

صلى الله عليه وآله

دو

۱۱۴۸۳



دانشکده دامپزشکی

شماره پایان نامه : ۱۷۱

مطالعه اثرات آنتی آکسیدانی ویتامین E و سلنیوم به دنبال تلقیح واکسن Rev1 در گوسفند

پایان نامه دکترای دامپزشکی

ایمان امانی

استاد راهنما

دکتر غلامعلی کجوری

۱۳۸۸ / ۲ / ۲۲

۱۳۸۲

سه


۱۱۱۴۸۳



دانشگاه دامپزشکی

پایان نامه دکترای حرفه ای دامپزشکی آقای ایمان امانی
تحت عنوان

مطالعه اثرات آنتی آکسیدانی ویتامین E و سلنیوم به دنبال تلقیح واکسن Rev1 در گوسفند

در تاریخ ۱۳۸۷/۶/۳۱ توسط کمیته تخصصی زیر مورد بررسی و بارتبه  مورد تصویب نهایی قرار گرفت

۱- استاد راهنمای پایان نامه

۲- استاد مشاور پایان نامه

۳- استاد داور

۴- استاد داور

معاونت پژوهشی دانشکده

مسئولیت کلیه عقاید و نظراتی که در این پایان نامه آورده شده است به عهده نگارنده بوده و دانشکده دامپزشکی هیچگونه مسئولیتی را در این زمینه تقبل نمی نماید.

دکتر غلامعلی کجوری

دکتر عبدالناصر محبی

دکتر افشین جعفری

دکتر حسین حسن پور

دکتر پژمان میر شکرایی

دکتر عبدالکریم زمانی مقدم

رئیس دانشکده دامپزشکی

تقدیر و تشکر:

اگر چه صبر و بزرگواریتان در کلام نمی گنجد ، لیکن بر خود لازم می دانم تا همیشه سپاسگزار شما اسوه های مهر و گذشت باشم :

-استاد راهنمای ارجمند و گرانقدر ، جناب آقای دکتر غلامعلی کجوری که همیشه مدیون دریای سخاوتمند وجودشان هستم ، به پاس همه زحماتشان در طول شش سال تحصیل و همراهی سبزان در اتمام این مراحل .

-استاد مشاور بزرگوار ، جناب آقای دکتر عبدالناصر محبی ، به پاس راهنماییهای ارزنده و همکاری شما در تدوین این پایان نامه .

استاد گرانقدر ، جناب آقای دکتر افشین جعفری ، که از وجود بزرگواریتان در داوری این پایان نامه و تدوین هر چه بهتر آن بهرمنند شدم .

و تقدیر و تشکر از خانواده عزیزم به پاس تمام زحمات در تمام طول دوران تحصیل .

ایمان امانی

پاییز ۱۳۸۷

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات ،
ابتکارات و نوع آوری های ناشی از تحقیق موضوع
این پایان نامه متعلق به دانشگاه شهرکرد است.

فهرست مطالب

صفحه	عنوان
۱	چکیده
	۱- فصل اول : مقدمه
۲	۱-۱- مقدمه
	۲- فصل دوم : کلیات
۴	۱-۲- بروسلوز
۴	۱-۲-۱- مقدمه
۵	۱-۲-۲- اتیولوژی
۵	۱-۲-۳- مقاومت باکتری در برابر عوامل فیزیکی و شیمیایی
۶	۱-۲-۴- وقوع بیماری در حیوانات
۷	۱-۲-۵- بیماری در انسان
۷	اتیولوژی
۷	اپیدمیولوژی
۸	بیماری زایی و آسیب شناسی
۹	علائم
۱۰	الف) بروسلوز حاد
۱۰	ب) بروسلوز موضعی
۱۱	ج) بروسلوز مزمن
۱۱	تشخیص
۱۱	تشخیص باکتریولوژیک بروسلوز
۱۱	تشخیص سرولوژیک بروسلوز
۱۲	پیشگیری
۱۲	۱-۲-۶- بروسلوز در گاو (بیماری بنگ)
۱۲	اپیدمیولوژی
۱۴	بیماری زایی
۱۵	یافته های بالینی
۱۶	کلینیکال پاتولوژی
۱۶	کالبد گشایی
۱۶	تشخیص
۱۷	کنترل و ریشه کنی
۱۷	ایمن سازی

