Department Animal Diseases,
Veterinary, College- AL-Bath University, Syria.

SEROLOGY STUDY ON ENZOOTIC ABORTION OF EWES IN NORTH AREA OF SYRIA

(With 3 Tables)

By

E. OTHMAN; Y. ALYASINO and Y. ALOMAR

(Received at 20/11/2010)

دراسة مصلية عن مرض إجهاض الأغنام المستوطن في المنطقة الشمالية في سورية

عيسى العثمان ، ياسين الياسينو ، ياسر العمر

أجُريت الدراسة على 418 نعجةً مجهضةً بأعمار مختلفة في 24 قطيع أغنام في 6 مناطق ضمن محافظتين. من بين 418 عينة مصل تم جمعها من أغنام مجهضة وتم اختبارها من أجل الكشف عن الأجسام المضادة للكلاميديافيلا المجهضة باستخدام اختبار الاليزا ؛ تبين أن 36 نعجة (8.61 %) إيجابية مصلياً و 11 نعجة (2.63%) مشتبهة و 371 نعجة (88.75%) سلبية مصلياً. وقد وُجِدَ ايضاً أن المرض موجود في كل المناطق التي تم جمع العينات منها وكذلك وُجِدَ في 15 قطيع من أصل 24 قطيع تم دراستها؛ أي بنسبة انتشار مصلي ايجابي لقطعان الدراسة (62.5 %) كانت فيها حيوانات إيجابية.وسجلت الدراسة أن أعلى انتشار مصلي ايجابي في الأعمار الإنتاجية المتراوحة بين سنتين وثلاثة سنوات مقارنة مع الأعمار الإنتاجية الأخرى وهذا يثبت أن الأغنام اليافعة أكثر قابلية للإصابة مقارنة مع النعاج الفتية والمعمرة.

SUMMARY

The study was carried out on 418 aborted ewes in different ages in 24 sheep folds in 6 regions within two province (mohafazat) the study confirmed that positive seroprevalence in 36 aborted ewes was (8.61%), 11ewes were suspected (2.63%) and 371 ewes were reported negative reaction to ELISA test (88.75%). The positive cases were reported in all study regions and the positive cases were reported in 15 fold of 24 study population as seropositive percent (62.5%) folds level. The study reported that the higher positive seroprevalence were in productivity age range between 2 and 3 years old comparing with other ages. This confirms that adult ewes were near susceptible animals to the infection comparing with young and old ewes.

Key words: *Enzootic abortion, Syria, serology.*

INTRODUCTION
مقدمـــة

إجهاض الأغنام المستوطن enzootic abortion of ewes (EAE) أو الإجهاض الضأني المستوطن ovine enzootic abortion (OEA) وهو أحد أهم المسببات المرضية التي تسبب الإجهاض عند الأغنام والأبقار حيث يسبب إجهاض الأغنام المستوطن عند الأغنام، وإجهاض الأبقار الوبائي عند الأبقار (Nietfeld, 2001; Entrican, 2002).

