

بررسی میزان شیوع و شدت آلودگی به باکتری های بروسلا ملی تنسیس (*Brucella melitensis*) و بروسلا آبورتوس (*Brucella abortus*) در گوسفندان و گاوهای مناطق روستایی شهرستان تویسرکان، همدان

مریم رضایی^{۱*}، امیر زارع^۲، اسماعیل سوری^۲، یوسف خمیس آبادی^۲، الهام شیخ رسولی^۲، شقایق ملامیر^۲

۱ - استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور مرکز تویسرکان، تویسرکان، ایران.

۲ - دانشجوی دوره کارشناسی مهندسی کشاورزی، دانشگاه پیام نور مرکز تویسرکان، تویسرکان، ایران.

* نویسنده ی مسئول : re.mari@yahoo.com

چکیده

بروسلا یک کوکوباسیل گرم منفی با اندازه کوچک است که به عنوان عامل بیماری بروسلوز تلقی می شود. این باکتری از طریق غشاء مخاطی وارد بدن می شود و توسط جریان خون به اندام هایی مثل کبد، طحال، مغز استخوان و کلیه ها می رسد و منجر به بروز بیماری می گردد. گونه ای از بروسلا به نام بروسلا آبورتوس باعث عفونت جفت و جنین در گاو و همچنین منجر به سقط جنین در گاو می شود. محصولات لبنی حاصل از شیر گاو و گوسفند به عنوان یکی از منابع مهم غذایی پر مصرف مطرح می باشد که با توجه به احتمال انتقال بیماری به انسان از اهمیت ویژه ای برخوردارند. در این مطالعه، ۳۰۰ نمونه شیر از روستاهای شهرستان تویسرکان در پاییز ۱۳۸۸ جمع آوری شد. نمونه های شیر برای بررسی وجود بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس مورد آزمایش تست حلقه ی شیر (MRT) قرار گرفتند. در رابطه با باکتری بروسلا آبورتوس، ۲۱ نمونه (۱۴ درصد) و باکتری بروسلا ملی تنسیس ۱۸ نمونه (۱۲ درصد) نسبت به این تست واکنش مثبت نشان دادند. با توجه به یافته های فوق، میزان شیوع این بیماری در بین دامهای این منطقه تقریباً بالا گزارش می شود. بنابراین، به منظور ریشه کنی بیماری و کاهش زیان های اقتصادی ناشی از آن و همچنین حفظ سلامت انسان نیاز به اتخاذ تصمیمات مناسب و اقدامات پیشگیرانه می باشد.

واژگان کلیدی: بروسلا آبورتوس، گوسفند، آزمون حلقه ی شیر (MRT)، بروسلا ملی تنسیس، گاو

مقدمه

جنین، مرده زایی و تولد گوساله های ضعیف می شود ولی معمولاً پس از اولین سقط جنین، گاو مبتلا، آبستنی های طبیعی خواهد داشت ولی باکتری از طریق شیر و ترشحات رحمی می تواند دفع شود. در اغلب منابع زیان های اقتصادی بیماری را شامل کاهش شیر دام به میزان ۲۰ تا ۲۵ درصد طی یک دوره ی شیر آوری، سقط جنین به تعداد ۲ تا ۳ مرتبه در دوران عمر اقتصادی دام، عقب افتادگی بارداری به طور متوسط ۳ تا ۴ ماه و عقیمی و نازایی در ۱۰ درصد مبتلایان می دانند (۹). شایع ترین راه انتقال بیماری مصرف مواد لبنی آلوده یا استنشاق هوای آلوده در محیط های دامی و کشتارگاه ها می باشد ولی بیماری می تواند از طریق جفت به جنین در زمان حاملگی، فرآورده های خونی، شیر مادر، پیوند اعضا و مغز استخوان و سوزن هنگام تزریق واکسن بروسلا نیز انتقال یابد (۱۰). در کشور ما نیز این بیماری آندمیک است و میزان آن در سال های اخیر افزایش داشته است. این بیماری عوارض ناتوان کننده ی فراوانی داشته که در صورت تاخیر در تشخیص و درمان موجب صدمات جدی و حتی به خطر افتادن حیات بیمار می شود (۱۱). بروسلاز ممکن است موجب افت چشمگیر در سرمایه های اقتصادی شود (۱۲). براساس آمار اداره کل بیماری های واگیر، سالیانه حدود ۵۰ هزار مورد آلودگی به بروسلا گزارش می شود و در بیشتر استان های کشور آلودگی وجود دارد. در سال ۱۳۸۳ تعداد ۲۱۴۵۴ مورد شناخته شده تب مالت به این مرکز گزارش شده است که بالاترین موارد به ترتیب از استان های خراسان، همدان، آذربایجان غربی، کردستان، لرستان، فارس و آذربایجان شرقی بوده است (۱۳).