۱۸	۷-۱-۲- بروسلوز در گوسفند
۱۸	ایدمیولوژی
۱۹	بیماری زایی، یافته های بالینی و کلینیکال پاتولوژی در آلودگی با بروسلا ملی تنسیس
۲۰	کنترل بروسلا ملی تنسیس
۲۱	علائم بالینی و کالبد گشایی بروسلوز گوسفندی
۲۲	تشخیص بروسلا اوویس در گوسفند
۲۲	پیشگیری از بروسلا اوویس در گوسفند
۲۲	کنترل و حذف
۲۳	۸-۱-۲- ایمنی سازی در گوسفند و بز
	۲-۲- سلنیوم و ویتامین E
۲۴	۱-۲-۲- اهمیت تامین سلنیوم در بدن
۲۴	۲-۲-۲- بیوشیمی سلنیوم
۲۴	۳-۲-۲- گلو تاتیون پراکسیداز
۲۵	۴-۲-۲- وظایف سلنیوم
۲۵	۵-۲-۲- فارمو کو کینتیک سلنیوم
۲۶	۶-۲-۲- نقش دقیق آنزیم گلو تاتیون پراکسیداز
۲۶	۷-۲-۲- مکانیسم عمل سلنیوم
۲۶	۸-۲-۲- جذب سلنیوم
۲۶	۹-۲-۲- انتقال و ذخیره سلنیوم
۲۷	۱۰-۲-۲- دفع سلنیوم
۲۷	۱۱-۲-۲- سلنیوم خاک
۲۸	۱۲-۲-۲- کمبود سلنیوم
۲۸	۱۳-۲-۲- اثرات جانبی و مسمومیت با سلنیوم
۲۹	۱۴-۲-۲- گلو تاتیون پراکسیداز و سلنیوم
۳۰	۱۵-۲-۲- ساختمان و خواص توکوفرول ها
۳۱	۱۶-۲-۲- اعمال فیزیولوژیک توکوفرول ها در بدن
۳۲	۱۷-۲-۲- وظایف توکوفرول ها
۳۲	۱۸-۲-۲- جذب، انتقال و ذخیره سازی توکوفرول ها در بدن
۳۳	۱۹-۲-۲- فارمو کولوژی توکوفرول ها
۳۳	۲۰-۲-۲- اثر ویتامین E بر روی چربی های خون
۳۳	۲۱-۲-۲- ارتباط بین سلنیوم، ویتامین E، اسیدهای آمینه گوگردی و سایر مواد آنتی اکسیدان
۳۴	۲۲-۲-۲- دیستروفی عضلانی تغذیه ای
۳۵	۲۳-۲-۲- علت ایجاد بیماری
۳۵	۲۴-۲-۲- نقش ویتامین E و سلنیوم در مقاومت در برابر بیماریهای عفونی

۳۶	۱-۳-۲- پراکسیداسیون لیپیدها
۳۸	۲-۳-۲- مراحل پراکسیداسیون لیپیدها
۳۸	۳-۳-۲- عوامل موثر بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها
۳۹	۴-۳-۲- آنتی اکسیدان ها
۳۹	۵-۳-۲- ویتامین C
۴۰	۶-۳-۲- سوپر اکسید دیسموتاز
۴۰	۷-۳-۲- کاتالاز
۴۰	۸-۳-۲- ویتامین E
۴۰	۹-۳-۲- کاروتن
۴۰	۱۰-۳-۲- گلو تاتیون پراکسیداز
۴۰	۱۱-۳-۲- تنش اکسیداتیو که منجر به تولید رادیکال های آزاد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها می شود
۴۲	۱۲-۳-۲- اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء های زیستی
۴۲	Iodometric Assay
۴۳	Diene Conjugation Assay
۴۳	The Thiobabituric Acid Assay
۴۴	۱۳-۳-۲- عواملی که روی میزان تشکیل مالون دی آلدهید و TBARS تاثیر می گذارد
۴۵	۱۴-۳-۲- مثال هایی از کاربرد TBARS
	فصل سوم: مواد و روش کار
۴۸	۱-۳- مقدمه
۴۸	۲-۳- نگهداری و آماده سازی حیوانات
۴۹	۳-۳- تلقیح واکسن
۴۹	۴-۳- نمونه گیری
۴۹	۵-۳- آزمایش سنجش TBARS
۴۹	۶-۳- نمونه Blank
۴۹	۷-۳- شناساگر
۵۰	۸-۳- روند کار
	فصل چهارم: نتایج
۵۱	۴- نتایج
	فصل پنجم: بحث
۵۴	۵- بحث
۶۰	منابع
۶۶	چکیده لاتین

فهرست جداول

- جدول شماره ۱-۲- مدت زمان بقای بروسلا در شرایط محیطی طبیعی ۶
- جدول شماره ۲-۲- مدت دوام گونه های مختلف بروسلا در لبنیات ۶
- جدول شماره ۱-۴- تغییرات میانگین و خطای استاندارد TBARS ۵۳
- جدول شماره ۱-۵- تغییرات میانگین و خطای استاندارد فعالیت انفجار تنفسی ۵۶
- جدول شماره ۲-۵- تغییرات میانگین و خطای استاندارد کموتاکسی ۵۷
- جدول شماره ۳-۵- تغییرات میانگین و خطای استاندارد درصد نوتروفیل های خون ۵۸

فهرست تصاویر

- شکل شماره ۱-۲- فعل وانفعالات برخی از مواد آنتی اکسیدان بین دو فاز پلاسمایی و غشایی ۳۰
- شکل شماره ۲-۲- ارتباط فعالیت آنزیم GSH-PX و NADP ۳۴
- شکل شماره ۳-۲- مراحل پراکسیداسیون لیپیدها ۳۷
- شکل شماره ۴-۲- مراحل پراکسیداسیون لیپیدها ۳۷
- شکل شماره ۵-۲- تولید انواع اکسژن های فعال در جریان احیاء اکسژن به آب ۴۱
- شکل شماره ۶-۲- انواع واکنشهای در رابطه با فشار اکسیداتیو که منجر به رادیکال آزاد می شود ۴۲

فهرست نمودار

- نمودار ۱-۴- تغییرات میانگین میزان TBARS در روزهای مختلف ۵۳

چکیده:

پروسلوز از بیماری های شایع و مشترک بین انسان و دام است که سالیانه خسارات زیادی را به صنعت دامپروری وارد می نماید. این بیماری در جمعیت دامی قابل درمان نیست اما با انجام واکسیناسیون منظم و تست و کشتار دام های آلوده قابل پیشگیری است. در راستای افزایش میزان تاثیر گذاری واکسیناسیون و دوام آن تحقیقات متعددی صورت گرفته که از این میان می توان به تأثیر آنتی اکسیدان های مختلف از جمله ترکیب ویتامین E و سلنیوم بر روی افزایش مقاومت بدن در برابر عفونت ها و همچنین نقش آن ها در جلوگیری از فشارهای اکسیداتیو اشاره نمود.

