الانتشار المصلي لمرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام في محافظة حماه في سورية

محمد فائز الطباع* عبد الكريم قلب اللوز** وياسر العمر***

(الإيداع:20 تموز 2020 ، القبول: 14 تشرين الأول 2020)

الملخص:

تم اختبار 312 عينة مصل دم من /17/ قطيعاً من أغنام العواس في المنطقة الوسطى في محافظة حماه مدينة وريفاً للكشف عن الانتشار المصلي لمرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام، بلغ عدد الأغنام في القطعان التي تمت دراستها (3715) رأساً من الغنم.

بينت الدراسة أن نسبة الانتشار المصلي للإجهاض الناجم عن المتدثرة المجهضة بلغت (11.53%)، كانت (312/36) عينة إيجابية للأضداد النوعية للمتدثرة المجهضة باستخدام اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم "الأليزا".

وتراوحت نسب الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة في أغنام الدراسة في محافظة حماة ما بين (0% – 100%) في العينات المختبرة من كل قطيع، بلغت نسب الانتشار المصلي (42/6) 14.28% في المدينة، و (36/6) 16.66% في قمحانة، و (18/6) 33.33% في تل التوت، و (18/6) 33.33% في المباركات، وكانت أعلى نسبة انتشار مصلي للمتدثرة المجهضة في معر شحور حيث بلغت (12/12) 100%، في حين كانت العينات المختبرة من بقية المناطق سلبية للمتدثرة المجهضة.

الكلمات المفتاحية: المتدثرة المجهضة، الإجهاض المستوطن عند الأغنام، الانتشار المصلي.

* طالب ماجستير في قسم أمراض الحيوان بجامعة حماة – اختصاص أمراض معدية.

** أستاذ الأمراض السارية والوبائيات – قسم أمراض الحيوان في كلية الطب البيطري بجامعة حماة.

***أستاذ الوبائيات – قسم أمراض الحيوان في كلية الطب البيطري بجامعة حماة.

Seroprevalence of Ovine Enzootic Abortion of Sheep in Hama Governorate in Syria

Mohammad Faez Al-Tabbaa* **Abdul Karim Kalb Allouz**** **Yaser Al-Omar*****

(Received: 20 July 2020, Accepted: 14 October 2020)

Abstract:

312 blood samples were collected from 17 sheep flocks beyond to Awasi breed in the middle region in Hama governorate in the down town and provience to discover the seroprevalence of Ovine Enzootic Abortion of Sheep. The study involved 3715 sheep heads.

The study was confirmed that the proportion of seroprevalence of abortion resulted of Chlamydia abortus reached to 11.53% as fraction 36/312 positive samples of specific antibodies of Chlamydia abortus. It was detected of positive antibodies of C. abortus in 5 study flocks with percent of 29.41%.

The seroprevalence proportion of C. abortus in sheep study in Hama governorate ranged between (0-100%) in tested samples from every flock, in which seroprevalence proportion reached 14.28% in down town, 16.66% in Koumhana, 33.33% in Tal-Altut, 33.33% in Al-Mbarkat, and the highest seropositive prevalence of C. abortus in Maarshoor 100%. However the tested samples from other study regions had been negative of C. abourts.

Keywords: Chlamydia abortus, Ovine Enzootic Abortion, Seroprevalence.

***Master student - Department of Animal Diseases - infectious diseases Faculty of Vet. Med. – Hama Univ.**

****Prof. in the Department of Animal Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.**

*****Prof. in the Department of Animal Diseases – Faculty of Veterinary Medicine – Hama University.**

1- المقدمة Introduction:

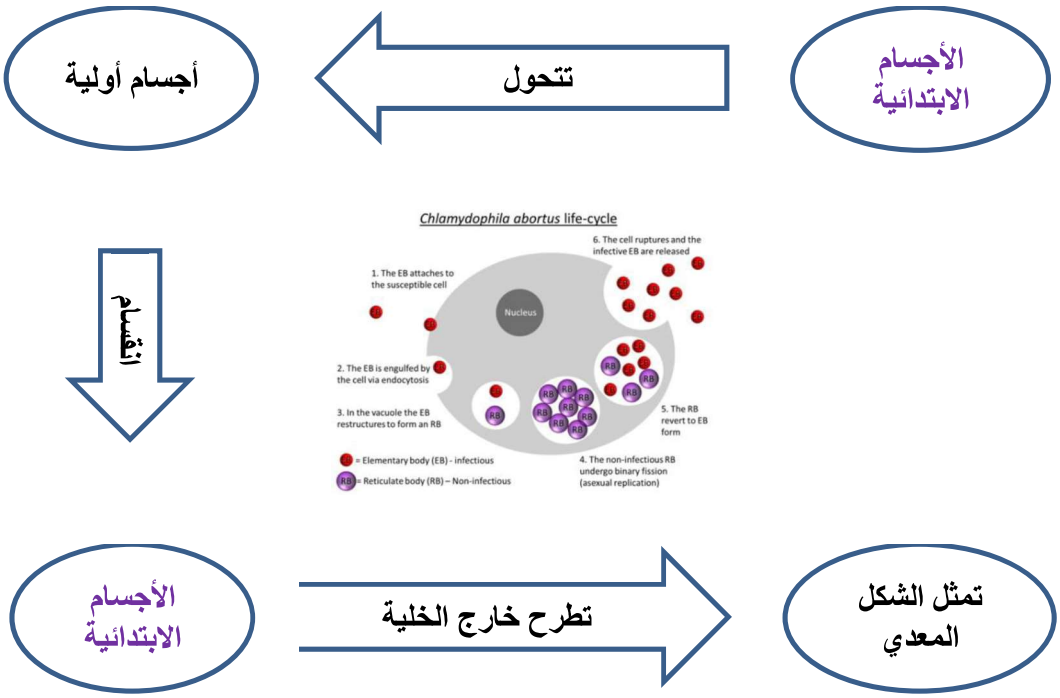
يعد مرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام Ovine Enzootic Abortion (OEA) أو ما يدعى إجهاض النعاج المستوطن Enzootic Abortion of Ewes (EAE) أو داء المتدثرة عند الأغنام Ovine Chlamydiosis (OC) الناجم عن الإصابة بجراثيم المتدثرة المجهضة من مسببات الاجهاض المستوطنة عند النعاج الحوامل (OIE, 2018). تؤدي الإصابة بالمتدثرة المجهضة إلى حدوث الإجهاض بشكل نموذجي في الأسبوعين أو الثلاثة أسابيع الأخيرة من الحمل، والتهابات في المشائم، ويمكن أن تؤدي العدوى إلى ولادة حملان نافقة أو ضعيفة البنية لا تستطيع البقاء على قيد الحياة لأكثر من 48 ساعة، ونادراً ما توجد أعراض واضحة تشير إلى أن الإجهاض سوف يحدث بالرغم من التغيرات السلوكية والسوائل المهبلية التي يمكن أن تلاحظ قبل الإجهاض. يصيب المرض بشكل أساسي الأغنام والماعز وبشكل أقل الأبقار والخنازير ويمكن أن يصيب الغزلان أيضاً. وهو مرض مستوطن في المجترات الصغيرة وينتقل إلى النساء الحوامل أيضاً (OIE, 2018). وقد وصف الباحثون (Jones, 1997، Everett, 2000 و Kennedy *et al.*, 2001) المتدثرة المجهضة على أنها جراثيم سالبة الغرام، مكورة قطرها 0.3 ميكرون، متطفلة داخل خلوية مجبرة لا تستطيع العيش خارج الخلايا بسبب ضعف جهازها الأنظيمي، غير متحركة، لها جدار خلوي لذلك تقبل الصبغات مثل صبغة زيل نيلسون المعدلة وصبغة غرام وتشبه من الناحية الشكليائية الكوكسيلة برونيتي (Coxiella Brunetti). تفقد جراثيم الكلاميديا (المتدثرة) قدرتها الإمراضية عند تعرضها لدرجة حرارة 56°م لمدة 10 دقائق وكذلك عند التعرض المباشر للإيتر والفينول والفورماليين لمدة 30 دقيقة. وقد أشار الباحثان (Popov & Martinov,1982) إلى أنها تشكل في الجسم الحي بعد العدوى أجسام احتوائية يمكن الكشف عنها بالمجهر الإلكتروني. وتمر دورة حياة المتدثرة المجهضة بطورين:

1- طور داخل الخلية يتميز بأجسام أولية كبيرة الحجم Reticulate Body (RB).

2- طور خارج الخلية يتميز بأجسام ابتدائية صغيرة الحجم Elementary Body (EB).

تتميز المتدثرة المجهضة بدورة تكاثرية فريدة ثنائية الطور تتبدل بين مرحلة العدوى خارج الخلية ومرحلة التكاثر الخلوي المجبرة وهي غير معدية. يدعى الشكل المعدي للمتدثرة الجسم الابتدائي (EB) ويبلغ حجمه (300 – 400) نانو متر، ويشبه الأبواغ وهو خامل استقلابياً وموجود خارج الخلايا (Songer and Post, 2005، Galiero, 2007 و Mousa *et al.*, 2010)، يملك جداراً سميكاً يحتوي على روابط كبريتية ثنائية تحمي الجسم الابتدائي خارج خلايا المضيف. واللب الداخلي كثيف وهو يصبغ بالصبغة سالبة الغرام (Aitken and Longbottom, 2007). أما الشكل غير المعدي فيدعى الجسم الشبكي (RB) وهو كبير الحجم (800–1000) نانو متر، يمثل الطور غير المعدي وهو نشيط استقلابياً وقادر على التكاثر والانقسام داخل الخلية (Songer and Post, 2005، Galiero, 2007 و Mousa *et al.*, 2010) وهو رقيق الجدار ومحتوياته حبيبية متجانسة ولا يمكنه البقاء خارج خلايا الثوي (Aitken and Longbottom, 2007). يحدث التطور الخلوي ضمن فجوة من الغشاء النسيجي تدعى بالمشتملات (Aitken and Longbottom, 2007 و Mousa *et al.*, 2010). وتبدأ الدورة التكاثرية للمتدثرات بالتصاق الجسم الابتدائي (EB) بخلية الثوي الحي عن طريق مستقبلات بروتينية في الغشاء النسيجي (Ojcius and Byrne, 2004)، ومن ثم يدخل خلية المضيف بعملية التقام خاصة مشكلاً فجوة داخل الخلية تحيط بالجسم الابتدائي (EB) وبذلك يصبح الثوي مصاباً. وعندما يدخل الجسم الابتدائي (EB) خلية الثوي فإنه لا يغادر الفجوة الهيولية التي دخل فيها، وبعد 8 ساعات من العدوى الخلوية تتمايز الأجسام الابتدائية (EB) الخاملة استقلابياً إلى أجسام شبكية (RB) التي تشكل المرحلة غير المعدية في الجسم والتي تصنع الـ RNA و DNA والبروتينات الخاصة بها معتمدة على ATP الخلية المضيفة، ويتم التكاثر بواسطة الانشطار الثنائي ويستمر مدة 18–24 ساعة. تدعى الفجوة التي تتراكم فيها الأجسام الشبكية (RB) بالمشتملات، وبعد 24 ساعة تبدأ هذه

الأجسام الشبكية (RB) بالتمايز إلى أجسام ابتدائية (EB) وتتمزق الخلايا المصابة في النهاية مطلقة الأجسام الابتدائية التي تنقل العدوى إلى خلايا جديدة (Songer and Post, 2005 و Williams and Donovan, 2009). ويظهر الشكل رقم (1) الدورة التكاثرية الفريدة للمتدثرة (الكلاميديا) المجهضة.



الشكل رقم (1): الدورة التكاثرية الفريدة للمتدثرة (الكلاميديا) المجهضة (Aitken, 1991).

تحمي الفجوة التي تحيط بالجراثيم الجسيم الشبكي (RB) من الجسيمات الحالة وتمنع إزالته بأي من وسائل الدفاع الأخرى (Aitken & Longbottom, 2007 و Williams & Donovan, 2009) ويمكن أن تلتصق الأجسام الابتدائية الجديدة بخلايا المضيف نفسه أو خلايا مضيف آخر (Williams & Donovan, 2009). وفي آخر تصنيف لعائلة المتدثرات Chlamydiaceae فإنها تتألف من مجموعة جراثيم سالبة الغرام، داخل خلوية مجبرة تصنف في جنس وحيد هو جنس المتدثرة Chlamydia الذي يضم أحد عشر نوعاً من المتدثرات. هي المتدثرة البشرية Chlamydia trachomatis، المتدثرة الخنزيرية Chlamydia suis، المتدثرة الفأرية التي تصيب الفئران والهامستر Chlamydia muridarum، المتدثرة الببغائية Chlamydia psittaci، المتدثرة القطية Chlamydia felis، المتدثرة المجهضة Chlamydia abortus التي تصيب الأغنام والماعز والأبقار، المتدثرة Chlamydia caviae التي تصيب خنازير غينيا، المتدثرة بيكوروم التي تصيب الأغنام والأبقار والكوالا Chlamydia pecurum، المتدثرة الرئوية التي تصيب البشر Chlamydia pneumonia، والمتدثرات الطيرية Chlamydia avium و Chlamydia gallinacean وكلاهما يصيب الطيور (Sachse *et al.*, 2015 و OIE, 2018). وقد أشار (Stamp *et al.*, 1950) إلى الكشف عن إجهاض الأغنام المستوطن الناجم عن الإصابة بالمتدثرة لأول مرة في اسكتلنده، ثم سجل وجوده في إيطاليا عام 1951، ونيوزيلندا عام 1952، وفي ألمانيا الشرقية عام 1954، وفي فرنسا عام 1956، وفي الولايات المتحدة وهنغاريا وبلغاريا عام 1958، وفي رومانيا عام 1959، وفي يوغسلافيا عام 1964، ثم في كل من سويسرا وهولندا واسبانيا وبولونيا والاتحاد السوفيتي

وتركيا والهند واليابان وتونس وتشاد واليونان (Rodolakis, 2001). وينتشر المرض في العديد من الدول المهتمة بتربية الأغنام ماعدا استراليا ونيوزيلندا (OIE, 2009).

