

بررسی سرو-باکتریولوژی بروسلوز در سگهای گله حومه شهر تبریز

● **دکتر رامین رضایی صدقیانی**، دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز
● **دکتر اسماعیل ذوقی**، عضو هیأت علمی مؤسسه تحقیقاتی رازی
● **دکتر بهمن مرحمتی خامنه**، شبکه دامپزشکی استان آذربایجان شرقی
● **دکتر حسن علی مه پیکر**، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد تبریز

چکیده

در برنامه مبارزه و کنترل بروسلوز گوسفندی، بررسی عفونت طبیعی *Brucella melitensis* در سگهای گله انجام گرفت. در مجموع تعداد ۱۱۲ سگ از ۱۱ گله گوسفند آلوده به بروسلوز در حومه شهر تبریز خونگیری و مورد آزمایش سرمی بروسلوز قرار گرفتند. نمونه‌های سرم به وسیله روشهای رزبنگال، سروآگلوتیناسیون رایت و ۲-مرکاپتواتانول آزمایش شدند. در بررسیهای سرولوژی، ۴ مورد (۳/۵۷٪) شواهد آزمایشگاهی عفونت بروسلوز را نشان دادند. هر ۴ سگ کشته و مورد کالبدگشایی قرار گرفتند و از کشت عقده‌های لنفاوی و اعضای داخلی تمامی آنها با یوواریک *B. melitensis* برای اولین بار از سگ در ایران جدا گردید. این جداسازی در تاریخ ۷۲/۵/۱۲ در بخش بروسلوز مؤسسه رازی صورت گرفت. اکثر باکتریهای بروسلوز به ترتیب از عقده‌های لنفاوی پشت حلقی و روده بند، طحال و کبد جدا گردید. نقش احتمالی سگهای گله در حفظ کانون عفونت بروسلوز در گله‌های گوسفند پیشنهاد شده است.

* این مقاله بخشی از پایان نامه مؤلف اول برای دریافت دکتری عمومی دامپزشکی از دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی تبریز می‌باشد.

مقدمه

بروسلوز ناشی از باکتریهای بروسلوز (به‌عبارت از *B. canis*) در سگ به علت نقش این حیوان به‌عنوان منشأ بیماری در دیگر حیوانات و انسان اهمیت ویژه‌ای یافته است. معمولاً عفونت ناشی از این باکتریها در سگ از طریق تماس یا بلع پرده‌های جفت یا جنین‌های سقط شده اتفاق می‌افتد. عفونت *B. melitensis* سگ غیر متداول گزارش شده است و به نظر می‌رسد سگها تا حدودی مقاوم باشند به طوری که به ندرت بیماری به صورت بالینی تظاهر پیدا می‌کند و عفونت دوام می‌یابد.

با این وجود، این باکتری و *B. suis* یا *B. abortus* قادر به ایجاد سقط جنین در سگهای ماده می‌باشند. موارد سقط جنین ناشی از این باکتریها در سگ از بسیاری کشورها گزارش شده است (۷-۱). پلی‌آرتریت، تب مواج و سفتی و سختی عضلات در سگهای نر با جداسازی بروسلوز از خون و ادرار مشاهده شده است (۱۰-۸). همچنین عفونت غیر آشکار همراه با جداسازی باکتری از طحال حیوانات مبتلا به ثبت رسیده است (۱۱، ۱۲). از این رو، محتمل است که عفونت سگ منشأ بیماری برای انسان و دیگر حیوانات باشد.

احتمال انتقال بروسلوز از سگ به دیگر حیوانات و انسان به وسیله پژوهندگان بسیاری مورد بررسی قرار گرفته است. Roux دفع بایوار *B. melitensis* از ادرار یک سگ را مسئول عفونت بسیاری از گله‌های گوسفند در شمال فرانسه و سوئیس ذکر نموده است (۱۳). سگ ماده‌ای که دچار سقط جنین شده بود مسئول بروسلوز فردی در تماس با آن شناخته شده است (۱۴).