بر این اساس در تحقیق حاضر به تاثیر تزریق ترکیب ویتامین E و سلنیوم بر روی میزان استرس اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپید غشاهای سلولی ناشی از تزریق واکسن پروسلوز با سنجش Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) مورد ارزیابی قرار گرفت.

برای انجام آزمایش از ۱۵ راس گوسفند که به طور تصادفی در سه گروه تیمار ۱ و ۲ و گروه شاهد قرار گرفتند استفاده شد و با انجام آزمون های PCR و همورال (رزینگال، رایت و 2ME) از آلوده نبودن آن ها به باکتری بروسلا اطمینان حاصل شد. به گروه تیمار ۱ داروی ویتامین E و سلنیوم (۲۵۰ میلی گرم ویتامین E و ۲/۵ تا ۳ میلی گرم سلنیوم به ازای هر ۴۵ کیلوگرم وزن بدن) در دونوبت و به فاصله ۱۵ روز تزریق و یک روز پس از تزریق دوم اقدام به تلقیح واکسن Rev1 به هر دو گروه تیمار ۱ و ۲ و تزریق زیر پوستی سرم فیزیولوژیک به گروه شاهد گردید. از گوسفندان به ترتیب در روزهای صفر (قبل از تلقیح واکسن)، ۱، ۷، ۱۴، ۲۱، ۶۰ و ۱۲۰ پس از تزریق از ورید وداج خون گیری بعمل آمد و پس از اخذ سرم، آزمایش سنجش Thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) بر روی نمونه ها انجام گرفت.

نتایج بدست آمده با بهره گیری از نرم افزار سیگما استات Ver2 و آزمون آماری آنالیز واریانس یک طرفه و آزمون های کمکی توکی و دانت در سطح $P < 0/05$ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. نتایج به دست آمده حکایت از آن داشت که میزان TBARS در هیچ یک از سه گروه در روزهای صفر و یک با یکدیگر تفاوت معناداری ندارند. در هر سه گروه از روز ۱ تا روز ۷ میزان TBARS روند صعودی داشته بطوریکه اختلاف معناداری در روز ۷ نسبت به سطح پایه در هر سه گروه وجود دارد. (به ترتیب $P=0/041$ ، $P=0/019$ و $P=0/013$) و اما بیشترین میزان TBARS مربوط به گروه تیمار ۱ در روز ۷ پس از تلقیح واکسن می باشد ($P=0/034$). تفاوت معناداری بین روز ۷ تا روز ۲۱ در هیچ یک از سه گروه وجود ندارد. از روز ۲۱ به بعد میزان TBARS در سه گروه روند نزولی داشته و در روز ۱۲۰ به میزان پایه برگشته است. اما برگشت به حالت پایه در گروه تیمار ۱ نسبت به گروه تیمار ۲ و گروه شاهد با تاخیر صورت گرفته است.

در مجموع می توان گفت که داروی ویتامین E و سلنیوم توانسته است منجر به افزایش TBARS در گروه تیمار ۱ در مقایسه با گروه های تیمار ۲ و شاهد شود. همچنین بازگشت TBARS به سطح پایه در گروه تیمار ۱ نسبت به دو گروه دیگر را به تاخیر اندازد.

فصل اول

۱-۱- مقدمه:

بروسلوز از شایعترین بیماریهای مشترک بین انسان و دام بوده و از انتشار جهانی برخوردار است. این بیماری ضررهای اقتصادی بیشتری را به صنعت دامپروری کشور وارد می کند. برجسته ترین این زیانها سقط جنین و عواقب پس از آن است (پور جعفر، ۱۳۸۵).

عامل این بیماری نوی باسیل هوازی، بدون اسپور و کپسول، غیر متحرک و گرم منفی است که دارای شش گونه بوده و جزء پاتوژن های داخل سلولی محسوب می شود (تاج بخش، ۱۳۷۴). گونه های مختلف این باکتری نسبت به عفونتی که در میزبان ایجاد می کنند، از یکدیگر متمایز می گردند (پور جعفر، ۱۳۸۵). به دلیل قدرت زنده ماندن و تکثیر بروسلا در داخل سلول های بیگانه خوار، باکتری از حدت بالایی برخوردار می باشد (حسینی طباطبائی، ۱۳۸۴؛ میر شمسی، ۱۳۶۸).

از آن جایی که این بیماری در بین حیوانات درمان نداشته و به انسان نیز قابل انتقال است، لذا به منظور کنترل بیماری در جمعیت های انسانی، مبارزه با آن در جمعیت های دامی ضروری است و در این راستا، واکسیناسیون ارزنده ترین روش موجود می باشد.

واکسن مرسوم علیه بروسلوز بز و گوسفند، از بروسلا ملی تنسیس تولید شده و واکسن Elberg's REVI نامیده می شود که واکسنی زنده و تخفیف حدت یافته است (تاج بخش، ۱۳۷۴؛ شیمی، ۱۳۸۰؛ حسینی طباطبائی، ۱۳۸۴؛ میرشمسی، ۱۳۸۶). بنابراین به دنبال تزریق واکسن حیوان با یک استرس اکسیداتیو مواجه می شود. عدم کنترل پراکسیداسیون غشاء ها به واسطه حضور برخی کمبودها و یا عملکرد ضعیف سیستم حفاظت کننده، می تواند مخاطراتی را برای سلامت حیوان به دنبال داشته باشد. نقش سلنیوم در همین زمان آشکار گشته و با تحکیم عملکرد گلوکوتایون پراکسیداز در انهدام پرواکسیدازها، هیدروپراکسیدها و پراکسید هیدروژن و احیاء آنها به الکل ها از خسارات ناشی از اکسیداسیون غشائی جلوگیری می نماید. این عنصر در ساختار انواع سلنو پروتئین ها شرکت می کند که مهمترین آنها گلوکوتایون پراکسیداز (Hoekstra, 1975)، سلنو پروتئین P و سلنو پروتئین W هستند. هر یک از این آنزیم ها نقش حفاظتی از تمام سلول های بدن در برابر مواد اکسیدکننده داشته و منجر به افزایش مقاومت سلول های