بروسلاز یا تب مالت، بیماری عفونی سیستمیک و پیشرونده ای است که در منطقه ی مدیترانه یک مشکل جدی بهداشتی محسوب می گردد (۱). عامل این بیماری، باکتری های جنس بروسلا می باشد که انگل اختیاری درون سلولی و جزء باکتری های گرم منفی هستند (۲) و معمولاً از حیوانات یا فرآورده های حیوانی آلوده به انسان منتقل می شود (۳).

جنس بروسلا بر اساس تنوع آنتی ژنی و میزبان اولیه شامل ۷ گونه ی بروسلا ملی تنسیس (در گوسفند و بز)، بروسلا سوئیس (در خوک)، بروسلا آورتوس (در گاو)، بروسلا اوئیس (در گوسفند)، بروسلا کانیس (در سگ)، بروسلا نئوتومه (در موش جنگلی) و بروسلا ماریس (در پستانداران دریایی) می باشد (۴،۵). مهم ترین گونه بروسلا در نشخوارکنندگان کوچک بروسلا ملی تنسیس است. گوسفند و بز نسبت به این جنس بسیار حساس هستند اگرچه گاو نیز ممکن است به این گونه از بروسلا مبتلا شود. بروسلا آورتوس و بروسلا اوئیس هم می توانند در گوسفند ایجاد سقط نمایند (۶). مهمترین منبع آلودگی در افراد در معرض خطر، بافت های آلوده حیوانی و در سایر افراد جامعه، مصرف شیر و محصولات لبنی آلوده است. گوسفند، بز، گاو، گاومیش و شتر مبتلا، به طور متناوب در تمام دوره شیرواری، میکروارگانسیم را از شیر خود دفع می نمایند بنابراین مصرف شیر غیر پاستوریزه و مشتقات آن اگر از حیوان آلوده تهیه شده باشد انسان را در معرض خطر جدی عفونت به بروسلا ملی تنسیس و بروسلا آورتوس قرار می دهد (۷،۸). بروسلا آورتوس در گاو باعث سقط

و نمونه ها به منظور عملیات آزمایشگاهی به آزمایشگاه دانشگاه پیام نور مرکز تویسرکان منتقل گردید. به منظور اخذ شیر ابتدا با استفاده از الکل نوک پستان دام را ضدعفونی شد و از ظروف استریل برای نگهداری و انتقال شیرهای دوشیده شده استفاده شد. نمونه های شیر به آزمایشگاه منتقل و آزمون حلقه ی شیر (MRT) مطابق روش مورگان و همکارانش (۱۹۷۸) بر روی آن ها انجام گرفت (۱۴). در ادامه یک میلی لیتر از شیر را در یک لوله آگلوتیناسیون ریخته شد به طوری که ستونی از شیر به ارتفاع تقریبی ۲ سانتیمتر تشکیل شود، سپس ۰/۰۳ میلی لیتر از آنتی ژن بروسلا (تهیه شده از انستیتو پاستور ایران) به آن اضافه شد، محتویات لوله را به مدت یک دقیقه پس از افزودن آنتی ژن به آرامی مخلوط می کنیم سپس به مدت ۱ الی ۳ ساعت درون انکوباتور در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد قرار داده شد، نتایج به شرح جدول ۱ ثبت شده است.