وقد ذكر (Jimenez–Estrada *et al.*, 2008) بأن الانتشار المصلي للإجهاض المستوطن عند الأغنام بالمتدثرة المجهضة يقدر بنحو 8.6% في المملكة المتحدة، و 21.8% في إسبانيا، و 50,5% في الأردن، في حين بلغت نسبة الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة 21.3% في الدراسة التي أجراها وزملاؤه في المكسيك. وفي سويسرا تعد المتدثرة المجهضة المسؤولة عن 39% من إجهاضات الأغنام و 23% من إجهاضات الماعز (Borel *et al.*, 2006)، وفي كندا يعد إجهاض الأغنام المستوطن المسؤول عن 46.8% من إجهاضات الأغنام في الفترة ما بين عامي 1978 و 1982 (Papp *et al.*, 1993). ويعد مرض إجهاض الأغنام المستوطن المسبب الرئيسي لنقص عدد الأغنام والماعز في كل من أوروبا وشمال أمريكا وافريقيا، حيث أصبحت العدوى شائعة ومسببة للخسائر في المواليد والمسؤولة عن حوالي 50% من الإجهاضات في المملكة المتحدة (COST, 2002 و Longbottom *et al.*, 2002). في دول الجوار والأقطار العربية تبين بأن نسبة الانتشار المصلي للكلاميديوفيلا المجهضة في الأغنام في تركيا تراوحت بين 5.40 – 18.29% (Gokce *et al.*, 2007)، كما ثبت وجود إجهاض الأغنام المستوطن في الأهواز بإيران حيث بلغت نسبة الانتشار المصلي 8.9% (Ghorbanpoor *et al.*, 2007)، كذلك في الأردن فقد سجل الانتشار المصلي لأضداد للكلاميديوفيلا المجهضة 21.8% في الأغنام و 11.4% في الماعز، وفي منطقة المفرق التي تمتد على حدود ثلاثة دول هي سورية والسعودية والعراق كانت نسبة الانتشار المصلي مرتفعة حيث وصلت إلى 32.2% ,.AL–Qudah *et al* (2004).كما بينت الدراسات المصلية حول مسببات الإجهاض عند الحيوانات في فلسطين بأن المتدثرة المجهضة هي المسؤولة عن 60% من الإجهاضات خلال الفترة ما بين عامي 1999 – 2000 (Barhoom, 2007)، وبلغت نسبة الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة في مزارع تربية الأغنام في مصر 11.68% باستخدام اختبار تثبيت المتممة (El–Sayed, 1993).

يشخص الاجهاض المستوطن عند الأغنام من خلال الفحص المجهري للمسحات المأخوذة من الزغابات الكريونية أو من المشيمة، وفي حال فقدان المشيمة يمكن أخذ المسحات من المهبل عند الأغنام المجهضة حديثاً، أو من الحملان المتحنطة أو النافقة أو الأجنة المجهضة (Aitken & Longbottom, 2007، Samkange, 2008، OIE, 2008 و OIE, 2009). ولعزل المتدثرات يجب استخدام المزارع الخلوية أو أجنة الدجاج (OIE, 2018). ولتشخيص مرض إجهاض الأغنام المستوطن مصلياً تعتبر الاختبارات المصلية سهلة التطبيق ومناسبة خاصة في حال تحليل عدد كبير من العينات. وقد اعتمد سابقاً على إجراء اختبار تثبيت المتممة Complement fixation test بشكل واسع لتحديد عدوى المتدثرة المجهضة في الأغنام والماعز التي تختبر عموماً خلال ثلاثة شهور من الولادة أو الإجهاض (OIE, 2008 و Samkange, 2008). ويعد اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم ELISA الاختبار المفضل من قبل مكتب الأوبئة الدولي (OIE) من أجل الدراسات التي تهدف لدراسة انتشار ومراقبة عدوى المتدثرة المجهضة مقارنة مع اختبار الـ (PCR) الذي يوصى به من أجل تأكيد الإصابة السريرية (OIE, 2018).

2– هدف الدراسة Objective of the study:

نظراً لقلة الدراسات الوبائية الكمية عن مرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام في سورية فقد هدفت هذه الدراسة إلى تحديد نسب الانتشار المصلي لمرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام باستخدام اختبار (المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم ELISA –Test).

3- مواد وطرائق البحث Material and Methods:

3-1- مواد البحث Material:

3-1-1- جمع العينات Samples:

تم جمع 312 عينة دم بالطريقة غير العشوائية المهدفة من الأغنام في 17 قطيعاً من قطعان الأغنام المشتبه بإصابتها بالمرض من محافظة حماة مدينةً وريفاً، حيث بلغ عدد الأغنام في قطعان الدراسة (3715) رأساً وعدد النعاج الحوامل المشمولة في قطعان الدراسة (2972) رأساً. للكشف عن العامل المسبب باستخدام تقانة المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم. ويظهر الجدول رقم (1) عدد عينات مصل الدم من مناطق الدراسة المختلفة.

الجدول رقم (1): عدد عينات الدم من الأغنام المختبرة من مناطق الدراسة المختلفة.