بدن از جمله سلول های ایمنی در برابر تخریب اکسیداتیو می شود (Mazor,1996؛ Bourk,2003). این عنصر همچنین در تنظیم بیوسنتز پروستوگلاندین ها، پروستوسایکلین ها، لوکوترین ها و ترومبوگران ها نیز موثر است و از طریق این واسطه ها می تواند نقش مهمی در التهاب داشته باشد (Kevikala,1999).

ویتامین E نیز به عنوان آنتیاکسیدان اولین سد دفاعی در برابر عوامل اکسیدان در سیستم های بیولوژیک عمل کرده و از تولید آن جلوگیری می کند. سلنیوم نیز در ادامه با تخریب سریع رادیکال های تولید شده منجر به حذف آنها قبل از آسیب رساندن به سلول می شوند. لذا این دو ماده در همکاری با یکدیگر در حفظ یکپارچگی غشاء ها عمل می نمایند. به دلیل ارتباط نزدیک اعمال فیزیولوژیک سلنیوم و ویتامین E به نظر نمی رسد که کمبود هر یک به تنهایی پدید آید (Chendra,1977).

از عوارض مربوط به کمبود ویتامین E و سلنیوم در گوسفند می توان به بیماری ماهیچه سفید و دیستروفی عضلانی، عدم باروری، تاخیر در بره زایی، کاهش رشد، کاهش تولید پشم، بیماری های دهان و دندان و ضعف پاسخ ایمنی نسبت به عوامل عفونی اشاره نمود.

در این تحقیق با تجویز داروی ویتامین E و سلنیوم در دوز درمانی (۲۵۰ میلی گرم ویتامین E و ۲/۵ تا ۳ میلی گرم سلنیوم به ازاء هر ۴۵ کیلوگرم وزن بدن) و در دو نوبت (به فاصله ۱۵ روز به گوسفندان ماده و سپس تلقیح واکسن REV1 به ارزیابی تاثیر ویتامین E و سلنیوم بر روی میزان پراکسیداسیون لیپید غشاء سلولی ناشی از تزریق واکسن بروسلوز به روش The thiobarbituric acid assey پرداخته می شود.

فصل دوم

کلیات

۱-۲- بروسلوز

۱-۲-۱- مقدمه

بروسلوز از بیماریهای عفونی و واگیر داری است که به لحاظ مشترک بودن بین انسان و دام جایگاه ویژه ای دارد. این بیماری ضررهای اقتصادی بیشماری را به صنعت دامپروری کشور وارد می کند. برجسته ترین این زیان ها سقط جنین و عواقب پس از آن است (پور جعفر، ۱۳۸۵).

جنس بروسلا گروه کوچکی از باکتری های گرم منفی را شامل می شود و به شش گونه بروسلا ابورتوس^۱ (با ۹ بیوتیپ)، بروسلا ملی تنسیس^۲ (با ۳ بیوتیپ)، بروسلا سوئیس^۳ (با ۴ بیوتیپ)، بروسلا کنیس^۴، بروسلا نئوتوما^۵ و بروسلا اوویس^۶ طبقه بندی می گردد. به استثنای بروسلا نئوتوما و احتمالاً بروسلا کنیس و بروسلا اوویس دیگر گونه های بروسلا در اکثر نقاط دنیا منتشرند.

انواع مختلف باکتری بروسلا نسبت به عفونتی که در میزبان اصلی ایجاد می کند از یکدیگر متمایز می گردند و از این نظر بروسلا ابورتوس در اصل گاو را آلوده می سازد. اما گاهی گاومیش، شتر، آهو، سگ، اسب، گوسفند، بز و انسان را نیز آلوده می سازد.

بروسلا ملی تنسیس باعث عفونت در گوسفند و بز می شود، لیکن ممکن است به گاو و انسان نیز منتقل شود. بطور معمول میزبان های ثانوی، نقش کمتری در بقاء و انتشار بیماری دارند. در حالیکه میزبان های اولیه به عنوان کانون هایی از عفونت در بقاء و انتشار بیماری عمل می کنند. به استثنای بروسلا نئوتوما که به نظر می رسد حداقل بیماری زایی را برای میزبان اصلی داراست، تمامی بروسلاها عفونت را به ویژه در ارگان های تولید مثل میزبان خود که باکتری در آنجا جایگزین می شود، ایجاد می نمایند.

¹-Brucella abortus

²-B. melitensis

³-B. suis

⁴-B. canis

⁵-B. neotoma

⁶-B. ovis

از این رودر جنس ماده، رحم و غدد پستانی و جفت بطور معمول عفونی می گردند و با گسترش عفونت به پلاستا و بافت های جنینی اغلب باعث سقط در میزبان آبستن می شود. در جنس نر بیضه ها، اپیدیدیم و وریکول سمینال مراکز اصلی جایگزین شدن باکتری بروسلا هستند.

تمامی گونه های بروسلا رشد داخل سلولی داشته و می توانند داخل فاگوسیت های تک هسته ای میزبان حساس و غیر ایمن باقی مانده و تکثیر یابند. بطور معمول مدتی پس از ورود باکتری به بدن، عفونت با مرحله باکتری مشخص شده و به دنبال آن به بافت های سیستم رتیکولواندوتلیال گسترش می یابد. متعاقب این مرحله موضعی شدن باکتری در ارگان های تولید مثل صورت می پذیرد، هر چند که تقریباً تمامی بافت های بدن ممکن است آلوده شوند.

