

مقایسه کاربرد پادگنهای تهیه شده از

B. melitensis, *B. abortus*

در نتایج آزمایش‌های سرولوژیک در گوسفند و بز

- دکتر فرامرز طاهری، عضو هیأت علمی دانشکده دامپروری دانشگاه شیراز
- دکتر سعید حسین زاده، عضو هیأت علمی دانشکده دامپروری دانشگاه شیراز
- دکتر مرتضی ذوالانواری، داشت‌اموزنده دانشکده دامپروری دانشگاه شیراز

در امر کنترل و ریشه‌کنی بیماری است، در این تحقیق امکان تشخیص الودگی در گوسفندان و بزها از طریق آزمایش‌های معمول که برروی سرم خون صورت می‌گیرد مورد بررسی قرار گرفته است. با توجه به اینکه پادگنهای استاندارد و متداول از *B. abortus* تهیه می‌شود و احتمال بروز پاسخهای مثبت یا منفی کاذب زیاد است (۴) پادگنهای جدیدی که از *B. melitensis* بدست می‌شود توسط معققین مختلفی مورد استفاده قرار گرفته است. لذا در اینجا نیز مقایسه‌ای بین این دو نوع پادگن صورت گرفته تابتوان کارآبی پادگنهای جدید را مورد ارزیابی قرار داد.

مواد و روش کار

به منظور بررسی سرولوژیکی الودگی گوسفندان و بزها به بروسلوز مجموعاً ۲۵۵ نمونه خون از ۲۰ رأس میش و ۵۳ رأس بز ماده جمع‌آوری گردید و سرم آنها تا زمان انجام آزمایش در فریزر منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. پس از جمع‌آوری کل نمونهای، آزمایش‌های رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول بطور همزمان و با استفاده از دو نوع پادگن مورد نظر برروی آنها انجام شد. هر دو نوع پادگن توسط مؤسسه رازی حصارک و طبق استانداردهای بین‌المللی تهیه شده است. جهت مقایسه کارائی دو نوع پادگن، نتایج بدست آمده از آزمایش‌های سه‌گانه رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول در میان کلید نمونه‌ها و در بین مجموع موارد با آزمون مجذور کای بدهوش پیروسون (Pearson's Chi-Square) و تعیین مقدار P مربوطه Statistics در یک حدود ۲×۲ و با استفاده از نرم‌افزار 3.1 مورد ارزیابی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج

از کل نمونهای سرم گوسفندان در آزمایش‌های رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول که با پادگن آبورتوس

