الملخص العربي لرسالة الدكتوراه الخاصة

بالسيد الدكتور/ أحمد حسين عابد معوض

مدرس البكتريا والفطريات والمناعة

كلية الطب البيطرى- جامعة بنى سويف

عنوان الرسالة:

"الطرق الحديثة والتقليدية للتعرف على ميكروب السل البقري فى حيوانات المزرعة"

الملخص العربي

يعتبر مرض السل من أهم الأمراض البكتيريه المزمنة والذي يصيب الأنواع المختلفة من الحيوانات كالأبقار والجاموس وغيرها ومن الممكن أن يصيب الإنسان. وينتشر في الدول النامية مسببا خسائر إقتصادية كبيرة ومخاطر صحية عديدة للإنسان.

وقد تم فى هذه الدراسه اختبار عدد ٣٢ مزرعة **أبقار** حلاب بإجمالى (٣٦٠٠ حيوان) في عدة محافظات من جمهورية مصر العربية (الفيوم- البحيرة- المنوفية- طريق القاهرة-الإسكندرية الصحراوي) باستخدام اختبار تيوبركلين الجلد فى الرقبة باستعمال (التيوبركلين البقرى) وكانت نتائج الاختبار كالآتى: ٧٢ بقره بنسبة ٢% ايجابية الإختبار. وكان أعلي معدل إيجابي في **القطعان** في محافظة الغربية (٦٠%) يليها البحيرة (٥٧.١%) ثم الفيوم (٤٠%) بينما أقل معدل كان في قطعان الطريق الصحراوي (٣٣.٣%). أما أعلي معدل إيجابي علي مستوي **الحيوانات** فكان في محافظة الغربية (٢.٧%) يليها البحيرة (٢.٣%) ثم الفيوم (٢.٢%) بينما أقل معدل كان في قطعان الطريق الصحراوي (١.٦%).

وكذلك أيضا تم اختبار عدد (٢٥٥٠ من **الجاموس**) في كل من البحيرة- المنوفية- طريق الإسكندرية الصحراوي بنفس الإختبار وكانت نتائج الاختبار كالتالي: ٢٦ حيوان إيجابية الإختبار بنسبة ١%. وكان أعلي معدل في الحيوانات في محافظة الغربية (١.٢%) يليه الطريق الصحراوي (١%) بينما أقل معدل كان في البحيرة (٠.٨%).

تم ذبح الحيوانات الإيجابية (٧٢بقرة و٢٦جاموسة) لإختبار التيوبركلين بمجازر المحافظات المختلفة، وبالكشف الظاهرى الدقيق على **الأبقار** المذبوحة تبين وجود إصابة سلية ظاهرية (VL) فى عدد (٤٩) حيوان بنسبة (٦٨.١%) بينما لم تشاهد إصابة سلية ظاهرية (NVL) فى(٢٣) حيوان بنسبة (٣١.٩%). أما في **الجاموس** فكانت الإصابة السلية الظاهرية فى عدد (١٧) حيوان بنسبة (٦٥.٤%) وغير الظاهرية في عدد (٩) حيوان بنسبة (٣٤.٦%).

وبفحص أماكن تواجد الاصابات السلية الظاهرية في **الأبقار** تبين أنها موزعة في عدة مواضع هي الرأس و الغدد الخاصة بالجهاز التنفسى، و الغدد الملحقة بالامعاء و الجهاز الهضمى، وإصابات سلية موضعية خليط فى أعضاء الجسم المختلفة، وأخيرا السل العام وكانت نسبتها كالأتى: ٨(١١.١%)، ٢٥(٣٤.٧%)، ٧(٩.٧%)، ٤(٥.٦%) و٥(٦.٩%) على الترتيب. بينما في **الجاموس** كانت كالتالي: ٠(٠%)، ٣(١١.٥%)، ٧(٢٦.٩%)، ٦(٢٣.١%) و ١(٣.٨%) علي الترتيب.