Ostertag و همکاران بروسلوز ۲ نفر را در ارتباط با بیماری یک سگ گله در وورتمبرگ شمالی گزارش کرده‌اند. در این بررسی موارد متعددی *B. melitensis* از سگهایی با واکنش مثبت سرولوژی جدا گردید (۱۵). Nicoletti و همکاران موردی از انتقال احتمالی عفونت *B. suis* را از یک سگ دچار سقط جنین به یک خانم خانه دار در ماساچوست آمریکا گزارش نموده‌اند (۱۶). Dargein و همکاران بروسلوز ۷ افسر نیروی دریایی را در ارتباط با یک سگ مبتلا به سقط جنین دانسته‌اند (۱۷).

همچنین McCullough بیماری فردی را منتج از سگ بیمار دچار تب و ورم بیضه دانسته است (۱۸). از این رو، بروسلوز ناشی از این باکتریها در سگ از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در گزارش حاضر نتایج بررسیهای سرولوژی و باکتریولوژی عفونت *B. melitensis* در سگهای گله، با جداسازی باکتری بروسلوز برای اولین بار در ایران، ارائه می‌شود.

مواد و روش بررسی

نمونه‌های سرم

در مجموع ۱۱۲ نمونه سرم سگ از ۱۱ گله گوسفند آلوده به بروسلوز جمع‌آوری و به شبکه دامپزشکی آذربایجان شرقی (تبریز) ارسال گردید. نمونه‌های سرم در یخچال ۴ درجه سانتیگراد حفظ شده و در همان روز یا ۱ تا ۲ روز بعد از نمونه‌گیری مورد آزمایش قرار گرفت.

سرولوژی

آزمایش رزبنگال (RBPT)

پادگن رزبنگال برطبق روش توصیه شده سازمان جهانی بهداشت (۱۹، ۲۰) در مؤسسه رازی تولید و استاندارد شده است. مقدار ۰/۰۳ میلی‌لیتر پادگن با ۰/۰۳ میلی‌لیتر سرم مخلوط شده و پس از ۴ دقیقه حرکت چرخشی نتیجه آزمایش به صورت مثبت یا منفی ثبت گردید.

آزمایش سروآگلوتیناسیون (SAT)

پادگن مصرفی برطبق استانداردهای بین‌المللی (۱۹، ۲۰) در مؤسسه رازی تهیه شده است. رقتهای سریال سرم از ۱/۲ تا ۱/۱۶ با استفاده از آب نمک ۰/۰۵ حاوی ۰/۵٪ فنل تهیه شده و حجم مساوی پادگن به آن افزوده می‌شود. میزان ۵۰٪ آگلوتیناسیون یا بیشتر در رقت ۱/۲ سرم (۱۰۰ واحد بین‌المللی) یا بالاتر به عنوان واکنش مثبت در نظر گرفته شد.

آزمایش ۲-مرکاپتواتانول (2-MET)

این آزمایش با استفاده از روش استاندارد توصیف

شده به وسیله Alton و همکاران (۱۹) و Brinley و Morgan و همکاران (۲۱) انجام پذیرفته، در ارتباط با SAT تفسیر شده، و ۵۰٪ آگلوتیناسیون یا بیشتر در رقت ۱/۲ سرم به عنوان واکنش مثبت تلقی گردید.

باکتریولوژی

چهار سگ با واکنش سرولوژی مثبت کشتار شدند. از هر حیوان عقده‌های لنفاوی پاروتید، زیرفکی، پشت حلقی، پیش‌کتنی، ایللیاک، مدیاستن، مغابنی، و مزانتریک توأم با نمونه‌هایی از کبد، ریه‌ها، کلیه‌ها، طحال و بیضه‌ها به طور استریل برداشت شده و به مؤسسه رازی ارسال گردید. هر عقده لنفاوی و دیگر اعضای داخلی بر روی ۳ تا ۴ بوآت دوپتری حاوی سرم دکستروز آگار با آنتی‌بیوتیک کشت شده و به مدت ۴ تا ۷ روز در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد. از پرگنه‌های بروسلوز مجدد به عمل آمده و برطبق روش ارائه شده به وسیله Corbel و همکاران تایپینگ گردید (۲۲).