العامل المسبب لهذا المرض هو جراثيم الكلاميديافيلا المجهضة Chlamydophila abortus التي تنتمي الى جنس الكلاميديا فيلا الذي يتبع لعائلة الكلاميديا Chlamydiaceae التي تتبع لرتبة الكلاميديا Chlamydiales (Papp *et al.*, 1994 ; Everett *et al.*, 1999) أُعتقد سابقاً بأن النمط المصلي الأول للكلاميديا البيغائية C. Psittaci هو المسؤول عن الإجهاض عند الأغنام (Entrican *et al.*, 2001). تتميز الكلاميديا بدورة تكاثرية فريدة ثنائية الطور تتبدل بين مرحلة العدوى خارج الخلية، ومرحلة التكاثر الخلوي المجبرة داخل الخلية، وهي غير معدية.الشكل المعدي يدعي الجسم الابتدائي (EB) صغير (300 - 400) نانو متر ، يشبه الأبواغ وهو خامل استقلابياً وموجود خارج الخلايا (Nietfeld, 2001 ; Galiero, 2007 ; Mousa *et al.*, 2010) له جدار سميك (Aikten, 1993). أما الشكل غير المعدي يدعى الجسيم الشبكي (RB) وهو كبير الحجم (800-1000) نانو متر ، يمثل الطور غير المعدي ، نشيط استقلابياً وهو قادر على التكاثر والانقسام داخل الخلية (Nietfeld, 2001 ; Galiero, 2007 ; Mousa *et al.*, 2010) رقيق الجدار ولا يستطيع البقاء خارج خلايا المضيف (Aikten, 2007). تعد الكلاميديا فيلا المجهضة المسبب الأبرز للاضطرابات التناسلية في أغلب البلدان المنتجة للأغنام (Aikten, 1993) وقد يصل المرض إلى المستويات الوبائية وعندها تجهض حوالي 30% من الأغنام في الأسابيع الثلاثة الأخيرة من الحمل أو تلد حملان ضعيفة وبعد الإجهاض تتطور المناعة الوقائية عند الأغنام المجهضة وفي الشكل المستوطن للمرض يمكن أن نلاحظ الإجهاضات بمعدل يتراوح بين 5-10 % من أغنام القطيع المصاب (Rodolakis *et al.*, 1998 ; Al-Qudah *et al.*, 2004). يصيب المرض الحيوانات في كل الأعمار ولكن الصغيرة بالعمر تتأثر بشكل أكبر (Shewen, 1980) وينتشر المرض في العديد من الدول المهتمة بتربية الأغنام ماعدا استراليا ونيوزيلندا (CFSPH, 2009) وقد سُجِّل معدل أنتشار الكلاميديا فيلا المجهضة عند الأغنام عالمياً بمعدل يتراوح بين 5% و 39 % (Borel *et al.*, 2004; Al-Qudah *et al.*, 2004; Da Silva *et al.*, 2006)، يصيب المرض بشكل أساسي الأغنام والماعز وبشكل أقل الأبقار والخنازير والخيول والغزلان (CFSPH, 2009 ; OIE, 2009)، أيضاً أُبلِغَ عن انتقال المرض إلى النساء الحوامل بعد الاتصال مع الأغنام المجهضة أو الوالدة حديثاً (Vlahovic *et al.*, 2006 ; Mousa *et al.*, 2010). المصدر الرئيسي للعدوى في البيئة هو المشائم والسوائل الجنينية من الحيوانات المصابة (Appleyard *et al.*, 1985) حيث تبقى