در اغلب ارگان ها ممکن است جراحات مشخصی ایجاد شود؛ اگر چه در میزبان های اصلی غالباً تظاهرات عفونت به صورت تهاجم به پلاستا و به دنبال آن سقط جنین است. باکتری بروسلا در ارگان های جنین سقط شده، در کوتیلدون های نکروزه پلاستا، مایعات جنینی و ترشحات مهلی به مقدار فراوان یافت می گردد. همچنین ممکن است باکتری بروسلا از شیر، کلوستروم (ماک)، ترشحات منی و بافت های میزبان آلوده جدا شود. در ضمن می توان باکتری را از خون میزبان آلوده جدا کرد. هر چند باکتری در خون دوره کوتاهی را طی می کند، اما معمولاً برای تشخیص از کشت خون استفاده می شود.

۲-۱-۲- اتیولوژی:

همانطور که پیش از این اشاره شد بیماری بروسلاز توسط باکتری های جنس بروسلا از جمله بروسلا ابورتوس، بروسلا سوئیس، بروسلا کنیس، بروسلا نئوتوما، بروسلا ملی تنسیس و بروسلا اوویس ایجاد می شود. این باکتری ها باسیل های کوچک یا کوکوباسیل، غیر متحرک، فاقد هاگ و گرم منفی هستند. اندازه آن ها متغیر و به طول ۰/۶ تا ۲ میکرون و عرض ۰/۳ تا ۰/۵ میکرون است. این ارگانسیم ها معمولاً به صورت گروهی و گاهی نیز به صورت انفرادی دیده می شوند و در کشت های آزمایشگاهی به صورت زنجیر یا رشته کوتاهی در می آیند.

۲-۱-۳- مقاومت باکتری در برابر عوامل فیزیکی و شیمیایی:

بروسلاها در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد در مدت ۱۰ دقیقه از بین می روند. پاستوریزاسیون شیر نیز آن ها را از بین می برد. بروسلاها به pH اسیدی، مواد ضد عفونی کننده و نور مستقیم خورشید حساس هستند. ارگانسیم به مدت طولانی در دمای پایین، به مدت یک سال یا بیشتر در دمای ۸ درجه سانتی گراد در مدفوع زنده می ماند و برای مدت خیلی طولانی در دمای ۴۰- درجه سانتی گراد می توان آن را نگهداری کرد (ادیب فر، ۱۳۶۸؛ ذوقی، ۱۳۶۹؛ ذوقی، ۱۳۷۰؛ Buxton, 1977; Carter, 1991).

جدول شماره ۲-۱- مدت زمان بقای بروسلا در شرایط محیطی طبیعی

مدت دوام	درجه حرارت/شرایط محیطی	محیط	ردیف
۱ روز	۳۷ درجه سانتی گراد، pH: ۷/۵	آب	۱
۴۸-۷۳ روز	پاییز، رطوبت ۹۰ درصد	خاک	۲
۴ ماه	۱۵۸ تا ۱۷۰ درجه فارنهایت	کود	۳
۱۲۰ روز	هوای سرد	مدفوع گاو	۴
۷۵ روز		جنین سقط شده	۵
۲۰۰ روز		ترشحات رحمی	۶

جدول شماره ۲-۲- مدت دوام گونه های مختلف بروسلا در لبنیات

مدت دوام	pH	°C	گونه بروسلا	نوع فرآورده
۲۴ ساعت	-	۳۷-۲۵	بروسلا ابورتوس	شیر
۱۸ ماه	-	۰	بروسلا ابورتوس	
۹ ساعت	۴	۳۸	بروسلا ابورتوس	
۶ هفته	-	۴	بروسلا ابورتوس	خامه
۴ هفته	-	۴	بروسلا ملی تنسیس	
۱۴۲ روز	-	۸	بروسلا ابورتوس	کره
۳۰ روز	-	۰	بروسلا ابورتوس	بستنی
۶ روز تا ۶ ماه	-	-	بروسلا ابورتوس	پنیر
۴ تا ۱۰۰ روز	-	-	بروسلا ملی تنسیس	

۲-۱-۴- وقوع بیماری در حیوانات:

بروسلوز گاوی در همه جا به جز کشورهایی که بیماری را ریشه کن کرده اند، وجود دارد. میزان عفونت به طور قابل ملاحظه ای از کشوری به کشوری دیگر و مناطق مختلف یک کشور متفاوت می باشد. بالاترین درجه شیوع بیماری در گاوهای شیری اتفاق می افتد. در تعدادی کشورها، از جمله اکثر کشورهای آمریکای لاتین که فاقد برنامه های کنترل می باشند، اطلاعات معتبر نیستند. با این وصف، اطلاعات موجود نشان می دهد که بروسلوز یکی از مهمترین بیماری های گاو در آمریکای لاتین و همچنین در دیگر مناطق در حال توسعه می باشد. آمارهای رسمی در مورد خسارات ناشی از بروسلوز گاوی در آمریکای لاتین تقریباً

۶۰۰ میلیون دلار آمریکایی در سال را نشان می دهد که خود دلیلی بر مقدم دانستن کنترل بیماری توسط خدمات بهداشت دام خواهد بود.

