

تعیین آلودگی شیر خام گاو با باکتری بروسلا آبورتوس در منطقه ایلخچی به روش الیزا

محمد حسین موثق^a

^aاستادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، گروه دامپزشکی، شبستر، ایران

۹۷

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۴/۲۲

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۸۹/۵/۲۳

چکیده

مقدمه: بروسلاز یک بیماری مشترک است که توسط باکتری گرم منفی از جنس بروسلا ایجاد می‌شود. این باکتری در اغلب حیوانات و انسان بیمارزا می‌باشد. بیماری بروسلاز به راحتی از طریق شیر خام آلوده انتقال می‌یابد. علیرغم کنترل این بیماری در اغلب کشورها، بیماری در ایران بصورت اندمیک مشاهده می‌گردد. انتقال باکتری بروسلا از حیوانات آلوده به انسان در اثر تماس شغلی و یا مصرف فرآورده‌های دامی آلوده بخصوص شیر، خامه و پنیر تازه اتفاق می‌افتد. هدف از این مطالعه ارزیابی میزان شیوع آلودگی شیر خام گاو با باکتری بروسلا آبورتوس در منطقه ایلخچی (واقع در جنوب غرب تبریز) بود.

مواد و روش‌ها: برای این مطالعه ۵۰ نمونه شیر خام گاو از مراکز جمع آوری شیر منطقه ایلخچی از مهرماه لغایت آذر ماه ۱۳۸۸ بصورت تصادفی خوشه‌ای اخذ گردید. بر روی نمونه‌ها تست حلقه‌ای شیر با آنتی ژن بروسلا آبورتوس تولیدی توسط موسسه سرم و واکسن سازی رازی و تست الیزا با کیت تشخیصی وجود بروسلا آبورتوس در شیر، تهیه شده توسط شرکت پورکو فرانسه انجام گرفت.

یافته‌ها: آلودگی با باکتری بروسلا آبورتوس در ۵ نمونه (۱۰٪) شیر خام مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج به نظر می‌رسد که این میزان آلودگی در منطقه ایلخچی بالا می‌باشد و لازم است برنامه‌ریزی دقیق و متناسبی برای کنترل آن صورت پذیرد.

واژه‌های کلیدی: الیزا، ایلخچی، بروسلا آبورتوس، شیر خام

مقدمه

بروسلوز بیماری عفونی است که توسط میکروب‌های جنس بروسلا^۱ در حیوانات و انسان ایجاد بیماری می‌نماید. بیماری در انسان معمولاً از طریق انتقال از حیوانات اتفاق می‌افتد. این بیماری از بیماری‌های مهم مشترک بین انسان و حیوان است. بروسلوز در حیواناتی از قبیل گاو، گوسفند، بز و خوک ایجاد سقط جنین می‌کند و در انسان با علائم تب، عرق شدید، ضعف، کاهش وزن و درد و ناراحتی عمومی همراه است (دسته گلی و منیری، ۱۳۷۱). اسامی دیگر بروسلوز در حیوانات و انسان تب آبورتوس^۲، سقط جنین واگیر، تب متناوب، بیماری بانگ و تب مالت^۳ می‌باشد. بیماری بروسلوز عفونتی است که در اثر یکی از انواع بروسلا ملی تنسیس^۴ از گوسفند و بز، بروسلا سویس^۵ از خوک و بروسلا آبورتوس^۶ از گاو و بروسلا کنیس از سگ در انسان ایجاد بیماری می‌نماید (دسته گلی و منیری، ۱۳۷۱).

بر اساس یک معیار جهانی میزان شیوع بروسلوز انسانی در هر کشوری بستگی بسیار نزدیکی با میزان شیوع بروسلوز حیوانات در آن کشور دارد (دسته گلی و منیری، ۱۳۷۱). در برخی کشورهای اسکاندیناوی (سوئد و دانمارک) و آلمان که میزان شیوع بیماری در حیوانات بسیار پائین می‌باشد بروسلوز تقریباً ریشه‌کن شده است. بیماری بروسلوز در اکثر نقاط ایران به طور وسیعی در انسان و دام شایع است (دسته گلی و منیری، ۱۳۷۱) و بررسی و برنامه‌ریزی دقیقی برای کنترل و ریشه‌کنی آن ضرورت دارد. از نظر مقررات مملکتی بایستی این بیماری جزء بیماری‌های مهم تلقی و اعلام آن توسط پزشکان اجباری شود تا تشخیص سریع تر بروسلوز در بیماران آسانتر باشد. خطر انتقال و اکتساب بیماری بروسلوز در انسان با توجه به رعایت نکات بهداشتی در جهت پرهیز از تماس با نسوج حیوانات مبتلای ذبح شده و با عدم مصرف شیر غیر پاستوریزه، می‌تواند در جوامع مختلف کاهش یابد. کارگران کشتارگاه‌ها، بازرسان بهداشتی گوشت، دامپزشکان و سایر افرادی که به مناسبت حرفه خود با حیوانات زنده و یا با لاشه حیوانات بخصوص گاو و گوسفند تماس دارند می‌توانند با استفاده از دستکش و لباس‌های بهداشتی