الأجسام الأولية معدية لعدة أيام (Papp *et al.*, 1994) ينتقل المرض عن طريق تناول العلف والماء الملوث بالعامل المسبب (Wilsmore *et al.*, 1986) ، وتشير بعض التقارير إلى انتقاله عن طريق الاستنشاق (Jones and Anderson, 1988) وبالاستناد إلى النتائج التجريبية فإن الانتقال التناسلي هو أقل طريق يمكن أن تحدث عن طريقه العدوى (Appleyard *et al.*, 1985). يعتمد تطور الأعراض السريرية على وقت دخول العدوى إلى القطيع ، فإذا حدثت العدوى عند الأغنام والماعز قبل 5-6 أسابيع من الولادة تتطور الأعراض السريرية خلال الحمل الحالي (Morgan *et al.*, 1988)، أما إذا حدثت العدوى خلال الأربعة أسابيع الأخيرة من الحمل يمكن أن تتطور العدوى بشكل مستتر وتظهر الأعراض السريرية خلال الحمل المقبل (Wilsmore and Dawson, 1990). تدخل العدوى إلى القطيع المصاب عن طريق استبدال بعض الحيوانات بحيوانات مصابة مؤدية إلى عدد قليل من الإجهاضات في السنة الأولى لدخول العدوى ولكن في السنة التالية تحدث عاصفة من الإجهاضات حيث تجهض حوالي 30 % من الأغنام الحوامل (OIE, 2008). لا تظهر أي أعراض سريرية تسبق الإجهاض بالرغم من التغيرات السلوكية والاطلاقات المهبلية التي يمكن أن تلاحظ خلال 48 ساعة الأخيرة من الحمل (Entrican, 2002). يحدث الإجهاض بشكل نموذجي خلال 2-3 أسابيع الأخيرة من الحمل مؤدياً إلى ظهور حملان ميتة ويمكن أن تولد الحملان لكن تكون ضعيفة ولا تستطيع البقاء على قيد الحياة لأكثر من 48 ساعة ويلاحظ التهاب مشيمة (OIE, 2008). الأجنة المجهضة تكون نامية بشكل جيد إشارة إلى أن الموت الجنيني كان متأخراً جداً (Williams and Donovan, 2009). يمكن أن نلاحظ بعض التغيرات المرضية كالنزف تحت الجلد في الأرجل والأوراك والرقبة والرأس عند الجنين المجهض بالكلاميديا المجهضة عند الأغنام والماعز (Sharma *et al.*, 2008). يُتْبع الإجهاض بطرح سوائل مهبلية وسخة يمكن أن تُلاحظ لمدة أكثر من سبعة إلى عشرة أيام (Entrican *et al.*, 2001). عند الكباش والتيوس يمكن أن تسبب الكلاميديافيلا المجهضة التهاب مفاصل والتهاب في الحويصلة المنوية نتيجة طرح العامل المسبب مع المني (Appleyard *et al.*, 1985). الإصابات البشرية غالباً ما تكون معتدلة وغير ملاحظة عند النساء الحوامل ولكن يمكن أن تتطور مُحدثة الإجهاض (Jorgensen, 1997). إجهاض الأغنام خلال 2-3 / 3 أسابيع الأخيرة من الحمل والمترافقة مع التهاب المشيمة يشكل أساس مقبول من أجل التشخيص المؤقت لهذا المرض لكن ظاهرياً بعض حالات التوكسوبلازما تكون مشابهة للكلاميديا المجهضة ، وربما تشترك مسببات أخرى في التفشي الوبائي ؛ ولذلك الإجهاض والتهاب المشيمة النخري غير مميز للإجهاض الكلاميدي ويمكن أن يظهر في حالة الإصابة باللستريا والكامبيلوباكتر (Aikten, 2007)؛ لذلك تشخيص عدوى الكلاميديافيلا المجهضة يمكن أن يتم بتقنيات كشف المستضد المختلفة التي تتضمن polymerase chain reaction (PCR) والكيمياء النسيجية histochemical والصبغات المناعية immunological staining للمسحات المأخوذة من أنسجة المشيمة أو مشتملات الكلاميديا بعد عزل العامل المسبب على الخلايا المزرعية (Rekiki *et al.*, 2002 ; Masala *et al.*, 2005; Da Silva *et al.*, 2006 ; Nietfeld, 2001). وعلى أية حال كل هذه

الاختبارات تعتمد على المادة التشخيصية ذات النوعية الجيدة والمحفوظة بشكل جيد وعلى الاختصاصيين ذوي الخبرة والكفاءة العالية.

ومن ناحية أخرى يوجد العديد من الاختبارات المصلية مثل اختبار التألق المناعي immunofluorescence tests (IFATs) واختبار الاليزا ELISAs واختبار تثبيت المتممة complement fixation test (CFT) الذي يستخدم بشكل واسع في المخابر البيطرية لتحديد الحيوانات المصابة بالكلاميديا فيلا المجهضة لكن التفاعلات الانتيجينية التصالبية بين C. abortus and C. pecorum بالإضافة إلى بعض الجراثيم سلبية الغرام مثل Acinetobacter يمكن أن تؤدي إلى نتائج إيجابية خاطئة في اختبار تثبيت المتممة (CFT) واختبار التالق المناعي (IFATs) ;Travnicek *et al.*, 2002 ; Longbottom *et al.*, Niemczuk *et al.*, 2005; Da Silva *et al.*, 2006) 2002) في العام 2007 ذكر الباحث Vretou وزملاؤه بان اختبار الاليزا من أجل تشخيص الكلاميديا فيلا المجهضة (Institute Pourquier, France) هو أكثر نوعية وحساسية من اختبار تثبيت المتممة من أجل التشخيص المصلي لمرض إجهاض الأغنام المستوطن (Vretou *et al.*, 2007)