بروسلوز خوک به طور گسترده ای در اروپا، آسیا، آفریقا یا اقیانوسیه انتشار نداشته و عموماً انتشار آن متمرکز و کانونی بوده و اشکال اسپورادیک نقش مسلط را دارند. با این وجود در آمریکای لاتین، عفونت بروسلا سوئیس در اکثر کشورها بومی بوده و هرچند که اطلاعات موجود از ارزش آماری کمی برخوردارند این ناحیه از جهان بایستی به عنوان شایع ترین منطقه در نظر گرفته شود.

آلودگی گوسفند با بروسلا ملی تنسیس تنها در گله هایی که توأم با بزهای آلوده چرا می کنند مشاهده شده است. در مناطق پرورش بز در ونزوئلا، عفونت کاملاً مورد بررسی قرار نگرفته است.

۲-۱-۵- بیماری در انسان:

بروسلوز در انسان از بیماری های عفونی است که توسط باکتری هایی از جنس بروسلا ایجاد می شود. بیماری در انسان به دلیل تماس با حیوان عفونی و یا بلع شیر و محصولات لبنی آلوده حادث می گردد. علائم بیماری در انسان غالباً غیر اختصاصی و شامل تب، بی حالی و کاهش وزن است (پورجعفر، ۱۳۸۵).

• اتیولوژی:

انسان به عفونت ناشی از بروسلا ملی تنسیس، بروسلا سوئیس، بروسلا ابورتوس و بروسلا کنیس حساس می باشد. هیچ مورد ابتلای انسان به بروسلا اوویس و بروسلا نتوتوما گزارش نشده است. بیماریزاترین انواع برای انسان در درجه اول بروسلا ملی تنسیس و سپس بروسلا سوئیس و بروسلا ابورتوس را شامل می گردد و خفیف ترین بیماری توسط بروسلا کنیس مطرح است (ذوقی، ۱۳۶۹).

• اپیدمیولوژی:

موارد آلودگی با بروسلا به مراتب بیشتر از دیگر آلودگی های باکتریایی است که دلالت بر حساسیت ویژه انسان دارد و عفونت انسان به وسیله تعداد خیلی کم باکتری را متصور می سازد (ذوقی، ۱۳۷۰). بیماری در حیوانات هم به طریق جنسی و هم از راه بلع مواد آلوده بروز می نماید؛ اما در انسان بیماری به دنبال بلع محصولات دامی آلوده و تماس پوست ناسالم با باکتری رخ می دهد. پنیر تازه و شیر خام بز آلوده به بروسلا ملی تنسیس معمولترین منبع آلودگی با بروسلا در انسان است. شیوع اپیدمییک بیماری در نتیجه مصرف شیر گاو آلوده به بروسلا سوئیس دیده شده است (ذوقی، ۱۳۶۹). اگرچه سالانه ۵۰۰۰۰۰ مورد جدید از بروسلوز انسان در سطح جهان گزارش می شود، ولی در ایالات متحده آمریکا با کمتر از ۲۰۰ مورد در سال بیماری نادری محسوب می گردد. در این کشور میزان ابتلای مردان نسبت به زنان ۶ به ۱ گزارش شده است (ذوقی، ۱۳۷۰).

چنین به نظر می رسد که تنها حدود ۴ درصد از موارد ابتلا به بروسلوز شناخته و گزارش می شود. در آمریکا بروسلوز عمدتاً یک بیماری شغلی است. دامپزشکان بر حسب اتفاق ممکن است با باکتری تخفیف حدت یافته و زنده بروسلا ابورتوس در حین واکسیناسیون آلوده شده و بیماری خفیفی را نشان دهند. در سطح جهان بروسلا ملی تنسیس مهمترین عامل بروسلوز محسوب می شود (Dajer, 1998).

مطالعه اپیدمیولوژیک بیماری در انسان نشان داده است که در مناطق روستایی بیماری به صورت مستقیم و غیر مستقیم به انسان سرایت می کند. درحالیکه در مناطق شهری مصرف محصولات پاستوریزه نشده باعث سرایت بیماری به انسان می گردد. در این رابطه از سال ۱۹۷۶ تا ۱۹۸۵ جمعاً ۴۹۷۵ نمونه خون از بیمارستان ها و کلینیک های خصوصی تهران و استان ها جمع آوری شده، با استفاده از آنتی ژن سویه های ۱۹ و ۹۹ بروسلا ابورتوس، آزمایش های رزینگال، آگلوتیناسیون در لوله و ثبوت عناصر مکمل انجام گرفت. خون نیز در محیط های مخصوص بروسلا کشت گردید. از کل ۴۹۷۵ نمونه مشکوک، ۱۴۹۷ نمونه سرم (۳۰ درصد) از نظر سرولوژیکی مثبت بودند. تمام باکتری های جدا شده تیپ ۱ بروسلا ملی تنسیس بوده است (Zowghi, 1986).

• بیماریزایی و آسیب شناسی:

با تهاجم باکتری به بدن، ارگانسم، توسط لوکوسیت های پلی مورفونوکلئو و ماکروفاژها بلعیده می شود. برخی از باکتری ها نابود شده؛ اما گروهی دیگر درون سلول های مذکور تکثیر یافته و آن ها را نابود می سازند. سپس باکتری ها از طریق سیستم لنفاوی به غدد لنفاوی و بالاخره به جریان خون راه می یابند. نتیجتاً باکتری حاصل به گروهی از سلول ها در سیستم رتیکولاندوتلیال^۱ در کبد، طحال، مغز استخوان و سایر اندام ها مثل کلیه ها سرایت می نماید. بروسلای موجود در سلول های فاگوسیت^۲ کشنده در قبال پادتن ها و آنتی بیوتیک ها مصون خواهند ماند.