بخصوص در موقع کار از خطر انتقال بیماری جلوگیری کنند ولی به هر حال بروسلوز را که یکی از بیماری‌های مهم و خطرناک مشترک انسان و دام می‌باشد هرگز نمی‌توان بدون حذف، کنترل و یا مبارزه جدی با بیماری در حیوانات در جمعیت‌های انسانی ریشه‌کن نمود (دسته گلی و منیری، ۱۳۷۱; Nicoletti, 1980; OIE, 1983).

هدف از این مطالعه تعیین میزان آلودگی با باکتری بروسلا آبورتوس در شیرهای خام منطقه ایلخچی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه تعداد ۵۰ نمونه شیر خام گاو از مراکز جمع‌آوری شیر منطقه ایلخچی از مهر ماه لغایت آذر ماه ۱۳۸۸ بصورت نمونه‌گیری خوشه‌ای تصادفی اخذ و به آزمایشگاه میکروب‌شناسی مواد غذایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر ارسال گردید. سپس آزمون حلقه‌ای شیر^۷ با استفاده از آنتی ژن بروسلا آبورتوس تهیه شده از موسسه واکسن و سرم سازی رازی بر روی نمونه‌ها انجام گرفت.

جهت انجام آزمون حلقه‌ای شیر ۱ میلی متر از نمونه‌ی شیر داخل لوله آزمایش ریخته و چند قطره آنتی‌ژن میکروبی را اضافه نموده و بعد با چوب پنبه سر لوله را بسته و بعد از تکان دادن لوله به مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت (شکل-۱) (ذوقی و همکاران، ۱۳۸۳).

بعد از خارج کردن نمونه از گرمخانه نتایج بر اساس جدول ۱ قرائت می‌گردید.

سپس تست الیزا با کیت تشخیصی وجود بروسلا آبورتوس در شیر، تهیه شده توسط شرکت پورکو^۸ فرانسه بر روی نمونه‌های مثبت تشخیصی توسط تست حلقه‌ای شیر انجام گرفت.

مراحل تست الیزا به شرح زیر بود:

شیرهای کنترل مثبت و کنترل منفی موجود در کیت الیزا، با یک میلی لیتر آب مخلوط شده، نمونه‌ها با محلول بافر به نسبت ۱ به ۵ رقیق می‌گردید. ۲۰۰ میکرولیتر از محلول بافر به هر چاهک منتقل گردیده و ۵۰ میکرو لیتر از شیر کنترل منفی در چاهک A₁ و ۵۰ میکرو لیتر از شیر

¹ Brucella ² Abortus Fever ³ Malta Fever
⁷ Ring Milk Test ⁸ Pourquier

⁴ B.melitensis ⁵ B.suis ⁶ Brucella abortus

مشاهده گردید که با انجام تست الیزا در ۱۰٪ (۵ نمونه) نمونه‌ها آلودگی با باکتری بروسلا آبورتوس مشاهده گردید.

بحث

اگر چه بیماری بروسلوز قابل تشخیص می باشد ولی در اغلب کشورهای منطقه خاورمیانه بیماری تشخیص داده نمی‌شود و در اغلب موارد بیماری بصورت یک عارضه تبادار گزارش می‌شود. به همین دلیل میزان دقیق مبتلایان به این بیماری مشخص نمی‌گردد و موارد ابتلا بسیار بیشتر از گزارش‌های موجود در این کشورها موجود در این کشورها خواهد بود (Bokaei *et al.*, 2008).

در مطالعه‌ای که توسط بکایی و همکاران در بین سال‌های ۲۰۰۲ تا ۲۰۰۶ میلادی در منطقه بیرجند انجام گرفته میزان شیوع بروسلوز در جمعیت انسانی ۳۱ در هر ۱۰۰۰۰ و در گله‌های گوسفند و بز ۳۴۰ در هر ۱۰۰۰۰ و در گله‌های گاو ۵۶ در هر ۱۰۰۰۰ بود (Bokaei *et al.*, 2008).