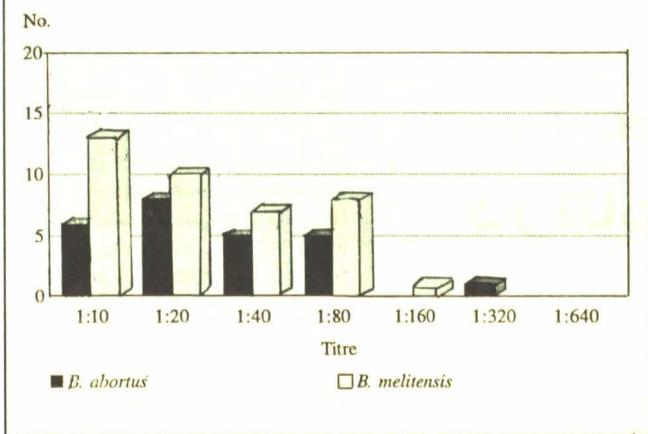
مقدمه و هدف

بروسلوز یکی از بیماریهای عفونی، واگیردار و خطرناکی است که قابل انتقال بین انسان و دام می‌باشد. تظاهرات مشخصه این بیماری در انسان تب مواج و طولانی و در حیوانات اهلی سقط جنین و گاهی نیز عقیم شدن دام نر به خصوص در گاو، گوسفند و بز است. در حال حاضر در بین تمامی بیماریهای قابل انتقال بین انسان و دام این بیماری در جامعه ماز اهمیت ویژه‌ای برخوردار است چراکه از یک طرف بهداشت عمومی را در جامعه انسانی به مخاطره می‌اندازد و از طرف دیگر خسارات اقتصادی فراوانی در صنعت دامپروری به بار می‌آورد (۳). خسارتی که به علت این بیماری در فرآوردهای دامی ایجاد می‌شود اهمیت فوق العاده‌ای دارد که از همه مهمتر سقط جنین در ماههای آخر استثنی می‌باشد. این امر از یک طرف از تعداد زایش‌های سالانه در گله کاسته و تولید دام را کم می‌کند و از طرف دیگر موج نازانی و عفونت رحمی و بعضی مواقع مرگ دام می‌شود (۲). علاوه بر اینها متعاقب سقط جنین، خروج پرده‌های جنینی الوده باعث پراکنندگی و انتشار عامل بیماری در محیط و در نتیجه گسترش بیماری در دامهای و نیز انتقال آن به انسان می‌گردد. در میان گونه‌های مختلف بروسلوز که قابل انتقال از حیوانات به انسان می‌باشد *B. melitensis* که عامل اصلی بروسلوز در گوسفند و بز شناخته می‌شود برای انسان از همه خطرناکتر است (۱). در ایران از یک طرف بازار پسندی و مصرف بیشتر گوشت گوسفند و از طرف دیگر دستیابی به فرآوردهای لبی مطبوعتر که از شیر این حیوان بدست می‌آید سبب توجه بیشتر به نگهداری و پرورش آن شده است. این مستعله در کنار عدم مراقبتهای بهداشتی مناسب دام موجب شده است که بیماری بروسلوز در نقاط مختلف کشور در بین گلهای گوسفند و بز شایع بوده و خسارات اقتصادی شدیدی را به بهداشت عمومی مردم و صنعت دامداری وارد نماید. از آنجاکه شناسایی دقیق دامهای الوده اولین و مهمترین اقدام

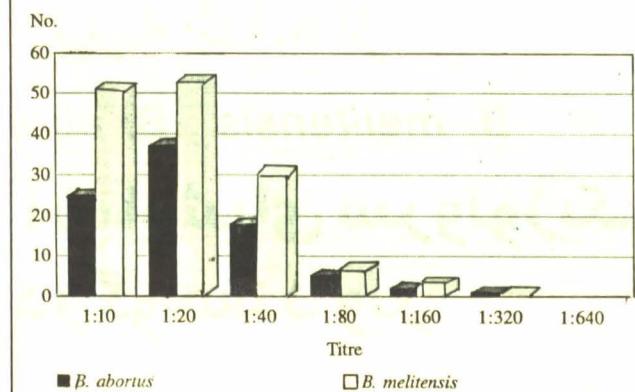
چکیده

جهت بررسی امکان استفاده از پادگن‌های تهیه شده از *B. melitensis* برای شناسایی گوسفندان و بزهای الوده به بروسلوز آزمایش رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول با دو نوع پادگن تهیه شده از *B. melitensis* و *B. abortus* برروی ۲۵۵ نمونه سرم ۲۰ رأس میش و ۵۳ رأس بز ماده) صورت گرفت. از ۲۰۲ نمونه سرم گوسفند در آزمایش‌های رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول با دو نوع پادگن تهیه شده از *B. melitensis* و *B. abortus* ۳۵/۱۴ مورد (۳۵ درصد) و ۲۵ مورد (۷۱، ۹/۹۰) مورد از همین تعداد در آزمایش با پادگن ملی تنیسیس به ترتیب ۱۷ مورد ۵۵/۸ درصد)، ۱۳۲ مورد (۵۵ درصد) و ۳۵ مورد (۱۷/۳۲ درصد) واکنش نشان دادند. از ترتیب ۵۳ نمونه سرم بز نیز در آزمایش‌های رزینکال و رایت با پادگن آبورتوس به ترتیب ۱ مورد (۱/۸۸) درصد) و ۱۷ مورد (۳۲/۷ درصد) واکنش نشان داده ولی در آزمایش -۲- مرکاپتواناتول هیچ مورد واکنش دیده نشد. موارد واکنش با پادگن ملی تنیسیس برروی همین نمونه‌ها به ترتیب عبارت بودند از ۱ مورد (۱/۱ درصد) و ۴ مورد (۷/۵۴ درصد). مجموع موارد برای آزمایش‌های سه‌گانه فوق در بین گوسفندان به ترتیب عبارت بود از ۲۱ مورد (۱۰/۴ درصد) و ۳۸ مورد (۱۸/۸۱ درصد). همین تعداد در بزها به ترتیب عبارت بود از ۱ مورد (۱/۸۸ درصد) و ۳۳ مورد (۶۲/۲۶ درصد) و ۴ مورد (۷/۵۴ درصد) درصد. میزان انطباق نتایج بدست آمده از دو نوع پادگن به ترتیب برای آزمایش‌های رزینکال، رایت و -۲- مرکاپتواناتول در نمونه‌های گوسفندی ۵۷/۹۰ درصد و ۵۳/۳۳ درصد. درصد و در نمونه‌های بزی ۱۰۰، ۵۱/۶ و ۵۱/۶ درصد تعبیین گردید. بدین ترتیب می‌توان چنین نتیجه گرفت که پادگن تهیه شده از *B. melitensis* در شناسایی الودگی گوسفند و بز با آزمایش رایت چه در بین کلید نمونه‌ها و چه در بین مجموع موارد، برتری مشهودی دارد که از نظر آماری نیز معنی دار است (P<0.0001). این پادگن در آزمایش -۲- مرکاپتواناتول تنها در بین مجموع موارد *B. abortus* واکنش موفق نر از پادگن نهاد است (P=0.0003). نهایتاً می‌توانیم توصیه کرد که آزمایش رزینکال برای گوسفند و بز با پادگن آبورتوس و آزمایش‌های رایت و -۲- مرکاپتواناتول با پادگن ملی تنیسیس انجام یذیرد.