واکنش بافتی در مقابل بروسلا با تشکیل گرانولوما^۳ توام با سلول های اپیتلوئید^۴، سلول های غول پیکر، لنفوسیت ها و پلازما سل ها همراه است. بروسلا ابورتوس معمولاً بیماری ملایمی همراه با گرانولوماهای غیر پنیری در کبد و اندام های رتیکولاندوتلیال به دنبال دارد.

بروسلا سوئیس بیماری شدیدتری همراه با ضایعات موضعی چرکی و گرانولوماهای پنیری ایجاد می کند. بروسلا ملی تنسیس شدیدترین نوع بیماری را در حالت حاد خود در کنار علائم مربوطه به دنبال دارد. بیماری ناشی از بروسلا کنیس شبیه به همان مواردی است که در مورد بروسلا ابورتوس ذکر شد. ماکروفاژهای فعال شده قادر به نابودی بروسلا هستند و از همین رو یک مکانیزم احتمالی برای بهبودی خود به خودی و ایمنی

^۱ -Reticuloendothelial System

^۲ -Phagocytic Cell

^۳ -Granulomas

^۴ - Epithelioid Cells

زایی محسوب می شوند. گرانولوماهای ایجاد شده سرانجام فیروزه^۱ و بالاخره آهکی می گردند. اگرچه بروسلوز از عوامل معمول سقط جنین در حیوانات محسوب می شود؛ ولی هنوز شواهدی در دست نیست که سقط جنین های انسان را بدان مستند سازند.

دمیرداگ^۲ و همکاران در سال ۲۰۰۳ طی تحقیقات خود به این نتیجه رسیدند که اینترفرون گاما^۳ و فاکتور نکروز کننده تومور آلفا^۴ به طور معنی داری در موارد بروسلوز حاد، نسبت به گروه کنترل و افرادی که تحت درمان قرار گرفته اند بالاتر است و همچنین بیان داشته اند که این فاکتور ها در پاتوفیزیولوژی بیماری نقش دارند و ارتباط نزدیکی با ایجاد التهاب در بیماری دارند (Demirdag, 2003).

طی مطالعه دیگری که توسط براوو و همکاران در سال ۲۰۰۳ انجام گرفته میزان ژنوتیپ A/A ۸۷۴ + اینترفرون گاما به طور معنی داری در بیماران مبتلا به بروسلوز در مقایسه با افراد سالم بالاتر بوده؛ ولی در مورد ژنوتیپ اینترلوکین ۱۰^۵ این اختلاف مشاهده نشده است (Bravo, 2003).

بر اساس مطالعه یاموک و همکاران^۶ در سال ۲۰۰۳ شدت بیماری ایجاد شده توسط بروسلا ملی تنسیس در خرگوش هایی که به طور تجربی به دیابت مبتلا شده اند نسبت به سایرین بیشتر است و شدت دیابت در آینده نگر بیماری تأثیر دارد (Yumuk, 2003).

• علائم :

بیمار مبتلا به بروسلوز ممکن است بی آنکه علائمی داشته باشد از نظر سرولوژیک مثبت تلقی گردد. خصوصاً کودکان به عفونت تحت بالینی مستعد هستند. بیماری سپتی سمیک بوده، با شروع ناگهانی و غافلگیر کننده که با تب مداوم، متناوب یا منظم همراه می باشد. نشانه شناسی بروسلوز حاد، همانند بسیاری از بیماریهای تب دار، احساس سرما، عرق زیاد و درجه حرارت بالا را شامل می گردد. تقریباً یک نشانی ثابت ضعف است و فعالیت بدنی خستگی مفرطی را ایجاد می نماید. درجه حرارت بدن از حد طبیعی در صبح تا ۴۰ درجه سانتی گراد در بعد از ظهر می تواند متغیر باشد. عرق با بوی مخصوص در شب ترشح می گردد. علائم زیرین شامل: بی خوابی، ضعف و عدم توانایی جنسی، یبوست، بی اشتها، سردرد، درد مفاصل و بی قراری عمومی بطور معمول دیده می شود. بیماری تأثیر مشخصی بر سیستم عصبی داشته و به اشکال بی حوصلگی، عصبانیت و افسردگی تظاهر می یابد. در بسیاری از بیماران هیپرتروفی غدد لنفاوی محیطی یا بزرگ شدن طحال (اسپلنومگالی)^۷ اغلب بزرگ شدن کبد (هپاتومگالی)^۸ و به ندرت زردی دیده می شود.

¹-Fibrosis

²-Dimirdag

³-Gamma Interferom

⁴-Tumor Necrosis Factor- Alpha

⁵-Interleukin 10

⁶-Yumuk et. al.

⁷-Splenomegaly

⁸-Hepetomegaly

طول دوره بیماری می تواند از چند هفته یا ماه تا چند سال متغیر باشد. روش های درمانی جدید بطور قابل ملاحظه ای طول دوره بیماری و همچنین عود مجدد آن را کاهش داده است. عوارضی جدی چون آنسفالیت^۱، مننژیت^۲، تورم اعصاب محیطی (نوریت)^۳، اسپوندیلیت^۴، آرتریت چرکی^۵ و اندوکاردیت و جتاتیو^۶ ممکن است تظاهر نمایند.