المنطقة	عدد عينات الدم المختبرة	المنطقة	عدد عينات الدم المختبرة	المنطقة	عدد عينات الدم المختبرة
المدينة	42	الطيبة	18	الصبورة	6
جبرين	18	مورك	18	عقيربات	18
قمحانة	36	معر شحور	12	أم العمد	18
قناة حسنا	18	الصواعق	12	السعن	18
المباركات	18	كاسون	12	تل التوت	18
عين الباد	18	تل الدرة	12		
إجمالي عدد عينات مصل الدم المختبرة				**312**	

3-2- طرائق البحث Methods:

3-2-1- اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم Enzyme-linked immunosorbent assay:

استخدم في هذا البحث اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم (ELISA) للتقصي عن مرض إجهاض الأغنام المستوطن عند الأغنام للكشف عن أضداد المتدثرة المجهضة، ويعتمد مبدأ الاختبار على كشف وقياس كمية أضداد المتدثرة المجهضة في مصل الدم الذي تم جمعه من أغنام الدراسة، باستخدام المستضد (المستضد النوعي الملتصق في حفر طبق الاختبار).إن إضافة المصل المأخوذ من دم الأغنام المصابة بالمتدثرة المجهضة إلى مستضد المتدثرة المجهضة ضمن حفر طبق الإليزا سيشكل معقد (المستضد – الأضداد النوعية) وبإجراء عملية الغسل الأولى تكون الأضداد غير النوعية قد أزيلت تماماً ليضاف بعدها ضد الغلوبيولين المرتبط بأنظيم البيروكسيداز (المقترن Conjugate) حيث يرتبط مع معقد (المستضد – الأضداد النوعية)، وبإجراء عملية الغسيل الثانية بعد فترة حضانة وجيزة يزال عامل الاقتران غير المرتبط وبإضافة الكاشف اللوني للأنظيم Substrste والذي يحتوي على المظهر اللوني Chromogen حيث يتغير اللون حسب شدة ارتباط أنظيم البيروكسيداز مع معقد (المستضد – الأضداد النوعية) وتشير الكثافة اللونية بالمقارنة مع الشاهد الإيجابي نسبياً إلى مستوى أضداد المتدثرة المجهضة. وبعد انتهاء فترة حضانة الكاشف اللوني للأنظيم يضاف محلول إيقاف التفاعل لإنهاء التفاعل، وباستخدام قارئ الإليزا تتم قراءة قيمة الامتصاص الضوئي في كل حفرة مختبرة على طول موجة 450 nm ، تبعاً لتعليمات شركة ID-Vet الفرنسية المنتجة.

3-2-2- طريقة الاختبار:

3-2-2-1- توزيع المصل Depositing The Serum:

يضاف 90 ميكروليتر من محلول التمديد 13 في كل حفرة ومن ثم يضاف 10 ميكروليتر من المصل المراد فحصه ويضاف 10 ميكروليتر من مصل الشاهد الإيجابي والشاهد السلبي في الحفر المحددة (A1 ,B1 , C1 , D1). يتم تجانس محتويات الحفر في الطبق بالهز اللطيف عن طريق وضعه على رجاج كهربائي ومن ثم يتم تغطية الطبق برقاقة من ورق الألمنيوم ويتم تحضين الطبق في الحاضنة لمدة ساعة في درجة حرارة 37°م.

3-2-2-2- عملية الغسيل الأولى Washing:

بعد انتهاء مدة التحضين يتم إجراء عملية الغسيل الأولى بإفراغ كافة محتويات حفر طبق الإليزا جيدا بقلبه ومن ثم يتم إجراء التنشيف بقلب الطبق على ورق نشاف نظيف وجاف عدة مرات ومن ثم يتم ملء الحفر في الطبق بمحلول الغسيل ويتم إفراغها ثانية وتكرر عملية الغسيل ثلاث مرات لإزالة جميع الارتباطات غير النوعية بين الأضداد والمستضد.

3-2-2-3- توزيع محلول الاقتران Depositing the Conjugate:

بعد الانتهاء من عملية الغسيل وتفريغ محتويات طبق الإليزا يتم إضافة 100 ميكروليتر لكل حفرة من محلول الاقتران الممدد بنسبة 1/ 100 من محلول التمديد (Dilution Buffer) بواسطة ماصة متعددة الرؤوس (12 رأس) ومن ثم يتم تغطية الطبق بورق الألمنيوم ووضعه في الحاضنة لمدة 30 دقيقة في درجة حرارة 37°م.

3-2-2-4- عملية الغسيل الثانية Washing:

بعد انتهاء مدة التحضين يتم إجراء عملية الغسيل الثانية بإفراغ كافة محتويات حفر طبق الإليزا جيدا بقلبه ومن ثم يتم التنشيف بقلب الطبق على ورق نشاف نظيف وجاف عدة مرات ومن ثم يتم ملء الحفر في الطبق بمحلول الغسيل ويتم إفراغها ثانية وتكرر عملية الغسيل ثلاث مرات.

3-2-2-5- إضافة الكاشف اللوني Revelation:

يضاف 100 ميكروليتر من محلول الكاشف اللوني Ready to use substrate solution الجاهز للاستخدام إلى كل حفرة من حفر طبق الإليزا ويتم تحضين الطبق بدرجة حرارة 37°م لمدة عشرين دقيقة في مكان بعيداً عن الضوء.

3-2-2-6- إضافة محلول إيقاف التفاعل Stop Solution:

بعد الانتهاء من مدة التحضين يتم إضافة 100 ميكروليتر من محلول إيقاف التفاعل Stop Solution إلى كل حفرة ومن ثم يتم هز الطبق بلطف حتى يتجانس محلول التلوين ويجب أن يتم المسح بحذر أسفل الطبق.

3-2-2-7- قراءة النتائج Resulted Reading:

1- يتم قراءة نتيجة الاختبار على الطبق باستخدام جهاز قارئ الإليزا على طول موجة 450 nm حيث تظهر قيم متوسط الامتصاص الضوئي OD (الكثافة الضوئية optical densities) لكل حفرة من حفر طبق الإليزا (ELISA).

2- يتم تقدير متوسط الامتصاص الضوئي للشاهد الإيجابي باستخدام قيم الامتصاص العلاقة التالية (مجموع القيم مقسمة على عددها) في الحفر A1 و B1.

3- يتم تقدير متوسط الامتصاص الضوئي للشاهد السلبي باستخدام قيم الامتصاص في الحفر C1 وD1 (مجموع القيم تقسيم عددها).

4- يتم طرح متوسط الامتصاص الضوئي للشاهد السلبي من متوسط الامتصاص الضوئي للشاهد الإيجابي المصحح Corrected positive.

5- يقدر المعدل الإيجابي لكل عينة مختبرة sample to positive (S / P) حسب المعادلة الآتية:

$$S/P\% = \frac{\text{corrected OD450 of the sample}}{\text{mean corrected OD450 of the positive control)}} \times 100$$

تعد النتائج ذات دقة موثوقة حسب المعايير الآتية:

إذا كانت قيمة متوسط الشاهد الإيجابي غير المصحح أكبر من 0.350، وإذا كانت النسبة بين متوسط القيمة المصححة للكثافة الضوئية OD للشاهد الإيجابي على طول موجة 450 nm والقيمة المصححة للكثافة الضوئية OD للشاهد السلبي على طول موجة 450 nm هي أكبر من 3. ويوضح الشكل رقم (2) مكونات العتيدة التشخيصية المستخدمة للكشف عن الحالات الإيجابية للمتدثرة المجهضة في العينات التي تم جمعها من قطعان الدراسة خلال فترة الدراسة. كما يوضح الشكل رقم (3) توزيع مصل الشاهد الإيجابي والشاهد السلبي وأمصال العينات التي تم جمعها في طبق الإليزا.