نمودار شماره ۲ - مقایسه نتایج آزمایش ۲- مرکاپتواتانول باستفاده از دو نوع پادگن



نمودار شماره ۱ - مقایسه نتایج آزمایش رایت با استفاده از دو نوع پادگن



این ارزیابی از محدودیتهای برخوردار است و یک آزمایش سرمی به تنهایی قادر به تعیین وضعیت دام تحوّاه بود (۳). تا به امروز آزمایشهای سرولوژیکی متعددی برای تشخیص بروسلوز مورد استفاده قرار گرفته که بر روی مواد مختلفی نظری سرم خون، آب پنیر، ترشحات مهبل و مایع منی انجام می‌گیرند (۴). با توجه به تحقیقات موجود، شواهدی که نشان دهنده کارآمد بودن آزمایشهای تشخیصی سرولوژیک مختلف در گوسفند و بز باشد محدود می‌باشد. در بعضی موارد از حیوانات با واکنش‌های سرولوژیک مشتبه باکتری بروسلوز جاذب‌نمایی‌گردد و از طرف دیگر نیز ممکن است در دامهای الودهای که باکتری از آنچه جدا شده است هیچگونه تیتر پادتن مشاهده نشود (۶) و یا اینکه تعدادی از نمونه‌ها که در آزمایشهای رایت و ۲-مرکاپتواتانول دارای تیتر هستند و بعضی تیترهای بالاتی نیز نشان می‌دهند در آزمایش رزینگال منفی باشند. بدھاطر اهمیت فراوانی که *B. melitensis* در

ملی‌تنسیس در آزمایش رایت در بین کلیه موارد و نیز در بین مجموع موارد واکنش دهنده معنی‌دار است (۱) (۰/۰۰<P) ولی در آزمایش ۲-مرکاپتواتانول تنهای بین مجموع موارد واکنش دهنده معنی‌دار می‌باشد (۰/۰۰<P) و پادگن ملی‌تنسیس موارد بیشتری را مشخص نموده است. تفاوت دو پادگن آبورتوس و ملی‌تنسیس در آزمایش رزینگال در بین کلیه نمونه‌ها و در بین مجموع موارد معنی‌دار نبوده است (جدول ۴).

بحث

بروسلوز در حیوانات اغلب دارای دوره کمون نسبتاً طولانی بوده و پس از ابتلاء اولیه، سقط جنین تنها تظاهر بالینی بیماری است ولی اغلب حیوانات تنها یک بار سقط جنین می‌کنند. بدنبال حضور میکروگارانیزمهای در بدن، برعکیه آنها پادتن بوجود می‌آید که می‌تواند جهت تشخیص حیوان آلوهه مورد ارزیابی قرار گیرد.