ونتيجة أهمية مرض إجهاض الأغنام المستوطن وتأثيره على صحة كلٍ من الإنسان والحيوان ونتيجة ندرة البيانات الوبائية حول العدوى عند الأغنام في المنطقة الشمالية في سورية فقد كان هدف هذه الدراسة هو تقدير الانتشار المصلي للأجسام المضادة للكلاميديافيلا المجهضة عند الأغنام ومقارنة الانتشار المصلي للأجسام المضادة للكلاميديا فيلا المجهضة في كل من مناطق الدراسة بالمقارنة مع العمر الانتاجي للأغنام.

MATERIALS and METHODS
مواد وطرائق البحث

مواد البحث Materials:

جمع العينات: Sampling collection

تم جمع 418 عينة مصل من 24 قطيع من الاغنام من المحافظتان الشماليتان في سورية (حلب والرقة) . جميع العينات التي تم جمعها كانت من أغنام القطاع الخاص، والأغنام كانت بأعمار مختلفة وتخضع لنظام تربية طليق ونصف مكثف وهي من سلالة الأغنام العواس كونه السلالة السائد في سورية. الحيوانات تتغذى على الأعشاب المحلية والغذاء المركز لكن بشكل عشوائي. تم جمع العينات خلال الأسابيع الأربعة التي تلي الإجهاض حيث تم أخذ عينات الدم من الوريد الو داجي من الأغنام المجهضة وهي في حالة الوقوف وبعدها تم حفظ الدم بشروط صحية وتم نقله إلى المخبر لفصل المصل وحفظه بدرجة حرارة - 20°م حتى إجراء الاختبار.

مواد العمل المخبري

استخدم مجموعة تشخيصية لاختبار المقايسة المناعية المرتبطة بالأنظيم (ELISA) Pourquier Institute POURQUIER® ELISA CHLAMYDOPHILA. abortus serum Verification – Version P00700/06, France

يعد هذا الاختبار هو المفضل في عمليات التقصي المصلي لأعداد كبيرة من العينات بالنسبة لمرض إجهاض الأغنام المستوطن (EAE) (OIE, 2000). ضمت المجموعة التشخيصية المواد التالية:

1- طبق الإليزا ELISA يحتوي على 96 حفرة ميكروليترية مرقمة من A1 وحتى H12 مغطاة بمستضد الكلاميديا فيلا المجهضة
2- مصل الشاهد الايجابي (Positive control) الحاوي على الأجسام المضادة النوعية للكلاميديا فيلا المجهضة.
3- مصل الشاهد السلبي (Negative control) الخالي تماماً من الأجسام المضادة النوعية للكلاميديا فيلا المجهضة.
4- محلول التمديد 4 (Dilution Buffer 4): يستخدم هذا المحلول من اجل تمديد أمصال العينات.
5- محلول التمديد 1 (Dilution Buffer 1): يستخدم هذا المحلول من اجل تمديد محلول المقترن.
6- محلول الغسيل: (Washing Solution) تركيز x 20.
7- المقترن (Conjugate): يرتبط مع معقد (الانتجين – الأضداد النوعية) والمقترن عبارة عن protein G peroxidase conjugate.
8- محلول الكاشف اللوني للأنزيم Revelation solution 2 (TMB): الذي يكشف كمية الارتباط بين محلول الاقتران المرتبط بالأنزيم ومعقد (الانتجين – الأضداد النوعية) عن طريق إظهار درجة التلوين والتي يمكن قياسها عبر قارئ الإليزا وهذا المحلول جاهز للاستخدام ولا يحتاج إلى تمديد Ready to use.
9- محلول إيقاف التفاعل (Stop Solution): يضاف بعد انتهاء فترة حضانة الكاشف اللوني للأنزيم لإيقاف وإنهاء التفاعل الحاصل ويتألف من محلول حمض الكبريت 0,5 M (H2SO4 0,5 M solution).