کنترل مثبت در چاهک‌های B₁ و C₁ منتقل می‌گردید. در ادامه ۵۰ میکرولیتر از هر نمونه به چاهک‌ها اضافه می‌گردید. سپس با تکان دادن پلیت محتویات چاهک‌ها مخلوط گردیده و بمدت یک و نیم ساعت در دمای ۲۱ درجه سانتی گراد گرمخانه‌گذاری می‌گردید. بعد از این مرحله با محلول شستشو چاهک‌ها شستشو گردیده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول گوتزوگه به چاهک اضافه می‌گردید. دوباره مرحله شستشو تکرار گردیده و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آشکار ساز به هر چاهک افزوده و پلیت در ۲۱ درجه سانتی‌گراد بمدت ۲۰ دقیقه دور از نور گرمخانه‌گذاری می‌گردید و بعد از افزودن محلول متوقف کننده به میزان ۱۰۰ میکرو لیتر به هر چاهک میزان جذب نور در ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه ریدر (Tecan, Austria) قرائت می‌گردید.

یافته‌ها

در این مطالعه که بر روی میزان آلودگی بروسلایی شیرهای خام گاو جمع آوری شده در منطقه ایلخچی بود بر اساس آزمون حلقه‌ای شیر آلودگی در ۲۲٪ (۱۱ نمونه) نمونه

جدول ۱- راهنمای قرائت نتایج تست حلقه ای شیر

نتیجه	وضعیت
+++	لایه خامه کاملاً آبی پررنگ و لایه زیر آن سفیدرنگ.
++	لایه خامه آبی پررنگ و لایه زیرین کمی رنگی است.
+	لایه خامه رنگی و لایه زیرین هم رنگی ولی لایه خامه آبی پررنگ‌تر از لایه زیرین است.
مشکوک	لایه خامه و لایه زیرین هر دو یکرنگ هستند.
-	لایه خامه زردرنگ و لایه زیرین آبی رنگ است.



شکل ۱- قرائت نتایج بعد از افزودن آنتی ژن میکروبی، شیر آلوده به باکتری بروسلا آبورتوس (سمت چپ)، شیر فاقد باکتری بروسلا آبورتوس (سمت راست)

تعیین آلودگی شیرخام گاو با باکتری بروسلا آبورتوس در منطقه ایلخچی به روش الیزا

در مطالعه مشابهی که در سال ۲۰۰۹ در استان بصره عراق توسط عباس و آلدیوان بر روی میزان آلودگی شیرهای خام با باکتری بروسلا آبورتوس با استفاده از تست حلقه‌ای شیر انجام گرفته، میزان آلودگی ۲/۲۴٪ گزارش گردیده است که بیشترین میزان آلودگی در فصول بهار و تابستان بوده است (Abbas & Aldeewan, 2009).

در مطالعه‌ای که در کشور نیجریه بر روی نمونه‌های شیر گاو با استفاده از آزمون حلقه‌ای شیر انجام گرفته است میزان آلودگی با باکتری بروسلا آبورتوس ۴۰٪ بود (Junaidu *et al.*, 2008). همچنین میزان آلودگی در کشور کنیا با استفاده از روش الیزا در شیر گاو ۴٪ گزارش گردیده است (Kangethe *et al.*, 2004).

از نظر میزان مبتلایان به بروسلاز در جمعیت‌های انسانی کشورهای منطقه بیشترین موارد ابتلا مربوط به کشورهای عربستان سعودی، ایران، فلسطین اشغالی، سوریه اردن و عمان می باشد (Pappas *et al.*, 2005). میزان ابتلا به بیماری بروسلاز در جمعیت انسانی در سال ۲۰۰۳ در ایران ۱۷۷۶۵ نفر بوده است (Pappas *et al.*, 2005).

متأسفانه در مطالعه انجام گرفته میزان آلودگی شیر خام گاو با بروسلا آبورتوس بسیار بالایی باشد و مطالعات تکمیلی باید در مورد احتمال آلودگی شیر سایر دام‌ها (گوسفند و بز) و انواع دیگر فرآورده‌های شیر بخصوص پنیرهایی که بصورت سنتی تهیه شده اند انجام گیرد.

با توجه به نتایج فوق میزان آلودگی در شیر خام گاو در منطقه ایلخچی بالا می باشد. البته لازم به ذکر است که شیر خام اکثر کارخانجات لبنی منطقه جنوب غرب شهر تبریز از مراکز جمع‌آوری شیر منطقه ایلخچی تامین می‌گردد.

ریشه کنی بیماری بروسلاز یکی از اهداف اساسی کشورها می باشد و در اغلب کشورهای اروپایی بخصوص کشور انگلستان بیماری بطور کامل ریشه کن شده است (England *et al.*, 2004).

در مطالعه‌ای که توسط ذوقی و همکاران در ایران انجام شده است گونه بروسلا آبورتوس گونه غالب بروسلا در ایران می باشد (Zowghi *et al.*, 2008).