به عمل آمد به ترتیب ۳۵/۱۴، ۹/۹۰ و ۱۲/۳۷ درصد از نمونه‌ها واکنش نشان دادند. از همین تعداد در آزمایشهای که با پادگن ملی‌تنسیس انجام شد به ترتیب ۸/۴۱، ۵۵/۹۴ و ۱۷/۲۲ درصد واکنش نشان دادند (جدول ۱). از میان نمونه‌های سرم بز در آزمایشهای رزینگال و رایت با پادگن آبورتوس به ترتیب ۱/۸۸ و ۳۲/۰۷ درصد واکنش نشان دادند. ولی در آزمایش ۲-مرکاپتواتانول همین آزمایش‌ها با پادگن ملی‌تنسیس بد ترتیب عبارت بود از ۱/۸۸، ۶۲/۲۶ و ۷/۵۴ درصد (جدول ۱).

بطور کلی تعداد نمونه‌های واکنش دهنده در بین سرم گوسفندان که حداقل با یک نوع پادگن حواب مثبت داده‌اند برای آزمایشهای رزینگال، رایت و ۲-مرکاپتواتانول به ترتیب بود از ۲۱ مورد (۰/۴۰ درصد) و ۳۸ مورد (۵۹/۴۰ درصد) و ۶۲/۲۶ (۱۸/۰۷ درصد). همین تعداد برای نمونه‌های سرم بز عبارتند از: ۱ مورد (۱/۸۸)، ۳۳ مورد (۱/۸۸ درصد) و ۴ مورد (۷/۵۴ درصد). میزان انتباق نتایج و یا بد عبارت دیگر مواردی که توسط هر دو نوع پادگن در آزمایشهای رزینگال، رایت و ۲-مرکاپتواتانول واکنش نشان داده‌اند برای نمونه‌های گوسفندی به ترتیب ۱۶ مورد (۷۶/۲۰ درصد)، ۴۴ مورد (۵۳/۳۳ درصد) و ۲۲ مورد (۵۷/۹۰ درصد) و برای نمونه‌های بزی بترتیب ۱ مورد (۱۰/۰ درصد)، ۱۷ مورد (۵۱/۵۱ درصد) و صفر مورد است (جدول ۱).

نتایج آزمایش سرواگلوبتیناسیون رایت و ۲-مرکاپتواتانول که با پادگنهای آبورتوس و ملی‌تنسیس صورت گرفته است براساس میزان تیتر سرمی دستبینی شده و در جدول‌های شماره ۲ و ۳ آمده است. در آزمایش رایت با هر دو نوع پادگن آبورتوس و ملی‌تنسیس بیشترین موارد تیتر ۱:۲۰ را داشته‌اند (نمودار ۱). در آزمایش ۲-مرکاپتواتانول با پادگن آبورتوس بیشترین موارد مربوط به تیتر ۱:۲۰ و با پادگن ملی‌تنسیس مربوط به تیتر ۱:۱۰ می‌باشد (نمودار ۲).

بررسی‌های آماری به عمل آمده بر روی نتایج نشان می‌دهد که تفاوت بین دو پادگن آبورتوس و

جدول شماره ۱- تعداد و درصد^{*} موارد واکنش دهنده در آزمایشهای مختلف به تفکیک نوع حیوان

نوع حیوان (تعداد نمونه)	مجموع	
	(۲۵۵)	(۵۳)
۱۶/۲۳(۲۱)	(۱/۱۸۸)۱	(۹/۹۰)۲۰
۳۴/۵۱(۸۸)	(۳۲/۰۷)۱۷	(۳۵/۱۴)۷۱
۹/۸۰(۲۵)	(۰)۰	(۱۲/۳۷)۲۵
۷/۰۶(۱۸)	(۱/۱۸۸)۱	(۸/۴۱)۱۷
۵۷/۲۵(۱۴۶)	(۴۲/۱۶)۲۳	(۵۵/۹۴)۱۱۳
۱۵/۲۹(۳۹)	(۷/۵۴)۴	(۱۷/۳۲)۳۵
۸/۰۰(۲۲)	(۱/۱۸۸)۱	(۱۰/۴۰)۲۱
۵۰/۰۰(۱۵۳)	(۴۲/۲۶)۲۳	(۵۹/۴۰)۱۲۰
۱۶/۴۷(۴۲)	(۷/۵۴)۴	(۱۸/۸۱)۳۸
۷۷/۲۷(۱۷)	(۱۰۰)۱	(۷۶/۲۰)۱۶
۵۲/۹۴(۸۱)	(۵۱/۵۱)۱۷	(۵۳/۷۳)۶۴
۵۲/۳۸(۲۲)	(۰)۰	(۵۷/۹۰)۲۲

* درصدها در پرانتز است.