میکروب های بروسلا به طور داخل سلولی در بافت های سیستم رتیکولواندوتلیال، چون غدد لنفاوی، مغز استخوان، طحال و کبد موضعی می گردند و واکنش نسجی نوع گرانولوماتوز ایجاد می شود. در برخی از بیماران، بیماری سیری مزمن طی نموده و ممکن است به مدت چندین سال با یا بدون حضور کانون لوکالیزه شده عفونت به طول انجامد. نشانه های بیماری با ازدیاد حساسیت ارتباط می یابد. تشخیص بروسلوز مزمن مشکل است. در نواحی بومی بروسلوز، به ویژه در مورد بروسلوز گاوی، عفونت های تحت بالینی به وقوع می پیوندد. بنابراین می توان تظاهرات بروسلوز در انسان را بر ۳ حالت حاد، موضعی و مزمن تقسیم کرد:

الف) بروسلوز حاد:

عموماً دوره کمون بیماری درد این فرم از یک تا ۳ هفته بوده، ولیکن گاهی اوقات ممکن است تا چند ماه به طول انجامد (ذوقی، ۱۳۶۹). بیماری غالباً با تب ملایمی آغاز می شود و به دنبال آن بی حالی، ضعف، خستگی، سردرد، درد پشت، دردهای عضلانی، تعریق و لرز بروز می نماید. در صورتی که عامل بیماری بروسلا ملی تنسیس بوده باشد بیماری با تب شدیدی شروع می شود و با پیشرفت بیماری بزرگ شدن طحال (اسپلنومگالی)، بزرگ شدن کبد (هپاتومگالی) و لنفادنوپاتی^۷ رخ می دهد.

ب) بروسلوز موضعی:

این حالت از بیماری ممکن است در هر ناحیه ای از بدن بروز کند. ولی استئومیلیت، آبسه های طحال، عفونت دستگاه ادراری تناسلی، عفونت ریوی و اندوکاردیت شایع تر است. آرتریت نیز در ناحیه زانو غالباً ممکن است رخ دهد. تورم بیضه و اپیدیدیم و به درجات کمتری عفونت پروستات و کلیه، احتمالاً به وقوع می پیوندد. ضایعات عصبی اگرچه نادرند، اما به صورت متنگوانسفالیت^۸، میلیت^۹، رادیکولیت^{۱۰}، نوروپاتی^{۱۱} های محیطی ممکن است، دیده شوند. اندوکاردیت مهمترین عامل مرگ و میر در بیماران مبتلا به

¹ -Encephalitis

² -Menengitis

³ -Peripheral neuritis

⁴ -Spondylitis

⁵ -Suppurative arthritis

⁶ -Vegetative endocarditis

⁷ -Lymphadenopathy

⁸ -Meningoencephalitis

⁹ -Myelitis

¹⁰ -Radiculitis

¹¹ -Neuropathy

بروسلوز است که در مردان شایع تر از زنان بوده، غالباً در نتیجه آئورتی را در بر می گیرد و همراه با نارسایی احتقانی قلب و آمبولی های سرخرگی خواهد بود. در درمان این حالت تعویض دریچه و استفاده از آنتی بیوتیک ها ضرورت دارد.

ج) بروسلوز مزمن:

بروسلوز مزمن به حالتی از بیماری اطلاق می گردد که بیش از یک سال از شروع آن گذشته باشد. بروسلوز مزمن علائم متنوعی دارد و شامل بیماریانی می شود که کسالت آن ها عود کننده بوده و عفونت های موضعی ممکن است باشد یا نباشد و علائمی چون تب و شواهدی چون تست های سرولوژیکی مثبت و جداسازی ارگانسیم نیز وجود ندارد. حالت غیر معمولی از بروسلوز در دامپزشکانی که مبادرت به جداسازی جفت حیوانات آلوده نموده اند شامل برجستگی های اریتماتوز^۱ بر روی دست و بازو که احتمالاً به دلیل واکنش افزایش حساسیت در مقابل پادگن های بروسلاست، دیده شده است.

• تشخیص:

بسیاری از آزمایش های معمول در تشخیص بیماری مؤثر نیستند. به منظور تشخیص بیماری در هر مرحله روش های استاندارد ویژه ای توسط WHO معین گردیده است. تشخیص بروسلوز به تفسیر همزمان یافته های بالینی و آزمایشگاهی وابسته است. بررسی های آزمایشگاهی بر اساس جداسازی عامل بیماری از کشت خون، مغز استخوان، مایع مغزی - نخاعی و دیگر نمونه ها و یا از طریق سرولوژی و تعیین وجود پادتن در خون، شیر، مخاط واژن و مایع منی است (ذوقی، ۱۳۷۱؛ پورجعفر، ۱۳۸۵).

• تشخیص باکتریولوژیک بروسلوز:

جداسازی و شناسایی باکتری بروسلا، معتبرترین و دقیقترین روش تشخیصی است. کشت خون با موفقیت متفاوت از ۱۷ تا ۸۵.۴٪ گزارش شده است. علاوه بر کشت خون، کشت مغز استخوان، مایع مغزی - نخاعی، مایع مفصلی، غدد لنفاوی، طحال، کبد، ادرار، اسپرم و غیره ... نیز می تواند صورت بگیرد. در بروسلوز موضعی بیوپسی و جداسازی ارگانسیم در تشخیص بیماری ضرورت دارد (پورجعفر، ۱۳۸۵).

• تشخیص سرولوژی بروسلوز:

اساس تشخیص آزمایش های سرمی مبتنی بر شناسایی آنتی بادی در سرم مورد بررسی است. میزان پاسخ سرولوژی در ارتباط با مرحله بیماری، دوره کمون طولانی و متغیر، وضعیت واکسیناسیون دامها، طبیعت درگیر شدن دامها با باکتری و مرحله آبستنی دام متفاوت است (Diaz, 1990). بر اساس ساختار آنتی ژن بروسلا آزمایش های سرمی را می توان به دو دسته تقسیم نمود.

(۱) آزمایش هایی که در آن تمام پیکر باکتری به عنوان آنتی ژن استفاده می شود.

(۲) آزمایش هایی که در آنها فراکسیون هایی از پیکر باکتری بعنوان آنتی ژن استفاده می شود.

¹ -Erythematous