نتیجه

نتایج آزمایشهای سرمی ۱۱۲ سگ از ۱۱ گله گوسفند آلوده به *B. melitensis* در جدول شماره ۱ خلاصه شده است. نسبت واکنش در آزمایش رزبنگال (۲۰/۵۳٪) بالاتر از SAT (۱۶/۹۶٪) و 2-MET (۶/۲۵٪) بوده است. در تفسیر نهائی ۴ سگ (۳/۵۷٪) واکنش مثبت سرولوژی نشان دادند. تیتراهای انتهایی این حیوانات در SAT و 2-MET در جدول شماره ۲ نشان داده شده است.

باکتری بروسلوز از کشت عقده‌های لنفاوی و دیگر اعضای تمامی این سگها جدا گردید (جدول ۲).

اکثر باکتریها به ترتیب از عقده‌های لنفاوی پشت حلقی و مزانتریک، طحال و کبد جدا شدند. تمامی کشته‌ها در ارتباط با حساسیت به رنگهای تیونین و فوشین، عدم تولید گاز H_2S ، واکنش با آنتی‌سرم بروسلوز و عدم حساسیت به فائز Tb به عنوان بایواریک *B. melitensis* شناخته شد. این جداسازی در تاریخ

جدول ۲ - تیتراهای انتهائی ۴ سگ مبتلا به بروسلوز در آزمایشهای سرمی

شماره حیوان	HBPT	SAT	2-MET	گشت بروسلا
۱	+	۱/۳۰	۱/۳۰	مثبت
۲	+	۱/۳۰	۱/۳۰	مثبت
۳	+	۱/۸۰	۱/۴۰	مثبت
۴	+	۱/۸۰	۱/۴۰	مثبت

جدول ۱ - نتایج آزمایشهای سرمی بروسلوز در ۱۱۲ سگ گله

	2- MET			SAT			RBPRT	
	≥ ۱:۲۰	< ۱:۲۰	-	≥ ۱:۴۰	< ۱:۴۰	-	+	-
تعداد موارد آزمایش شده	۴	۳	۱۰۵	۴	۱۵	۹۳	۲۳	۸۹
تعداد موارد واکنش دهنده		۷			۱۹		۲۳	
میزان درصد		۶/۲۵			۱۶/۹۶		۲۰/۵۳	