** = مواردی که حداقل با یکی از دو پادگن واکنش داشته‌اند.

*** = مواردی که با هر دو پادگن واکنش داشته‌اند.

و ازکلیه کسانی که به نوعی در انجام این تحقیق مساعدت و مشارکت داشته‌اند تشکر می‌نمایند.
این تحقیق در قالب طرح پژوهشی شماره ۷۲-VE-۷۸۷-۴۳۶ دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز بد انعام رسیده است. بدینوسیله از شورای محترم پژوهشی دانشگاه شیراز قدردانی بعمل می‌آید.

منابع مورد استفاده

- ۱- بدرو ان اکا- ترجمه ذوقی، اسمعیل ۱۳۶۸ زئونوزها و سیماریهای قابل انتقال مشترک بین انسان و حیوانات. انتشارات جهاد دانشگاهی دفتر مرکزی تهران.
- ۲- غفری شوریجید، سردار. ۱۳۶۶ آپیدیمولوژی بروسلوز، وصیعت بیماری در شیراز و خومه. سمبوزیوم بروسلوز، کومان
- ۳- ذوقی، اسمعیل. ۱۳۶۹ تحقیقاتی درباره بروسلوز سازمان تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی، تهران.

- ۴- Alton, G.G., 1990, *Brucella melitensis*. In: Nielsen, K. and Duncan, J.R., Animal brucellosis. CRC Press, Florida: 383-504.
- ۵- Haghkhah, M., Shekarforoush, Sh. and Karimi, I., 1995, A survey on the incidence

می‌دهند (۷). در بررسی حاضر نیز در آزمایش رایت چه در بین کلید نمونه‌ها و چه در بین مجموع موارد، پادگن *B. melitensis* جواههای مثبت بیشتری را در مقابله با پادگن آبورتوس داشته است (۱۰/۰۰۰) (P<۰/۰۰۰). نتایج حاصل از آزمایش ۲- مرکاپتوانول در مجموع موارد نیز نشان می‌دهد که پادگن ملی تنفسی موارد مثبت بیشتری را نسبت به پادگن آبورتوس تشخیص می‌دهد (P=۰/۰۰۰۳). اما نتایج ازماش رزینگال که با نوع پادگن انجام شده تفاوت معنی داری را نشان نمی‌دهد. در صورتیکه Refai و Salem براز آزمایش رزینگال هم پادگن ملی تنفسی را بهتر از پادگن آبورتوس معرفی کرده‌اند (۷). شاید این مستلزم باطری سویه‌ای از *B. melitensis* باشد که در تهیه پادگن رزینگال بکار رفته است چون حتی الامکان سعی می‌شود که از سویه‌های محلی در تهیه پادگن استفاده شود. پادگن مورد استفاده در تحقیقات Refai و Salem بروه است و این بایوتایپ از ۳ *B. melitensis* باشد که قبلًا همین آزمایش‌ها نیز برروی گلدهای صورت گرفته است. در ایران بایوتایپ ۱ از دامهای آسوده آن جدا شده است. در ایران بایوتایپ ۱ و ۲ بد عنوان بیشترین بایوتایپ جدا شده از *B. melitensis* گزارش شده است (۸).

۵- Haghkhah, M., Shekarforoush, Sh. and Karimi, I., 1995, A survey on the incidence

جدول شماره ۲- موارد واکنش دهنده در آزمایش «رایت» براساس عیار پادگن

درصد	تعداد	آبورتوس		نوع پادگن عیاریادتن
		ملی تنفسی	درصد	
۲۰/۰۰	۵۱	۹/۸۰	۲۵	۱۱۰
۲۰/۷۸	۵۳	۱۴/۵	۳۷	۱۲۰
۱۲/۱۵	۲۱	۷/۵	۱۸	۱۴۰
۲/۷۴	۷	۱/۹۶	۵	۱۸۰
۱/۱۷	۳	۰/۷۸	۲	۱۱۶۰
۰/۳۹	۱	۰/۳۹	۱	۱۲۲۰
*	*	*	*	۱۶۴۰
۵۷/۲۵	۱۴۶	۲۴/۵۰	۸۸	جمع