الشكل رقم (2): مكونات العتيدة التشخيصية المستخدمة للكشف عن الحالات الإيجابية للمتدثرة المجهضة في العينات التي تم جمعها من قطعان الدراسة في محافظة حماة.

A	P	5											
B	P	6											
C	N												
D	N												
E	1												
F	2												
G	3												
H	4												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

الشكل رقم (3): عملية توزيع مصل الشاهد الإيجابي والشاهد السلبي وأمصال العينات التي تم جمعها في طبق الإليزا.

3-2-2-8- تفسير النتائج Interpretation of Results:

إذا كانت قيمة S/P% تساوي أو أقل من 50% تعد الحيوانات سلبية النتائج. إذا كانت قيمة S/P% بين 50% و 60% تكون الحيوانات مشتبهة إصابتها. وإذا كانت قيمة S/P% تساوي أو أكبر من 60% تعتبر الحيوانات إيجابية لوجود اضداد المتدثرة المجهضة. ويوضح الجدول رقم (2) تفسير نتائج اختبار الإليزا.

الجدول رقم (2): تفسير نتائج اختبار الإليزا حسب بروتوكول الشركة المصنعة (IDVET).

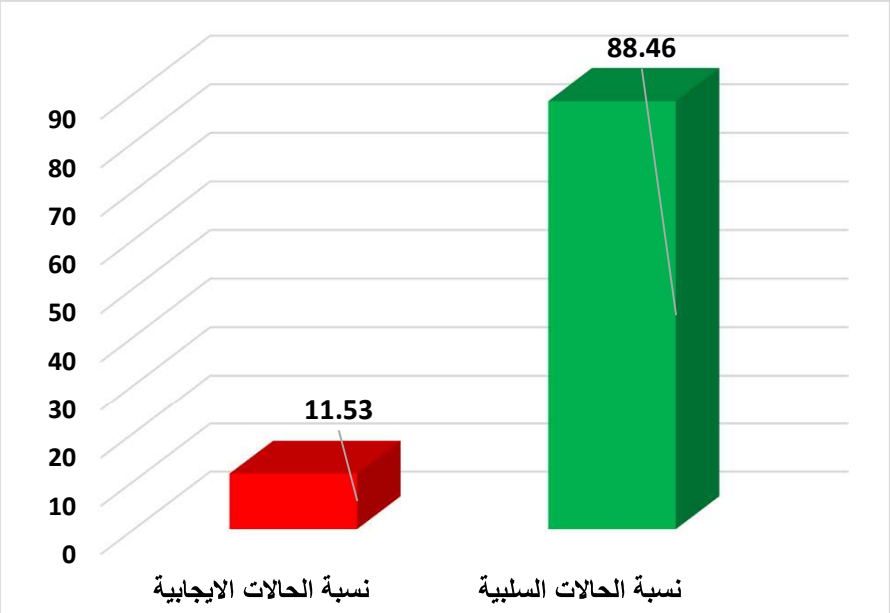
الأغنام المختبرة		
S / P % العينة	النتيجة	
SP% ≤ 50%	سلبية	-
S/P% <60%<50%	مشكوك فيها	D
SP%<100%<60%	إيجابية	+
S/P%>100%	إيجابية جداً	++

4- **النتائج Result:**

جمعت عينات الدراســـة من /17/ قطيعاً من أغنام العواس في المنطقة الوســـطى في محافظة حماة موزعة بين الريف والمدينة حيث بلغ عدد الأغنام في قطعان الدراسة (3715) رأساً غنم وعدد الأغنام الحوامل ضمن قطعان الدراسة (2972) رأساً. سجلت الدراسة أن نسبة الانتشار المصلي للإجهاض الناجم عن المتدثرة المجهضة بلغت (11.538%)، حيث كانت (312/36) عينة إيجابية للأضـداد النوعية للمتدثرة المجهضـة، ويظهر الجدول رقم (3) والشكل رقم (4) نسـب الانتشـار المصلي للحالات الإيجابية للمتدثرة المجهضة باستخدام تقنية الإليزا.

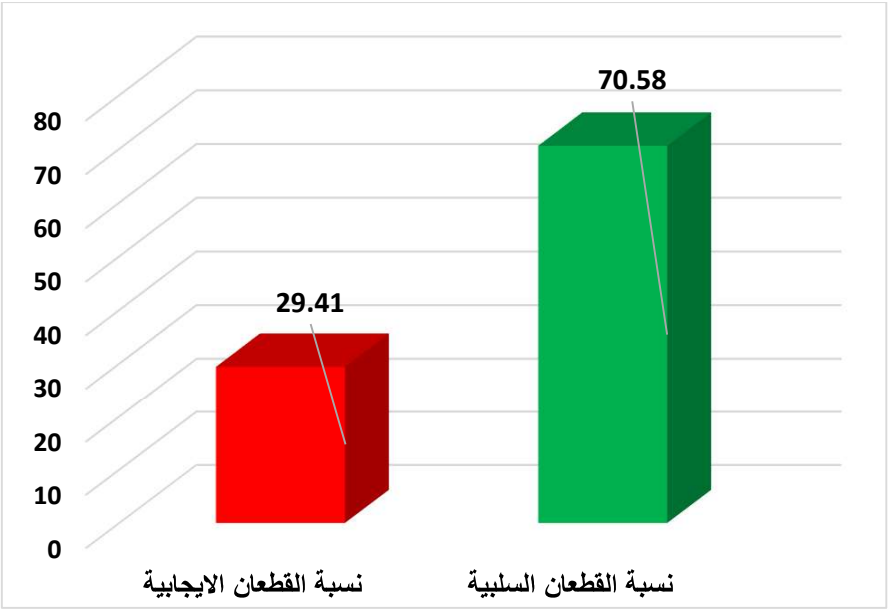
الجدول رقم (3) نسب الانتشار المصلي للحالات الإيجابية للمتدثرة المجهضة باستخدام تقنية الإليزا.