وبمقارنة مواضع هذه الإصابات بعمر الحيوان كانت نسبتها فى **الأبقار** الإيجابية لإختبار التيوبركلين كالاتى: ١٢ فى عدد ٩٧٥ حيوان عمر١-٣ سنة بنسبة 1.2% منهم ٥(٤١.٧%) إصابات ظاهرية، ٧(٥٨.٣%) غيرظاهرية. وكذلك ٣٩ فى عدد ١٩٠٠ حيوان عمر٣-٥ سنة بنسبة ٢.١% منهم ٣٢(٨٢.١%) إصابات ظاهرية، ٧(١٧.٩%) غيرظاهرية. بينما كانت ٢١ فى عدد ٧٢٥ حيوان عمرأكبر من ٥ سنوات بنسبة ٢.٩% منهم ١٢(٥٧.١%) إصابات ظاهرية و ٩(٤٢.٩%) غيرظاهرية.

تم أخذ عينات من الحيوانات الإيجابية المختبرة للتيوبركلين و كانت عبارة عن عينات {دم وغدد ليمفاوية (للجهازالتنفسى- الهضمى- بقية أجهزة الجسم- الرأس- الأطراف الأمامية و الخلفية)} بالإضافة إلى بعض الأنسجة الخاصة بالأعضاء التى بها اصابة سلية ظاهرية. و تم إرسالها الى المعمل داخل ثلاجة عينات حيث يتم معاملة العينات طبقا للقواعد المتبعة لزراعة وعزل وتصنيف ميكروب الميكوبكتيريا. و كانت نتائج العزل في الأبقار والجاموس كالاتى:

فى الأبقار تم عزل ٤٤(٦١.١%) عترة من ميكروب السل وتم تصنيفها كلها كميكروب العترة البقرية، منها ٤٠(٨١.٦%) تم عزلها من الإصابات الظاهرية و٤(١٧.٤%) من الإصابات الغير ظاهرية. أما **فى الجاموس** فتم عزل ١٥(٥٧.٧%) عترة من ميكروب السل وتم تصنيفها كألاتى: ١٠(٣٨.٥%) ميكروب العترة البقرية، تم عزلها كلها من الإصابات الظاهرية، ٥عترات غير بقرية (١٩.٢%)، منها ٣(١٧.٦%) تم عزلها من الإصابات الظاهرية و٢(٢٢.٢%) من الإصابات الغير ظاهرية. وقد تم دراسة النتائج بعد العزل والتصنيف لكل العترات للمواضع المختلفة للإصابة.

وتم عمل شرائح وصبغها بصبغة (Z.N) لعينات أخذت من كل الحيوانات التي ذبحها (٧٢أبقار و٢٦ جاموس)، وبالفحص تحت الميكروسكوب تبين وجود عصيات السل في ٢٦(٣٦.١%) عينة **للأبقار** و ٧(٢٦.٩%) عينات **للجاموس**.

وعلي جانب آخر، فقد تم فرز وتقسيم الإصابات المختلفة سواء الظاهرية أوغير الظاهرية في المواضع المختلفة **فى الأبقار** إلي أربع درجات (٠، ١، ٢ و ٣) وذلك حسب طبيعة الإصابة.**الدرجة (٠)**مثلت كل الإصابات الظاهرية (٢٣) بنسبة ٣١.٩% أما بالنسبة للإصابات الظاهرية (٤٩) فاشتملت علي باقي الدرجات كالتالي: **الدرجة (١)** تمثلت في ٣ حالات بنسبة ٤.٢% أما **الدرجة (٢) وكذلك الدرجة (٣)** كانتا الأكثر شيوعا (٢٣ حالة) بنسبة ٣١.٩% لكل منهما. أما بخصوص العلاقة بين معدل العزل لميكروب السل البقري و درجات الإصابة الأربعة، فإن ال٤٤ ميكروب سل بقري المعزول من ال ٧٢ بقرة إيجابية التي تم

ذبحها كان توزيعها كالتالي: ٤(٥.٦%) من **الدرجة (٠)**، ١٩(٢٦.٤%) من **الدرجة (٢)** و ٢١(٢٩.٢%) من **الدرجة (٣)** بينما لم يتم عزل أي ميكروب من **الدرجة (١)**.