اکثر موارد بروسلاز انسانی که از طریق مصرف شیر یا فرآورده‌های آن ایجاد می شوند در شهرنشینان که از نظر

شغلی در معرض عفونت قرار ندارند مشاهده می گردد. در این موارد بیماری معمولاً بصورت تک گیر بروز می‌کند، ولی گاه بصورت همه‌گیری نیز مشاهده می شود (کریم و فرخنده، ۱۳۶۹).

شیوع بیماری بین تعدادی از افراد یک جامعه کوچک نیز نادر نیست. چنانکه در سالهای ۱۹۴۸ میلادی استیل و هاستینگ یک مورد شیوع بیماری را در ۲۸ نفر از اهالی شهری کوچک گزارش کرده‌اند (کریم و فرخنده، ۱۳۶۹).

در مطالعه‌ای که بین سالهای ۱۹۶۸ تا ۱۹۷۲ در شهر اصفهان توسط صباغیان و ندیم انجام گرفته است با انجام آزمون حلقه‌ای شیر در ۲۳ درصد از ۱۸۵۰ راس گوسفند ۳۲ درصد از ۱۳۴۰ راس بز و ۱۲ درصد از گاوها آلودگی با بروسلا مشاهده گردید (کریم و فرخنده، ۱۳۶۹).

نتیجه گیری

برای کنترل بروسلاز در هر کشوری با توجه به سویه و یا سویه‌های موجود بروسلا و مطابق با شرایط فرهنگی، اقتصادی، اجتماعی و بهداشتی جامعه، برنامه ریزی دقیق و متناسبی مورد نیاز است. پیشگیری بروسلاز شیرزاد بستگی به ریشه کنی این بیماری در حیوانات تولید کننده‌ی شیر و سالم سازی شیر و فرآورده‌های آن بوسیله حرارت کافی و موثر دارد. برای کنترل بیماری در حیوانات کشتار دام‌های مبتلا و مایه کوبی دام‌های سالم ضروری است (کریم و فرخنده، ۱۳۶۹).

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای دکتر امیر رضا کریمی، آقای محمداقرا تاج خلیلی و آقای مهندس جلیل دلگری شرف کارشناس ارشد آزمایشگاه میکروب شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شبستر که در انجام این تحقیق همکاری نمودند تشکر و قدردانی بعمل می آید.

منابع

دسته گلی، ک. و منیری، ر. (۱۳۷۱). بروسلاز، چاپ و نشر بنیاد، چاپ اول، صفحات ۸۸ تا ۴۹۶.

ذوقی، الف.، وندیوسفی، ج. و حاجی خانی، ر. (۱۳۸۳). تکنیک های آزمایشگاهی بروسلاز در دامپزشکی و پزشکی، انتشارات دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، چاپ اول، صفحات ۲۱۰ تا ۲۱۵.

Kangethe, E. K., Arimi, S. M., Omoro, A. O., McDermott, J. J., Nduhla, J. G., Macharia, J. K. & Githua, J. A. (2004). Testing for antibodies to *Brucella abortus* in milk from consumers and market agents in Kenya using milk ring test and enzyme immunoassay, Kenya Veterinarian, 27, 18-21.

Nicoletti, P. (1980). The epidemiology of bovin Brucellosis, Advances in Veterinary Science and Comparative Medicine, Academic press, New York, pp. 64-68.

OIE (Office International des Epizooties). (1983). Animal Health and Economics, Technical, Series No:3.

Pappas, G. N., Bosokovski, M. & Tsianos, E. (2005). Brucellosis. The New England Journal of Medicine, 325 (22), 2325-2336.

Zowghi, E., Ebadi, A. & Yarahmadi, M. (2008). Isolation and identification of brucella organisms in Iran, Iranian Journal of Clinical Infectious Disease, 3 (4), 185-188.

کریم، گ. و فرخنده، ع. (۱۳۶۹). شیر و بهداشت همگانی، مرکز نشر دانشگاهی، چاپ دوم، صفحات ۳۶ تا ۴۴.

Abbas, B. A. & Aldeewan, A. B. (2009). Occurrence and epidemiology of *Brucella* spp. In raw milk samples at Basrah province, Iraq, Bulgarian Journal of Veterinary Medicine, 12 (2), 136-142.

Bokaei, S. Sharifi, S. L. & Alizadeh, H. (2008). Epidemiological survey of brucellosis in human and animals in Birjand, East of Iran, Journal of Animal and Veterinary Advances, 460-463.

England, T., Kelly, L., Jones, R., Macmillan, A. & wooldridge, M. (2004). A simulation model of brucellosis spread in British cattle under several testing, regimes, Preventive Veterinary Medicine, 63 (1-2), 63-73.

Junaidu, A. U., Oboegbulem, S. I. & Salihu, M. D. (2008). Seroprevalence of brucellosis in prison farm in Sokato, Nigeria, Asian Journal of Epidemiology, 1, 24-28.