Geneva

- 20- Alton, G.G; Jones, L.M; Angus, R.D; & Verger, J.M; 1988, Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris
- 21- Brinley Morgan, W.J; McKinnon, D.J; Gill, K.P. w; Gower, S.G.M; & Norris, P.I. W; 1978, Brucellosis diagnosis. Standard laboratory techniques. Ministry of Agriculture, Fisheries and food. MaFF Publ. RVC 21, reprinted 1981
- 22- Corbel, M.J; Gill, K.P.W; & Thomas, Ee.L; 1978, Methods for the identification of brucella. Ministry of Agriculture, Fisheries and Food, London. MAFF publ. RVC 22
- 23- Kaveh, M; 1952, Brucellosis in general. Revue Fac. Vét. Méd. Téhéran, 1(13), 15
- 24- Keyhani, M; & Entessar, F; 1969, Epidemiological studies on human brucellosis in Iran and the identification by bacteriophage. Arch. Inst. Razi, 21,97
- 25- Sabbaghian, H; & Nadim, A; 1974, Epidemiology of human brucellosis in Isfahan, Iran. J.Hyg. Camb. 73,221
- 26- Zowghi, E; & Ebadi, A; 1982, Typing of brucella strains isolated in Iran. Arch. Inst. Razi, 33,109
- 27- Zowghi, E; Ebadi, A; & Vandyousefi, Dj; 1984, Investigations bacteriologiques sur la brucellose bovine, ovine et caprine en Iran. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 3(3), 583
- 28- Zowghi, E; & Ebadi, A; 1985, Naturally occurring *Brucella melitensis* infection in cattle in Iran. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 4(4), 811
- 29- Zowghi, E; & Ebadi, A; 1986, A survey on human brucellosis "Malta Fever" in Iran (Serological and bacteriological investigations). Arch. Inst. Razi, 37,69
- 30- Zowghi, E; & Ebadi, A; 1988, Brucellosis in camels in Iran. Rev. sci. tech. Off. int. Epiz. 7(2), 383
- 31- Forbes, L.B; 1990, *Brucella abortus* infection in 14 farm dogs. J.Am. Vet. Med. Assoc. 196(6), 911
- 32- Scalan, C.M; Pidgeon, G.L; Richardson, B.E; Buening, G.M; and Kempainen, R.J; 1989, Experimental infection of dogs with *Brucella abortus*: effect of exposure dose on serologic responses and comparison of culture methods. Cornell Veterinarian 79(1), 93
- 33- Islamov, R.z; 1973, Transmission of *Brucella melitensis* to the offspring of dogs. Veterinaria Moscov 12,62
- 34- Feinhaken, D; 1980, Identification of brucella isolates in Israel. Israel J.Med.Sci. 16(6) 468
- 35- Galiero, G; Blasio, E.De; Carlucci, D; & Bartoli, M; 1991, The dog and ovine-caprine brucellosis. Selezione Veterinaria 32(10), 1515
- 36- Henderson, R.J; & Hill, D.M; 1972, Subclinical brucella infection in man. British Medical Journal iii,154

infolge Abortus Bang. Monatshefte für veterinärmedizin 7,152

- 3- Ehrlein, H.J; Schimmelpfennig, IR; & Bisping, W; 1963, Ein Beitrag zur Brucellose des Hundes. Deutsche Tierärztliche wochenschrift 70,353
- 4- Phillippon, A; Roumy, B; & Renoux, G; 1969, Un cas de brucellose canine à *Brucella abortus*. Bulletin de L'Academic Veterinaire de France 42,823
- 5- Taylor, D.J; Renton, J.P; & McGregor, A.B; 1975, *Brucella abortus* biotype 1 as a cause of abortion in a bitch. Vet. Record 96,428
- 6- Bicknell, S.R; Bell, R.A; & Richards, P.A; 1976, *Brucella abortus* in the bitch. Vet. Record 99,85
- 7- Srinivasan, V.K; Nedunchellian S; & Venkataraman, K.S; 1992, Seroepidemiology of canine brucellosis in Madras city. Indian Vet.J. 69,978
- 8- McErlean, B.A; 1966, Undulating fever, posterior paresis and arthritis in a dog apparently due to brucellosis. Vet. Record 79,567
- 9- Clegg, F. G; & Rorrison, J.M; 1968, *Brucella abortus* infection in the dog: a case of polyarthrits, Research in veterinary science 9,183
- 10- Hall, R.F; 1974, A case of open brucellosis in the dog. Vet. Record 94,454
- 11- Prior, M.G; 1976, Isolation of *Brucella abortus* from two dogs in contact with bovine brucellosis. Canad.J.Comp. Med. 40,117
- 12- Bicknell, S.R; & Bell, R.A; 1979, *Brucella abortus* in the bitch: subclinical infection associated with urinary excretion. J.Hyg. Camb. 82,249
- 13- Roux, J; 1991, Public health importance of brucellosis. Symposium on brucella and brucellosis in man and animals. 24-26 Sept. 1991, Izmir, Turkey
- 14- Nenzani; 1935, Cited by feldman, W.H; Bollman, J.L; & Olson, C; 1935, Experimental brucellosis in dogs. J.Infect. Dis. 56,321
- 15- Ostertag, H.G; & Mayer, H; 1958, Epidemic of Malta fever. Rhindertubek. U. Brucellose 7,57. abstracted. Vet. Bull. 28, 2759(1958)
- 16- Nicoletti, P.L; Quinn, B.R; & Minor, P. W; 1967, Canine to human transmission of Brucellosis. New York State J.Med. V.67, No. 21, 2886
- 17- Dargein; & Plazy; 1922, Cited by Nicoletti, r.L; et al, 1967, Canine to human transmission brucellosis. New York state J.Med. V.67, No.21, 2886
- 18- McCullough, N.B; 1964, Brucellosis: Occupational diseases acquired from animals. Ann. Arbor, University of Michigan, School of public Health, P.203
- 19- Alton, G.G; Jones, L.M; & Pietz, D.E; 1975, Laboratory techniques in brucellosis. WHO Monograph Series No.545, 2nd edition, WHO,