شهرستان تویسرکان که در جنوب کوه الوند و شهر همدان واقع شده است با مساحتی معادل ۱۵۵۶ کیلومتر مربع، طبق سرشماری سال ۱۳۷۵ دارای ۱۱۸۹۵۴ نفر جمعیت می باشد. پرورش دام در این منطقه توسط روستاییان صورت می گیرد و بیشتر شامل گوسفند، گاو و بز می شود. اقتصاد این شهرستان بر کشاورزی، دامداری و صنایع استوار شده است بنابراین، امید است این تحقیق با بررسی میزان شیوع این باکتری ها در دام های ناحیه و ارائه اطلاعات آماری لازم، کمکی در جهت بهبود کیفیت شیر و اقتصاد منطقه بنماید.

مواد و روش کار

در مجموع ۳۰۰ نمونه شیر از گوسفندان و گاوهای (با سنین متفاوت)، از روستاهای اطراف شهر گردآوری شد. دام های هر روستا به صورت کاملا تصادفی انتخاب شده و نمونه ها بعد از نمونه برداری در ظروف مخصوص استریل و در مجاورت یخ نگهداری می شدند. نمونه برداری در آذر ماه ۱۳۸۸ صورت پذیرفت

جدول ۱: آزمون MRT نمونه های شیر مطابق روش مورگان و همکاران (۱۹۷۸)

رنگ حلقه	کاملا آبی	تقریباً آبی	کاملاً آبی	آبی کم رنگ - سفید
رنگ ستون شیر	سفید	سفید	سفید	سفید
نتیجه MRT	+++	++	+	- +

نتایج

کل نمونه های اخذ شده (۱۵۰ نمونه شیر گوسفند) تعداد ۱۸ نمونه (۱۲ درصد) مثبت بودند. مقایسه کلی نتایج حاصل از آزمون حلقه ی شیر (MRT) نشان داد که میزان دام هایی که به باکتری بروسلا آبورتوس مبتلا بودند (۱۴ درصد)، به طور نسبی بیشتر از این تعداد در دام هایی بود که از نظر آلودگی به باکتری بروسلا ملی تنسیس (۱۲ درصد) مورد مطالعه قرار گرفتند و به طور کلی میزان آلودگی دام ها به این دو باکتری در این منطقه (۱۳ درصد) مقدار نسبتا بالایی را نشان می دهد.

در مجموع تعداد ۳۰۰ نمونه شیر خام، طی یک دوره دو ماهه در پاییز ۱۳۸۸ از دام های روستائیان مناطق مختلف شهرستان تویسرکان به طور تصادفی و خوشه ای جمع آوری شد و مورد آزمون حلقه ی شیر (MRT) قرار گرفتند. در مورد آلودگی به باکتری بروسلا آبورتوس، از کل نمونه های اخذ شده (۱۵۰ نمونه شیر گاو) تعداد ۲۱ نمونه (۱۴ درصد) از نظر تست MRT مثبت بودند و در رابطه با وجود باکتری بروسلا ملی تنسیس مجددا با آزمون حلقه ی شیر (MRT) از

جدول ۲- نتایج بررسی ها با استفاده از روش آزمون حلقه ی شیر (MRT)

باکتری	تعداد نمونه	نمونه های مثبت (درصد)	نمونه های منفی (درصد)
بروسلا آبورتوس	۱۵۰	(۱۴)۲۱	(۸۶)۱۲۹
بروسلا ملی تنسیس	۱۵۰	(۱۲)۱۸	(۸۸)۱۳۲
جمع کل	۳۰۰	(۱۳)۳۹	(۸۷)۲۶۱

روش انتقال در این افراد از طریق تماس با دام آلوده بوده است. در سال ۱۳۸۵ تعداد افراد مبتلا به این بیماری ۱۴۵ نفر، در سال ۱۳۸۶، ۱۰۲ نفر و در سال ۱۳۸۷، ۱۱۸ نفر گزارش شده است، بنابراین شیوع بیماری تب مالت در سال گذشته در این شهرستان تقریبا افزایش چشم گیری را داشته است.