المنطقة	عدد عينات الدم المختبرة	عدد الحالات الإيجابية	عدد الحالات السلبية	نسبة الانتشار %
المدينة	42	6	36	14.28
جبرين	18	0	18	0
قمحانة	36	6	30	16.66
قنا حسنا	18	0	18	0
المباركات	18	6	12	33.33
عين الباد	18	0	18	0
الطيبة	18	0	18	0
مورك	18	0	18	0
معر شحور	12	12	0	100
الصواعق	12	0	12	0
كاسون	12	0	12	0
تل الدرة	12	0	12	0
الصبورة	6	0	6	0
العقيربات	**18**	**0**	**18**	**0**
أم العمد	**18**	**0**	**18**	**0**
السعن	**18**	**0**	**18**	**0**
تل التوت	**18**	**6**	**12**	**33.33**
الاجمالي	**312**	**36**	**276**	**11.53**



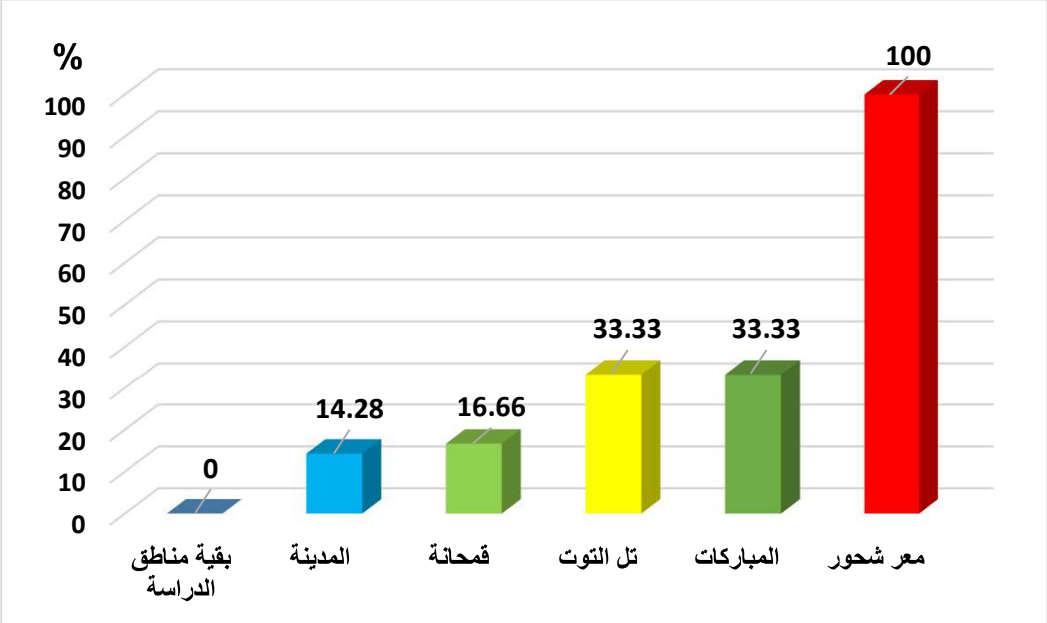
الشكل رقم (4): نسبة الانتشار المصلي للإجهاض الناجم عن المتدثرة المجهضة باستخدام تقنية الإليزا خلال فترة الدراسة في العينات المختبرة في محافظة حماة.

وتم الكشف عن وجود المتدثرة المجهضة في 5 قطعان من أصل 17 قطيع تم دراستها بنسبة 29.41% من قطعان الدراسة، ويوضح الشكل رقم (5) نسبة الانتشار المصلي في قطعان الدراسة.



الشكل رقم (5): نسبة الانتشار المصلي للإجهاض الناجم عن المتدثرة المجهضة في قطعان الدراسة في محافظة حماة.

وتراوحت نسب الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة في أغنام الدراسة في محافظة حماة ما بين (0– 100%) في العينات المختبرة من كل قطيع من القطعان التي شملتها الدراسة، حيث بلغت نسب الانتشار المصلي (42/6) 14.28% في المدينة، و (36/6) 16.66% في قمحانة، و (18/6) 33.33% في تل التوت، و (18/6) 33.33% في المباركات، وكانت أعلى نسبة انتشار مصلي للمتدثرة المجهضة في معر شحور حيث بلغت (12/12) 100%، في حين كانت العينات المختبرة من بقية المناطق سلبية للمتدثرة المجهضة. كما هو موضح في الجدول رقم (3) والشكل (6).



الشكل رقم (6): نسبة الانتشار المصلي للإجهاض الناجم عن المتدثرة المجهضة في المناطق المختلفة في محافظة حماة.

5– المناقشة Discussion:

المتدثرة المجهضة جراثيم خلوية مجبرة، سالبة الغرام، ومن المسببات الهامة للعدوى في الحيوان والانسان. وتسبب في الأغنام مرض إجهاض الأغنام المستوطن Ovine Enzootic Abortion (OEA)، وهو من الأمراض المعدية الهامة التي تسبب الإجهاض عند الأغنام والماعز مؤدية إلى خسائر اقتصادية في العديد من دول العالم (Atiken & Longboottom, 2007).

ويمكن أن يعزى الانتشار المصلي المرتفع للإجهاض المستوطن عند الأغنام نتيجة طرح الحيوانات المصابة لأعداد كبيرة من العامل المسبب عند حدوث الإجهاض أو الولادة وبشكل خاص مع المشائم والسوائل المهبلية وإمكانية طرحه مع الحليب والبراز والإفرازات الأنفية والعينية من الإناث المجهضة وأيضاً إمكانية انتقاله عن طريق الجهاز التناسلي مؤدياً إلى موت الأجنة أو العقم (Morgan *et al.*, 1988، Da Silva *et al.*, 2006 و OIE, 2018). ويعد الإجهاض المستوطن عند الأغنام ضمن قائمة الإصابات المرضية المسببة للإجهاض المسجلة في سورية ورغم ذلك لا يتم اتخاذ الاجراءات اللازمة للتقصي عن المرض حقلياً والقيام بالتحصين ضد الإجهاض المستوطن عند الأغنام نظراً لعدم توفر اللقاح في السوق المحلية السورية. وبينت هذه الدراسة نسبة الانتشار المصلي للإجهاض المستوطن عند الأغنام في محافظة حماة في

سـورية، حيث بلغت 11.53%. وقد توافقت هذه النتائج مع العديد من الدراسـات التي أظهرت وجود إصـابات بالمتدثرة المجهضـة عند الأغنام في المجترات الصـغيرة في الشرق الأوسط وآسيا. وإن نتائج هذه الدراسة لنسب الانتشار المصـلي للمتدثرة المجهضة عند الأغنام تتوافق مع الباحثين (Al-Dabagh *et al.*, 2014) في محافظة نينوى في العراق باستخدام تقنيات اختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم (11.2%).