وقد تم أيضا تقييم استخدام خليط من نوعين من الأنتيجينات (المستضدات) الحديثة الخاصة بميكروب السل البقري (*ESAT6-CFP10* Mixture) كمادة مشخصة باستخدام إختبار الإليزا ومقارنته بمستحضر ال (بى بى دى) المحضر من العترة البقرية وأظهرت النتائج ما يلي:

من إجمالي عينات الأمصال الماخوذة من **الأبقار** المذبوحة (٧٢)، فإن (49) عينة مصل أعطت نتائج إيجابية باختبار الإليزا مع ال (بي بي دي) البقري وذلك بنسبة ٦٨.١% مقارنة بعدد (٤٥) عينة أعطت نتائج إيجابية مع خليط المستضدات (بنسبة ٦٢.٢%). وبخصوص الإصابات الظاهرية (٤٩)، فإن (44) عينة أمصال (٦٨.١%) أعطت نتائج إيجابية مع ال (بي بي دي) بينما (٤١) عينة(٨٣.٧%) أعطت نتائج إيجابية مع الخليط. أما الإصابات الغير ظاهرية (٢٣)، فإن (5) عينات أمصال (٢١.٧%) أعطت نتائج إيجابية مع ال (بي بي دي) بينما (٤) عينة (١٧.٤%) أعطت نتائج إيجابية مع الخليط.

كما تم عمل علاقة بين نسب كل من عزل ميكروب السل البقري ونتائج الإليزا باستخدام ال (بي بي دي) البقري وكذلك خليط المستضدات في المواضع المختلفة للإصابات السلية في الأبقار المذبوحة. ففي إصابات الرأس (٨) كانت النتائج كالتالي: ٥ حالات عزل بنسبة ٦٢.٥%، ٧ حالات إيجابي مع ال (بي بي دي) (٨٧.٥%) و ٥ حالات إيجابية مع الخليط (٦٢.٥%). أما في الإصابات التنفسية (٢٥) كانت علي الترتيب ٢٢(٨٨ %)، ٢٢(٨٨ %) و ٢٣(٩٢%). أما في إصابات الجهاز الهضمي (٧) كانت ٥(٧١.٤ %)، ٦(٨٥.٧ %) و ٤(٥٧.١%) بالترتيب. وفي الإصابات السلية المختلطة في أعضاء الجسم المختلفة(٤) كانت ٣(٧٥ %)، ٤(١٠٠ %) و ٤(١٠٠%). وفي حالات السل العام (٥) كانت كلها إيجابية للعزل والإليزا بنسبة ١٠٠. أما بالنسبة للإصابات السلية الغير ظاهرية (٢٣) فكانت ٤(١٧.٤ %)، ٥(٢١.٧ %) و ٤(١٧.٤%) بالترتيب.

أما بخصوص عينات الأمصال الماخوذة من **الجاموس** المذبوح (٢٦)، فإن (16) عينة سيرم أعطت نتائج إيجابية باختبار الإليزا مع ال (بي بي دي) البقري وذلك بنسبة ٦١.٥% مقارنة بعدد (٤٥) عينة كانت إيجابية مع خليط المستضدات (بنسبة ٥٣.٨%). وبخصوص الإصابات الظاهرية (١٧)، فإن (13) عينة سيرم (٧٦.٥%) كانت إيجابية مع ال (بي بي دي) بينما (١٢) عينة(٧٠.٦%) أعطت نتائج إيجابية مع الخليط. أما الإصابات الغير ظاهرية (٩)، فإن (٣) عينات سيرم (٣٣.٣%) كانت إيجابية مع ال (بي بي دي) بينما (٢) عينة(٢٢.٢%) أعطت نتائج إيجابية مع الخليط.