بهداشت عمومی و الودگی‌های دامی دارد. تشخیص آن توسط آزمایشهای معمول سرولوژیک که آسان و ارزان باشند از اهمیت سزاگی برخوردار است لذا ضرورت بالا بردن میزان اعتیار آزمایش‌هایی نظری رزینگال، رایت و مرکاپتوانول احساس می‌کردد. از سوی دیگر این امکان نیز وجود دارد که بتوان از پادگن *B. melitensis* در انجام آزمایش‌های معمول سرولوژیک بیویه در گوسفند و بزرگ میزان‌های طبیعی این میکروب می‌باشند، استفاده کامل تر و بهتری نمود. اختلاف در تیترهای بسته آمده از آزمایش‌های رایت و

مرکاپتوانول ناشی از یکسری عوامل داخلی (مربوط به بد آزمایش) و یکسری عوامل خارجی (مربوط به وضعیت حیوان) می‌باشد که با درنظر گرفتن آنها می‌توان تا حدودی این اختلافات را راقابل توجیه و منطقی دانست.

بطور کلی از مجموع نتایج بسته آمده چنین استنباط می‌شود که موارد مثبت در آزمایش رزینگال که با پادگن آبورتوس انجام شده است چه از لحاظ تعداد و چه از لحاظ شدت اگلولتیناسیون بیشتر و اشکارتر از آزمایش رزینگال با پادگن ملی تنفسی می‌باشد ولی در مورد آزمایش‌های سروآگلولتیناسیون رایت، ۲- مرکاپتوانول چنین برمری اید که با پادگن ملی تنفسی موارد نسبت به پادگن آبورتوس بهتر شناسایی شده و در تیترهای بالاتری مشخص می‌گردد.

مصر انجام شد نشان دادند که هر سه آزمایش رزینگال، رایت و ۲- مرکاپتوانول با پادگن ملی تنفسی جوابهای مثبت بیشتری از پادگن آبورتوس بسته

جدول شماره ۳- موارد واکنش دهنده در آزمایش «مرکاپتوانول» براساس عیار پادگن

درصد	تعداد	آبورتوس		نوع پادگن عیاریادتن
		ملی تنفسی	درصد	
۵۰/۹۸	۱۳	۲/۲۵	۶	۱۱۰
۳/۹۲	۱۰	۳/۱۳	۸	۱۲۰
۲/۷۴	۷	۱/۹۶	۵	۱۴۰
۲/۱۳	۸	۱/۹۶	۵	۱۸۰
۰/۳۹	۱	۰	۰	۱۱۶۰
*	*	۰/۳۹	۱	۱۳۲۰
*	*	۰	۰	۱۶۴۰
۱۵/۲۹	۳۹	۹/۸۰	۲۵	جمع

برروی کشت شیرمیش‌ها و بزهای مورد مطالعه در این بروی صورت گرفت تنهای بایوتایپ ۱ راکتری مورد استفاده در پادگنهای رزینگال و جدا شد. باکتری مورد استفاده در پادگنهای رزینگال و رایت این تحقیق نیز از سویه ۱ بایوتایپ ۱ تهیه شده است. در مجموع می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که انجام آزمایش رزینگال با پادگن آبورتوس برای غربالگری و سپس آزمایشات رایت و ۲- مرکاپتوانول با پادگن ملی تنفسی نتیجه را بدست موارد مثبت در گوسفند و بزرگترین نتیجه را داد.

تشکر و قدردانی

ضمن تقدیم صمیمانه‌ترین تشکرات خود به جناب آقای دکتر اسمعیل ذوقی که پادگنهای جدید تهیه شده از *B. melitensis* را در اختیار ما قرار دادند، نگارنده مقاله از زحمات خانمها فرج فراست و فرزانه رضایی مهر که تحریر کامپیوتری متن را انجام داده‌اند قدردانی کرد

of the infection rate of sheep and goats milk with brucella in Shiraz. Presented at the 8th International congress of geographic medicine and the 3rd Iranian congress of Immunology and allergy, Shiraz, Iran.

6- Laing, J. A., 1979, Fertility and infertility in domestic animals. 3rd ed. Bailliere Tindall, London: 171-194.

7- Salem, S.F. and Refai, M., 1992, Comparison between *B. abortus* and *B. melitensis* antigens in agglutination tests for brucella diagnosis. Vet. Bull. 6(62): 522 [Abst. 2965].

8- Zowghi, E. and Ebadi, A., 1982, Typing of brucella strains isolated in Iran. Arch. Inst. Razi. 33:109-114.