وتوافقت نتائج هذه الدراسة أيضاً مع دراسة أجريت في شمال وشرق تركيا للكشف عن الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة عند الأغنام حيث سجلت تلك الدراسة نسبة انتشار (13.98%) بواسطة تقنية الإليزا (Gokce *et al.*, 2007). وتوافقت نتائج هذه الدراسة مع دراسة أجريت للكشف عن نسبة انتشار المصلي لمرض الإجهاض المستوطن عند الأغنام باستخدام اختبار الإليزا في شمال فلسطين حيث سجلت نسبة انتشار مصلي (13.7%) (Jalboush *et al.*, 2017). ولم تتوافق نتائج هذه الدراسـة مع نتائج الدراسـة التي أجراها (ابراهيم، 2014) على 50 عينة جنين مجهض من قطعان أغنام في محافظة حماة باسـتخدام اختبار تفاعل البوليميراز المتسـلسـل PCR للتقصـي عن دور المتدثرة المجهضـة وغيرها من المسببات الأخرى في إحداث الإجهاض عند الأغنام حيث تبين أن المتدثرة المجهضـة لا تلعب أي دور في الإجهاض عند الأغنام في القطعان التي اختبرها. ولم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع نسب الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة عند الأغنام في محافظة السليمانية في شمال العراق (3.33%) (Arif *et al.*, 2020).

وكذلك مع دراسة أجريت في المملكة العربية السعودية في محافظة الرياض حيث سجلت تلك الدراسة نسبة انتشار مصلي أقل (7.52%) للمدثرة المجهضـة عند الأغنام (Al-Jumaah and Hussein, 2012). كما لم تتوافق نتائج الدراسـة الحالية مع نتائج دراسة أجريت في المملكة الأردنية من أجل الكشف عن نسب الانتشار المصلي للأضداد النوعية للمتدثرة المجهضـة عند أغنام العواس والماعز البلدي في الأردن، حيث ثبت بأن 21.8% من العينات المختبرة كانت إيجابية وخاصة في منطقة المفرق التي تتوسط ثلاث بلدان مجاورة هي العراق والمملكة العربية السعودية والجمهورية العربية السورية حيث بلغت نسبة الانتشار المصلي فيها 31.2% مسجلة فروقات معنوية مع بقية مناطق الدراسة (AL-Qudah *et al.*, 2004). ولم تتوافق نتائج هذه الدراسة مع دراسة أجريت في تركيا للكشف عن الانتشار المصلي للمتدثرة المجهضة حيث سجلت نسبة (5.38%) في النعاج في تركيا باستخدام اختبار الإليزا (Otlu *et al.*, 2007).

قد تكون نسب الانتشار المصلي مختلفة بسبب نوع الاختبارات التشخيصية المستخدمة والمختلفة كاستخدام تقنية المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم، حيث يعد اختبار الإليزا أكثر حساسية من اختبار تثبيت المتممة حسب دراسات بحثية حديثة (Wilson *et al.*, 2009). يمكن أن تلعب المراعي ومصـادر المياه وتماس الحيوانات المجترة مع بعضـها البعض والتي تشكل القاسم المشترك في المناطق المحلية التي أجريت عليها الدراسات دوراً في زيادة انتشار مرض المتدثرة المجهضـة، إضـافة إلى ذلك فقد يؤدي التلوث البيئي الذي يحدث نتيجة الإجهاض أو الولادة عند النعاج المصـابة والتي تطرح أعداداً كبيرة من جراثيم المتدثرة المجهضـة مشكلةً مصـدراً رئيسـياً للعدوى، حيث يعتبر انتقال المسبب عن طريق تناول الأعلاف والمياه الملوثة بالمتدثرة المجهضة من خلال مخلفات الإجهاض والبول من الطرق الطبيعية لانتقال المرض (Rodolakis & Laroucau, 2015).

وعلى الرغم من وجود أدلة واضحة على وجود هذا المرض فإن معظم حالات الإجهاض تفتقر إلى التشخيص الجيد من قبل الأطباء البيطريين حيث من المحتمل أن تكون المتدثرة المجهضـة هي السـبب الأكثر أهمية للإجهاض في النعاج وتشـارك في 10% من حالات الإجهاض المعدي المبلغ عنها في الولايات المتحدة الأميركية (Essig and Longbottom, 2015).

6- الاستنتاجات والتوصيات Conclusions and Recommendations:

يمكن أن نستنتج مما سبق أن نسبة الانتشار المصلي لأضداد المتدثرة المجهضة في المنطقة الوسطى في محافظة حماة مرتفعة حيث وصلت نسب الانتشار في منطقة معر شحور إلى 100%، و (11.538%) في محافظة حماة مدينةً وريفاً. وهذا مؤشر وبائي يجب الحذر منه والأخذ بعين الاعتبار بأن الاجهاض المستوطن عند الأغنام يشكل أحد أهم مسببات الإجهاض في المنطقة الوسطى، مما يتوجب وضع الإجراءات الوقائية لتجنب الخسائر الاقتصادية التي يمكن أن تنجم عن فقدان الحملان في أثناء موسم الولادة علاوةً على ولادة حملان ضعيفة البنية نتيجة الإصابة بهذا المرض.

7- المراجع العلمية References:

1- Aitken, I. D. (1991): Enzootic (Chlamydial) Abortion. In: Diseases of Sheep. 2nd edition. Ed. W. B. Martin and I. D. Aitken. pp. 43-49. Blackwell Scientific Publications, Oxford.

2- Aitken, I. D. & Longbottom, D. (2007):Chlamydial abortion. In: Diseases of Sheep Fourth Edition.Blackwell Scientific Ltd., Oxford, UK, 105-112.

3- Al-Dabagh, I. I.; Jasim, B. M. and Jarjees, M. T. (2014):Seroprevalence of antibodies to toxoplasmosis, brucellosis and chlamydiosis in abortive sheep in Nineveh governorate, Iraq. Iraqi Journal of Veterinary Sciences, Vol. 28, No. 1, (21-25)

4- Al- Jumaah, R. S. and Hussein, M. F., (2012):Serological prevalence of ovine and caprine chlamydiophilosis in Riyadh region – Saudi Arabia. Afr. J. Microbiol. 2012; 6:2654-2658.

5- AL-Qudah, K. M.; Sharif, L. A.; Raouf, R. Y.; Hailat, N. Q. & AL-Domy, F. M. (2004): Seroprevalence of antibodies to Chlamydophila abortus shown in Awassi sheep and local goats in Jordan.Veterinarni Medicina, 49(12): 460-466.

6- Arif, E. D.; Saeed, N. M. and Rachid, S. K. (2020):Isolation and Identification of Chlamydia abortus from Aborted Ewes in Sulaimani Province, Northern Iraq. Polish Journal of Microbiology, Vol. 69, No 1.

7- Barhoom, S. (2007):Enzootic abortion of ewes (Ovine Chlamydiosis): Diagnosis & Control. The Islamic University J., 15(2): 15-19.

8- Borel, N.; Thoma, R.; Spaeni, P.; Weilenmann, R.; Teankum, K.; Brugnera, E.; Zimmermann, D. R.; Vaughan, L. & Posischila, (2006): Chlamydia-related abortions in Cattle from Graubunden, Switzerland. Vet. Pathol., 43:702-708.

9- Da Silva, F. G.; De Freitas, J. C. and Muller, E. E. (2006):Chlamydophila abortus in production animals. Cienc Rural, 36, 342-348.

