان المصاب (23).

يتم التهام جرثومة البروسيلا المجهضة من قبل خلايا (neutrophils) والخلايا البلعمية (macrophages) وبدورها تقوم بنقلها إلى العقد اللمفاوية الموضعية وفي حالة كون الجهاز المناعي للحيوان غير قادر على التعامل مع العدوى يحصل تجرثم الدم خلال أسبوع إلى أسبوعين من حدوث الإصابة، بعدها يحصل تمركز للجرثومة في الكبد والطحال ونخاع العظم (أعضاء الجهاز الشبكي البطاني) وتتكون فيها كتل ورمية حبيبية (Granuloma) والتي تكون مصدرا لعملية تجرثم الدم بشكل مستمر بعد ذلك تغزو الجرثومة الرحم في الأبقار الحاملة مسببة الإجهاض وتستقر في الضرع (24).

فسرت أسباب حدوث الإجهاض في الأبقار المصابة بجرثومة البروسيلا المجهضة من خلال نظريتين لاحظهما (25) :-

الأولى : إن تكاثر الجرثومة في طبقة الخلايا الطلائية للمشيمة يؤدي إلى حدوث التهاب المشيمة placentitis والتهاب بطانة الرحم Endometeritis ومن ثم خلل في وظيفة المشيمة من خلال منع التبادل الحر المواد الغذائية والفضلات بين إلام والجنين ومن ثم حصول الإجهاض ولكن هناك رأي مخالف لهذه النظرية وهوحدوث الإجهاض حتى في حالات الالتهابات البسيطة للمشيمة.

الثانية : من خلال هذه النظرية يفسر الإجهاض بأنه حاصل من تأثير التسمم الداخلي في الجنين حيث إن السكريد الشحمي (LPS) الذي تمتلكه الجراثيم السالبة لصبغة كرام ومنها البروسيلا يؤدي إلى اضطرابات في إنتاج الهرمونات من المشيمة حيث تسبب في زيادة في مستوى الكورتزول Cortisol وبدوره يؤدي إلى تحويل البروجسترون الى استروجين وزيادة تصنيع البروستوكلاندين نوع (PGF2&) من بطانة الرحم الداخلية وبالتالي حدوث الإجهاض.



جنين مجهض في الفترة المتأخرة من الحمل

جنين مجهض في الفترة الوسطى من الحمل

*العلامات السريرية Clinical signs

يحدث الإجهاض المتسبب عن *Brucella abortus* في الإناث مابين (5-9) شهر في الحمل تؤدي أيضا إلى العقم المؤقت أو ألدائمي في الذكور والإناث (26).

وينتشر الوباء في القطيع لأكثر من سنة وبعد السنة الثانية يكون الإجهاض محصورا في الأبقار الحامل للمرة الأولى إما في الأبقار المجهضة سابقا ففي الحمل اللاحق تحدث حالة احتباس المشيمة والتهاب الرحم وفي حالات متقدمة تحدث حالة الأنتان الدموي وحدوث نفوق للحيوان (27).

قد لا يحدث الإجهاض عند الاصابة بالبروسيلا المجهضة ولكن العجول المولودة تكون ضعيفة وغالبا ما تموت ومن الإعراض الأخرى كفشل التكاثر وانخفاض إنتاج الحليب أو ولادة عجول ميتة stillbirth (28).

في الثيران المصابة قد يحدث التهاب حاد أو مزمن بالخصيتين وكذلك التهاب الحبل المنوي والتهاب الحويصلة المنوية التهاب المفاصل وتورمها "Arthritis and hygroma"خاصة مفاصل الرسغ Carpal joint قد تحدث في الإصابات المزمنة بالذكور والإناث. في حالات نادرة قد يحدث تسمم دموي ميكروبي Septicemia ونفوق (29).

***المناعة والجهاز المناعي في حالة الإصابة بالبروسيلا المجهضة**

أكدت الكثير من الدراسات إن الكلوبيولينات المناعية لمرض البروسيلا في الأبقار هي , Igm IgG1,IgG2 وفي الحيوانات البالغة والملقحة بالعتر اللقاحية S19 تصل الأجسام المضادة صنف Igm إلى اعلى المستويات بعد تقريبا أسبوعين من الحقن وان اعلي مستوى لصنف IgG تصل خلال 28-42 يوما من الإصابة (30).

إن الأجسام المضادة صنف IgG تمتلك خصوصية عالية لمستضدات البروسيلا في الفحوصات المصلية، كما إن هذه الأضداد تساهم في حماية جسم المضيف ضد الإصابة بجراثيم البروسيلا وذلك من خلال المساعدة في عملية بلعمة جرثومة البروسيلا Phagocytosis من قبل خلايا Macrophages بينما تؤدي المناعة الخلوية دورا مهما ضد الإصابة بهذه الجراثيم (31).