با مقایسه اطلاعات آماری بدست آمده از اداره بهداشت شهرستان تویسرکان در رابطه با میزان مبتلایان به بیماری تب مالت این شهرستان در ۳ ساله اخیر، مشخص شد اشخاصی که در روستا ساکن بوده اند بیشترین میزان ابتلا به این بیماری را داشته اند و جنسیت این افراد بیشتر مرد گزارش شده است و اکثرا کمتر ۴۰ سال سن داشته اند، همچنین بیشترین میزان

بحث و نتیجه گیری

سلامت شیر و فرآورده های آن به دلیل ارزش بالای غذایی آنها در تغذیه ی انسان از اهمیت بسزایی برخوردار می باشد. بروسلوز (تب مالت)، یکی از بیماری های مشترک (زئونوز) بین انسان و حیوانات است که به صورت حاد، تحت حاد یا مزمن عارض می شود و در انسان معمولا باعث ایجاد تب، تعریق، ضعف، بی حالی و کاهش وزن می گردد. بروسلا با آلوده کردن محصولات لبنی و نیز آسیب رساندن به دام ها، ضررهای اقتصادی جبران ناپذیری را موجب می شود. مواد لبنی با منشا دامی در ایجاد بسیاری از موارد شیوع بروسلوز نقش اساسی داشته و در این ارتباط مهم ترین ماده لبنی پنیر می باشد. بروسلا ملی تنسیس به علت بیماری زایی بیشتر در انسان نسبت به سایر گونه های بروسلا دارای اهمیت ویژه ای می باشد (۱۵). با وجود اینکه بروسلوز یک معضل بزرگ بهداشتی برای انسان و حیوانات اهلی در بسیاری از کشورها محسوب می شود، در حال حاضر واکسن مؤثر و مفیدی برای مصارف انسانی طراحی و تولید نشده است (۱۶، ۱۷).

روش های الیزا، کومبس رایت، هماگلوتیناسیون پاسیو، R.I.A (Radio Immuno Assay) ، ایمونو دیفوزیون (Complement Fixation C.F.T ، و Test) (Polymerase Chain P.C.R. Reaction) در تشخیص قطعی و حتی در تعیین گونه های بروسلا بسیار راه گشا می باشند (۱۸). آنتی ژن تست حلقه ی شیر (MRT) بروسلا یک سوسپانسیون از ارگانسیم کشته شده ی بروسلا آبورتوس رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین می باشد که برای تشخیص وجود آنتی بادی علیه بروسلا در شیر مورد استفاده قرار

می گیرد. این آنتی ژن مطابق با توصیه های FAO و WHO تهیه و با استانداردهای Us Department of Agriculture Brucella Ring Test Antigen برابری می کند (۱۹).

در این مطالعه میزان شیوع بروسلوز در بین گوسفندان منطقه ۱۲٪ و در بین گاوها ۱۴٪ گزارش شده است. همچنین در برخی موارد علائم بالینی و چندین بار سقط جنین توسط یک گوسفند در طی این مطالعه از دامدار گزارش شده است. با توجه به آمار ارائه شده میزان شیوع این بیماری در بین دام ها تقریبا بالا بوده است و ریشه کنی آن از منطقه ضروری می باشد.

شهرستان تویسرکان به علت دارا بودن شرایط جغرافیایی مناسب، در طی سال همیشه محل عبور و مرور دام های وحشی و پذیرای تعداد بیشماری از دام های عشایری (گوسفند و بز) از استان های مجاور می باشد، که این دام ها به علل مختلفی نسبت به دام های بومی استان، از وضعیت بهداشتی و سلامتی کامل و مناسبی برخوردار نیستند و این در کنار عوامل دیگری چون آداب و سنن قدیمی، وضعیت اجتماعی و اقتصادی ضعیف مردم این ناحیه می تواند در افزایش آلودگی گله های سنتی تاثیر گذار باشد. امروزه به خوبی مشخص شده که افزایش موارد انسانی، ناشی از افزایش موارد حیوانی بروسلوز است لذا با توجه به نتایج بدست آمده از این تحقیق و سایر بررسی ها و تحقیقات مشابه در کشور در طی سال های گذشته و نیز مصرف سنتی مواد لبنی و فرآورده های سایر دام های لبنی افزایش تب مالت در جوامع انسانی (استان و کشور) منحصرنا ناشی از مصرف شیر گاو و فرآورده های آن نبوده است و باید تهاجم عفونت بروسلائی و شیوع آن را در حیوانات دیگری چون گوسفند و بز نیز جستجو کرد. علاوه بر کنترل و ریشه