10- COST (2002):Animal Chlamydioses and the Zonotic Implication.In: European cooperation in the field of sceintific and technical research, COST 221/02. Brussel. p. 3.

11- El-Sayed, A. S. A. (1993):Studies on chlamydiosis in farm animals. Ph. Thesis (Infectious diseases), Fac. Vet. Med., Cairo Univ., Egypt.

12- Essig, A. and Longbottom, D. (2015):Chlamydia abortus: New aspects of infectious abortion in sheep and potential risk for pregnant women.Curr. Clin. Microbiol. Reports, 2, 22–34.

13- Everett, K. D. (2000):Chlamydia and Chamydiales: more than meets the eye.Vet. Microbiol. 31, 75(2): 109-126.

14- Galiero, G. (2007):Causes of infectious abortion in the Mediterranean buffalo. Ital. J. Anim. Sci. vol. 6.194-199.

15- Ghorbanpoor, M.; Goraninejad, S. and heydari, R. (2007):Serology Study on Enzootic Abortion of Ewes in Ahvaz. Iran, Journal of Animal and Veterinary Advances, 6(10): 1194-1196.

16- Gokce, I. H.; Kacar, C.; Genc, O. and sozmen, M. (2007):Seropevalance of chlamydophila abortus in aborting ewes and dairy cattle in the north-east part of turkey. Bull. Vet. Inst. Pulawy, 51, 9-13.

17- Jalboush, N.; Atalla, H. and Alzuheir, I. (2017): Detection of Chlamydophila abortus antibody in active reproductive rams in sheep herds in northern Palestine.Revue Méd. Vét., 168, 7-9, 192-196.

18- Jiménez-Estrada, M. J.; Escobedo-Guerra, R. M.; Arteaga-Troncoso, G.; López-Hurtado, M.; Haro-Cruz, M. J.; Oca-Jiménez, R. M. and Guerra-Infante, F. (2008): Detection of Chlamydophila abortus in Sheep (Ovis aries) in Mexico. American Journal of Animal and Veterinary Sciences, 3 (4): 91-95.

19- Jones, G. E. (1997):Chlamydial disease-more than just abortion. Vet. J., 153(3): 249-251.

20- Kennedy, H. E.; Mccullough, S. J.; Graham, D.; Cassid, Y. J.; Malone, F. E. and Ellis, W. A. (2001):Detection of chlamydial antibody by fetal serology- an aid to the diagnosis of ovine abortion. J. Vet. Diagn. Inves, 13(1): 30-35.

21- Longbottom, D.; Fairley, S.; Chapman, S.; Psarrou, E., Vretou, E. & Livingstone, M. (2002): Serological diagnosis of ovine enzootic abortion by enzyme-linked immunosorbent assay with a recombinant protein fragment of the polymorphic outer membrane protein POMP90 of Chlamydophila abortus. J. Clin. Microbiol., 40, 4235–4243

22- Morgan, K. L.; Wills, J. M. and Howard, P. (1988):Isolation of Chlamydia psittaci from the genital tract of lambs: A possible links with enzootic abortion in ewes.Vet. Rec., 123, 399-400.

23- Mousa, H. A. A.; Mahmoud, H. A. and Ibrhim, M. A. (2010):Detetion of Chlamydia in Rabbit Using Traditional Methods and Electron Microscop, Global Veterinaria, 4(1):74-77.

24- OIE Terrestrial Manual (2008): Office International des Epizooties. Chapter 2.7.7. - Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis). In: Manual of diagnostic testes and vaccines for terrestrial animals (mammals, birds and bees) 4th edn. World organisation for animal health, pp. 1013-1020.

25- OIE: Annual Report (2009):Enzootic Abortionof Ewes (Ovine chlamydiosis) Article 14.5.1. Standard Operating Procedures for Quality Control of Veterinary Vaccines in the Syrian Arabic Republic.

26- OIE Terrestrial Manual (2018):Office International des Epizooties. Chapter 3.7.5. - Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis). In: Manual of diagnostic testes and vaccines for terrestrial animals. World organisation for animal health, pp. 1456-1065.

27- Ojcius, M. D. and Byrne, I. G. (2004):Chlamydia and apoptosis: life and death decisions of an intracellular pathogen.Nature Reviews Microbiology, 2, 802-808.

28- Otlu, S.; Sahin, M.; Unver, A. and Celebi, O. (2007):Detection of Brucella melitensis and Chlamydophila abortus antibodies in aborting sheep in Kars province of turkey. Bull. Vet. Inst. Pulawy., 15:493-495

29- Papp, J. R.; Shewen, P.E. and Gartley, C. J. (1993):Chlamydia psittaci and associated infertility in sheep.Can. J. Vet. Res., 57:185–189.

30- Popov, G. and Martinov, S. (1982):Electron microscope diagnosis of Chlamydia infections.Vet. Med. Nauki., 19(4): 3-12.

31- Rodolakis, A. (2001): Caprine Chlamydiosis: in Recent Advances in Goats Diseases. edited by Tempesta M. International Veterinary Information Service.

32- Rodolakis, A. & Laroucau, K. (2015): Chlamydiaceae and chlamydial infections in sheep and goats. Veterinary Microbiology, 181(1–2), 107–118.

33- Sachse, K.; Bavoil, P. M.; Kaltenboeck, B.; Stephens, R. S.; Kuo, C. C.; rossello-mora, R. & Horn, M. (2015):Emendation of the family Chlamydiaceae: proposal of a single genus, Chlamydia, to include all currently recognized species.Syst. Appl. Microbiol., 38, 99–103.

34- Samkange, A. (2008):Seroprevalence survey of Chlamydophila abortus infection in breeding goats on commercial farms in northern Namibia.Master, University of Pretoria, Namibia.

35- Songer, J. N. and Post, K. W. (2005):Vet. Microbiology Bacterial and Fungal Agents of Animal Disease. Elsevier sauners. P.332-337.

36- Stamp, J. T.; Mcewen, A. D.; Watt, J. A. A. & Nisbet, D. I. (1950):Enzootic abortion in ewes. I. Transmission of the disease. Vet. Rec., 62.

37- Williams, E. J. and Donovan, J. O. (2009): Ovine abortion: an overview. Irish Veterinary Journal, Vol.62 .No. 5.342-346.

38- Wilson, K.; Livingstone, M. & Longbottom, D. (2009): Comparative evaluation of eight serological assays for diagnosing Chlamydophila abortus infection in sheep. Vet. Microbiol., 135, 38-45.

39-ابراهيم، سامر (2014) :دور السالمونيلة الجهيضة الغنمية والكلاميديا وبعض المسببات الأخرى في إحداث الإجهاض عند الأغنام. مجلة جامعة البعث، المجلد 36، العدد 10، ص 155 – 172.