إن البروسيلا المجهضة تتكاثر داخل الخلايا البلعمية وتلعب دورا في استجابة الخلايا اللمفاوية نوع T بواسطة عملية تهيئة المستضد Antigen processing لذلك فهذه الخلايا تلعب دورا رئيسيا في المناعة المكتسبة للبروسيلا المجهضة (32).

*** التشخيص ألمختبري للإصابة بداء البروسيلا المجهضة في الأبقار.**

إن عملية تشخيص الإصابة بجرثومة البروسيلا المجهضة يتم من خلال عدة طرق منها العزل الجرثومي والطرق المصلية والاختبارات الجزيئية الحديثة منها تفاعل سلسلة البلمرة بكل أنواعها PCR.

العزل الجرثومي :- Bacterial Isolation.

إن عزل جراثيم البروسيلا المجهضة من العينات المأخوذة من الأبقار المصابة هي الطريقة الأكثر شيوعا في التشخيص.

يتم اخذ عينة دم من الحالات الحادة وزرعها وتكون نسبة العزل في هذه الحالة 15-70%، وهناك عتر من هذه الجراثيم تحتاج من 5-10% من ثاني اوكسيد الكاربون خصوصا عند العزل الأولي.

يلزم جمع عينات من محتويات المعدة ومن الرئة والطحال والأجنة المجهضة، أجزاء من الأغشية الجنينية، الإفرازات المهبلية، اللبن، السائل المنوى وكذلك سوائل التهاب وتورم المفاصل (33).

من الأوساط الشائعة لعزل جراثيم البروسيلا :-

- اكار نقيع القلب والدماغ Brain Heart Infusion agar

- اكار قاعدة الدم Blood agar base

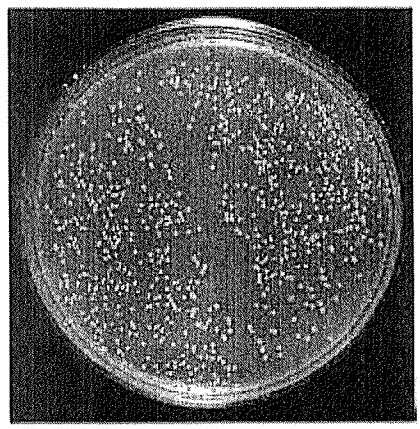
- اكار البروسيلا Brucell agar

- وسط فاريل Farrell s

- اكار البروسيلا الباماي Brucella albimi agar

- اكار الدكستروز والمصل Dextrose serum agar

ويمكن جعل جعل الأوساط الزرعية انتقائية للبروسيلا من خلال إضافة مضادات حياتية مثل Nalidixic acid و Nystatin (34).

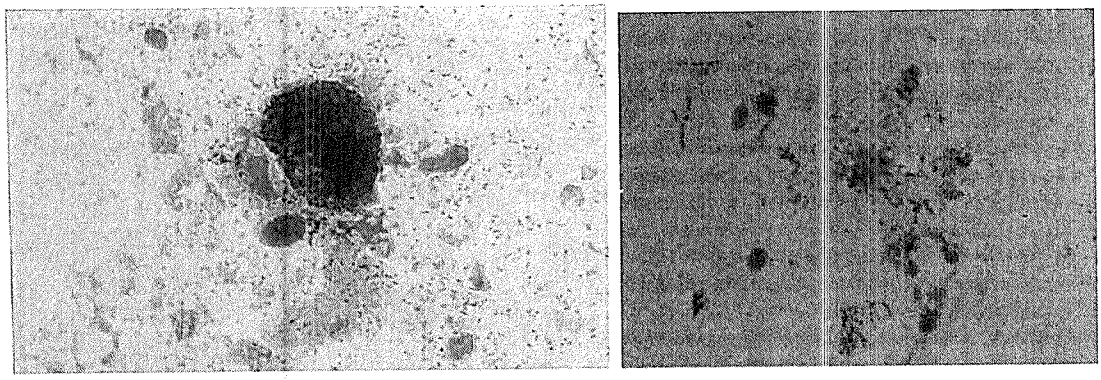


مستعمرات البروسيلا صغيرة دائرية وشفافة ترى كروية بعد(٥) أيام من الحضانة

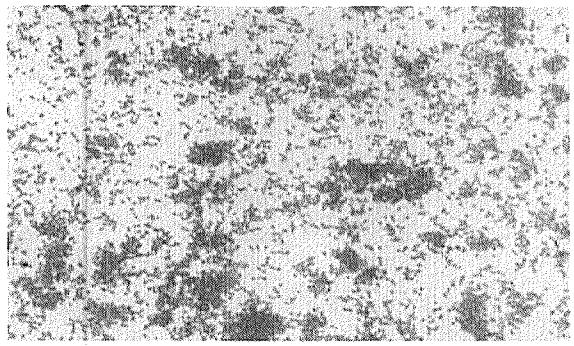
مستعمرات *Brucella abortus* على أكار الدم