تشکر و قدردانی

در خاتمه لازم است از جناب آقای دکتر حاجی ولیئی ریاست محترم دانشگاه پیام نور مرکز تویسرکان که در اجرای این پروژه تحقیقاتی ما را یاری دادند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشیم. همچنین از همکاری صمیمانه جناب آقای شمس الهی، سپاسگزاری می نمایم.

کنی بروسلوز در حیوانات خصوصا در گوسفند و بز، ضرورت اجرای یک برنامه منسجم به منظور اطلاع رسانی و آموزش همگانی مردم در تمام سطوح و اقشار جامعه، کادر های پزشکی و دامپزشکی، کارخانجات صنایع غذایی و فرآورده های دامی و... بیش از پیش وجود دارد.

1. Corbel, M. J., 1997. Recent advances in brucellosis. *Journal of Medical Microbiology* 46, 101-3.
2. Jawets, M., Melnick, J. L., 1995. Review of medical microbiology, Appelton & Lange Pub, Los Altos, California, pp. 235-237.
3. Corbel, M. J., 1997. Brucellosis: an overview, *Emergency Infectious Disease* 3, 213-218.
4. Diaz, R., Jones, L. M., leong, D., Wilson, J. B., 1968. Surface antigens of smooth *Brucella*. *Journal of Bacteriology* 96, 893-901.
5. Trujillo, I. Z., Zavala, A. N., Caceres, J. G., Miranda, C. Q., 1994. Brucellosis. *Infectious Disease Clinics of North America* 8, 225-41.
6. Minas, A., 2006. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. *Small Ruminant Reaserch* 62, 101-107.
7. Refai, M., 2002. Incidence and control of brucellosis in the Near East Region. *Veterinary Microbiology* 90, 81-110.
8. Zowghi, E., Ebadi, A., 1982. Typing of *Brucella* isolates in Iran. *Archives of Razi* 33, 109-114.
9. Golbabapor, S., 1999. Prospective study of brucellosis in Tehran animal husbandry, research report, Domesticated Animal and Natural Sources Center., pp.43-64. (In Persian).
10. Torre, I., Ribera, G., 1997. A seroepidemiologic survey on brucellosis antibodies in southern Italy, *Infection* 25, 150-153.
11. Hashemi, S. H., Keramat, F., Ranjbar, M., Mamani, M., Farzam, A., Jamal-Omidi, S., 2007. Osteoarticular complications of brucellosis in Hamedan, an endemic area in the west of Iran, *International Journal of Infectious Disease* 11, 496-500.
12. Smits, H. L., Kadri, S. M., 2005. Brucellosis in India, a deceptive Infectious disease, *Indian Journal of Medical Research* 122,375-384.
13. Ministry of Health & Medical Education of Iran., 2004. Annuals reports of Center for Diseases Control. Tehran, pp. 98-102.(In Persian)
14. Cutler, S. J., Whatmore, A.M., and Commander, N. J., 2005. A review: Brucellosis- new aspects of an old disease, *Journal of Applied Microbiology* 98, 1270-1281.
15. Young, E. J., 1995. An overview of human brucellosis, *Clinical Infectious Disease* 21, 283-290.
16. Holt John, G., 1984. *Bergey's Manual of systematic bacteriology*. 1st ed. The Williams & Wilkins Company, Baltimore., pp. 377-88.
17. Parker, M. T., Collier, L. H., 1990. *Topley & Wilson's principles of bacteriology, virology, and immunity*. 8th ed. Mosby., pp. 339-353.
18. Nielsen, K., 2005. Evaluation of serological tests for detection of caprine antibody to *Brucella melitensis*. *Small Ruminant Reaserch* 56, 253-258.
19. Moreno, E., Cloeckert, A., Moriyon, I., 2002. *Brucella* evolution and taxonomy, *Veterinary Microbiology* 90, 209-227.