أما بالنسب لنسب كل من عزل ميكروب السل البقري ونتائج الإليزا باستخدام ال (بي بي دي) البقري وكذلك خليط المستضدات في المواضع المختلفة ففي الإصابات التنفسية (٣) كانت عينتين منهم (٦٦.٧%) إيجابية للعزل والإليزا. أما في إصابات الجهاز الهضمي (٧) كانت ٤(٥٧.١%)، ٦(٨٥.٧ %) و ٥(٧١.٤ %) بالترتيب. وفي الإصابات السلية المختلطة في أعضاء الجسم المختلفة(٦) كانت ٣(٥٠ %)، ٤(٦٦.٧ %) و ٤(٦٦.٧%). وفي حالات السل العام (١) كانت كلها إيجابية للعزل والإليزا. أما بالنسبة للإصابات السلية الغير ظاهرية (٩) فكانت ٠(٠%)، ٣(٣٣.٣ %) و ٢(٢٢.٢%) بالترتيب.

وبالتحليل الإحصائى وجد أن نسب الحساسية (Sensitivity) والخصوصية(Specificity) لاختبارالإليزا في **الأبقار** كانت مع ال(بى بى دى) البقرى علي الترتيب (٨٩.٨%) و (٧٨.٣%) أما في خليط المستضدات فكانت (٨٣.٧%) و (٨٢.٦%). أما في **الجاموس** فكانت مع ال(بى بى دى) البقرى علي الترتيب (٧٦.٥%) و (٦٦.٧%) أما في خليط المستضدات فكانت (٧٠.٦%) و (٧٧.٨%). ويتضح من هذا إمكانية استخدام خليط المستضدات فى تشخيص افضل من ال(بى بى دى) البقرى للتشخيص السريع المصلي وتقليل التفاعلات الغيرنوعية وأيضا عمل مسح مصلي لمرض السل البقرىفى الحيوانات الإيجابية لاختبار التيوبركلين.

كما تم دراسة استخدام تفاعل البلمرة المتسلسل (PCR) ومقارنته بالطرق البكتريولوجية التقليدية لعزل وتصنيف ميكروبات السل وذلك فى التشخيص والتعرف على عدد ١٦ معزول من ميكروبات السل اختيرت عشوائيا من المواضع المختلفة للإصابات السلية والتي تم تشخيصها طاهريا وكيميائيا{١٤عترة بقرية (منها ١٠ معزولة من الأبقار، ٤ من الجاموس) ،٢ عترة غير بقرية} وذلك باستخدام جين موجود في منطقة (*RD7*) حيث وجد أن ال DNA الخاص بالعترة البقرية تم تحديده فى كل العترات المشخصة سابقا كعترة بقرية (١٤) بنسبة ١٠٠% بينما لم يتم تحديده في العترتين المشخصتين سابقا كعترات غير بقرية وهذا يؤكد ويعضد التشخيص البكتريولوجي التقليدي (العزل والتصنيف).

ومن خلال هذه الراسة ينصح بالآتى:

١- أهمية استخدام اختبار تيوبركلين الجلد فى الرقبة وذبح الحيوانات الإيجابية لتقليل انتشار السل البقري.

٢- اختبار الحيوانات الجديدة واستبعاد المصاب منها مع مراعاة عدم إدخال حيوانات كبيرة عمريا من الأسواق قد يساعد في الحد من انتشار المرض.

٣- إمكانية استخدام خليط من الأنتيجينات (المستضدات) في اختبار الإليزا في الكشف المصلي عن مرض السل البقري في الحيوانات المصابة واستخدامه كاختبار تكميلي مع اختبارالتيوبركلين وذلك لسرعة ودقة تشخيص

الإصابة المبكرة والنشطة وبالتالي سرعة التخلص من الأبقار التي بها إصابة قبل انتشارالمرض بين باقي الحيوانات في المزرعة.

٤- اتباع الوسائل الصحية من رعاية وإيواء للحيوانات وغيرها قد يحد من انتشار المرض.

٥- إمكانية استخدام اختبار تفاعل البلمرة المتسلسل بـإستخدام جين خاص بميكروب السل البقري فى التشخيص والكشف السريع عن الإصابة بميكروب السل البقرى. ويمكن استخدامه كإختبار تأكيدي يعضد التشخيص البكتريولوجي التقليدي.