مستعمرات *Brucella abortus* على أكار MacConkey

بعض أنواع العتر التابعة للبروسيلا تحتاج إلى فترة حضانة لأتقل عن 21 يوما في درجة حرارة 37 م وبعضها تأخذ فترة خمسة أيام والتشخيص الذي يلي عملية الزرع يتم من خلال إجراء صبغة كرام Gram stain إذ تظهر الجرثومة بشكل عصيات مكورة Coccobacilli سالبة لصبغة كرام وتصبغ باللون الأحمر عند صبغها بصبغة زيل نيلسون المحورة Modified Ziehle –Neelson كما يتم إجراء الفحوصات الكيموحيوية الأخرى لتأكيد التشخيص (4).



جرثومة *Brucella abortus* مصبوغة بطريقة Modified Ziehle –Neelson



عصيات *Brucella abortus* مصبوغة بصبغة كرام

الاختبارات المصلية Serological Tests.

1- اختبارالروزبنكال (RBT) Rose Bengal Test.

وهو فحص سريع وسهل يجرى من خلال مزج قطرة من المصل الحاوي على الأجسام المضادة للحيوان لمصاب مع قطرة من المستضد المصبوغ بصبغة الروز بنكال على شريحة خاصة لملاحظة حصول التلازن لفترة لاتتعدى 4 دقائق وهذا الاختبار يستخدم بشكل واسع لتشخيص الإصابة بالبروسيلا في قطعان الأبقار (35).

2- اختبار التلازن الانبوبي للمصل (TSAT) Tube Serum Agglutination T.

وهو من الاختبارات المستعملة بشكل كبير وهو ذو حساسية عالية ويستخدم في تحديد معيار الأجسام المضادة Titer of antibodies في الأبقار المصابة أو الملقحة ويحصل على مستضد الاختبار من بروسيلا الاجهاض *Brucella abortus* وهو يتفاعل مع *Brucella abortus* أو *B.melitensis* أو *B.suis* ولا يميز بينهم (36).

3- اختبار التثبيت المكمل "CFT".

يمتاز بأنه اختبار حساس جداً ونوعي Specific ويعد أحد أهم الإاختبارات التأكيدية ولكن يعيبه صعوبة إجراؤه.

4- اختبار الأليزا.

حديثاً تم استخدام اختبار الأليزا لرصد الأجسام المضادة للجرثومة في اللبن ومصل الدم كما تم استخدامه لرصد مستضدات الجرثومة في الإفرازات المهبلية (35).

تفاعل سلسلة البلمرة Polymerase Chain Reaction (PCR).

إن تفاعل سلسلة البلمرة (PCR) هو واحدا من أكثر التقنيات المستخدمة في علم الإحياء الجزيئي لسرعته ونوعيته وسهولة إجراءه وله دور مهم في التشخيص ألمختبري في تحديد أنواع الإحياء المجهرية المرضية ويعتمد على تحديد مناطق معينة ومحددة على شريط DNA ومن ثم الكشف عن التتابع (sequences) المقروء بواسطة الترحيل الكهربائي (37) .
وحاليا يستخدم PCR كوسيلة من وسائل الكشف عن البروسيلا في سوائل الجسم مثل الدم والبول والحليب وللتميز بين أنواع البروسيلا والأنماط الحيوية (biovars) (38).

الفصل الثالث

الاستنتاجات

Recommendations

الاستنتاجات

١- الانتباه إلى أهمية الجرثومة الBrucella spp كمسبب جرثومي ووجود عتر مختلفة تساهم في حدوث الإجهاض في الأبقار والذي بدوره إلى حدوث ثورات مرضية وخسائر اقتصادية كبيره .

٢- تتجلى أهمية الإجهاض الساري المتسبب عن جرثومة *Brucella abortus* من جانب الصحة العامة من إمكانية انتقاله من الحيوان إلى الإنسان من خلال تناول المنتجات الحيوانية الملوثة أو عن طريق التماس المباشر مع الاجنه المجهضة وأغشيتها وطرق أخرى عديدة.

٣- إن العزل الجرثومي لجرثومة *Brucella abortus* والطرق الجزيئية الحديثة تعتبر من الطرق الأكيدة والمعتمدة في إثبات الإصابة وهي تعد أدق من الطرق المصلية لان الاختبارات المصلية قد تخضع إلى تفاعلات تصالبية موجبة نتيجة تشابه المستضدات بين جرثومة البروسيلا وبعض الأنواع التابعة لنفس الجنين(Brucella) وكذالك بينها وبين بعض أنواع البكتريا ألسالبه والموجبة لصبغه كرام.