۷۲/۵/۱۲ برای اولین بار در ایران به ثبت رسید. متأسفانه، امکان پیگیری موارد دیگر با تیترو سرولوژی ضعیف وجود نداشته است.

بحث

شناسائی *B. melitensis* به عنوان عامل سقط جنین گوسفند و بز در ایران برای اولین بار در سال ۱۳۲۹ به ثبت رسید (۲۳). از آن زمان به بعد بررسیهای متعددی در زمینه بروسلوز ناشی از *B. melitensis* در گوسفند و بز، گاو، شتر و انسان صورت گرفته است (۳۰-۲۴). در بررسی حاضر، با یوواریک *B. melitensis* برای اولین بار از ۴ سگ گله در ایران گزارش شده است. بروسلوز سگ در بسیاری از کشورها تشخیص داده شده و گزارشهای زیادی در زمینه عفونت طبیعی *B. abortus* در این حیوان ارائه گردیده (۶-۱، ۸-۱۲، ۱۴، ۱۵، ۱۷، ۱۸، ۳۱، ۳۲)، لیکن عفونت ناشی از *B. melitensis* بالنسبه نادر است (۱۳، ۳۵-۳۳). در ایران، گوسفند و بز در حد زیادی پرورش داده شده و عفونت *B. melitensis* در بسیاری از نقاط کشور شایع است. از این رو، بیماری ناشی از این باکتری در سگهای گله تعجب آور نیست. شواهد موجود مؤید آن است که سگهای گله با تغذیه از جنینهای سقط شده در گلههای گوسفند به بروسلا آلوده می شوند. احتمال انتقال بیماری از سگ به دیگر حیوانات وجود داشته و به وسیله بسیاری از پژوهندگان مورد بررسی قرار گرفته است. به علاوه، مخاطره بهداشت انسان نیز مطرح است. تماس مستقیم با مواد آلوده به عنوان منشأ عفونت به خوبی شناخته شده (۳۶) و به ویژه کودکان تحت تماس با سگها در معرض مخاطره قرار دارند. از این رو، آزمایش سرمی گلههای گوسفند و حتی سگهای گله حداقل سالی یکبار ضروری بوده و حیوانات مبتلا می بایستی کشتار شوند. نقل و انتقال حیوانات نیز بایستی تحت کنترل قرار گیرد و برنامه واکسیناسیون به طور مرتب انجام شود.

سیاسگزاری

بدینوسیله از راهنماییها و زحمات آقایان دکتر عبادی، دکتر بهروزخواه، دکتر یاراحمدی و خانمها زرین تاج بشیری هاشمی و خدیجه کباری صمیمانه سپاسگزاری می شود. همچنین همکاری آزمایشگاه شبکه دامپزشکی استان آذربایجان شرقی موجب نهایت امتنان است.

منابع مورد استفاده

- 1- Morse, E.V; Ristic, M; Witt, L.E; & Wipe, L; 1953, Canine abortion apparently due to *Brucella abortus*. J.Am.Vet. Med. Assoc. 122,18
- 2- Schwarz, H; 1954, Verwerfen beim Hund