طرائق البحث Methods

ووفقاً لتعليمات الشركة المنتجة وباختصار تم إجراء الاختبار بتوزيع 190 ميكرو ليتر من محلول التمديد رقم 4 (Dilution Buffer 4) إلى كل حفرة من حفر الطبق المغطاة بمستضد الكلاميديا فيلا المجهضة وتم إضافة 10 ميكرو ليتر من مصل كلٍ من العينات والشواهد وبذلك يكون قد مُدِّد مصل كل من الشواهد والعينات بنسبة 1/20 حيث تم إضافة مصل الشاهد السلبي إلى حفرتين ، وكذلك تم إضافة مصل الشاهد الايجابي إلى حفرتين ومصل العينات إلى باقي حفر الطبق.

وقد تم نقل محلول التمديد 4 (Dilution Buffer 4) إلى الطبق بواسطة ميكروبيبيت يحتوي 12 رأس وكذلك يتم نقل مصل الشواهد والعينات إلى الطبق بواسطة ميكروبيب له رأس واحد مع مراعاة الترتيب الرقمي واستبعاد رؤوس الماصات بعد الانتهاء من نقل كل عينة. وتم تجانس محتويات الحفر بالهز اللطيف في الطبق بوضعه على هزازة الكترونية وتم تغطية الطبق برقاقة من الألمنيوم ومن ثم حُضن لمدة ساعة (± 5 دقائق) في درجة حرارة 37°C (± 3°C). وبعد انتهاء مدة التحضين تم إجراء عملية الغسيل بإفراغ كافة محتويات حفر طبق الإليزا جيداً بقلبه ومن ثم أُجري التنشيف بقلب

الطبق على ورق نشاف نظيف وجاف عدة مرات ومن ثم تم ملء الحفر في الطبق بمحلول الغسيل الذي تم تمديده مسبقاً بنسبة 1/20 في الماء المقطر وتم إفراغ محتوياته ثانية وتكرر عملية الغسيل ثلاثة مرات لإزالة جميع الارتباطات غير النوعية بين الأضداد والمستضد. بعد الانتهاء من عملية الغسيل وتفريغ محتويات طبق الاليز تم إضافة 100 ميكروليتر لكل حفرة من المقترن الممدد بنسبة 1/100 من محلول التمديد 1 (Dilution Buffer 1) بواسطة ماصات 12-8 رأس واستبعاد رؤوس الماصات و تم تغطية الطبق برقاقة من الألمنيوم وحُضن لمدة 30 دقيقة (± 3 دقائق) في درجة حرارة 37°C (± 5°C).

بعد انتهاء مدة التحضين تم إجراء عملية الغسيل مرة ثانية وتكرر عملية الغسيل ثلاثة مرات. وبعد الانتهاء من عملية الغسيل تم إضافة الكاشف اللوني حيث يوزع 100 ميكروليتر من "Revelation Solution N°2" الجاهز للاستخدام (لا يحتاج إلى تمديد) إلى كل حفرة من حفر طبق الإليزا ، وتم استبعاد رؤوس الماصات و تغطية الطبق برقاقة من الألمنيوم ويحضن الطبق بدرجة حرارة 21°C+ (±5°C) لمدة عشرون دقيقة بعيداً عن الضوء. وبعد الانتهاء من مدة التحضين تم إضافة 100 ميكروليتر من محلول إيقاف التفاعلStop Solution إلى كل حفرة ومن ثم تم هز الطبق بلطف حتى يتجانس محلول التلوين ومُسح أسفل الطبق بحذر. ومن ثم تم ت عملية قراءة نتيجة الاختبار على الطبق باستخدام جهاز قارئ الإليزا (EL X 800) على طول موجة 450nm حيث تظهر قيم معدل الامتصاص الضوئي (O.D الكثافة الضوئية optical densities) لكل حفرة من حفر طبق الاليزا ELISA وتحسب الكثافة الضوئية O.D لكل مصل بطرح قيمة O.D المحصول عليها من الحفر المغطاة بمستضد الكلاميديافيلا من قيمة O.D المحصول عليها من الحفر غير المغطاة بمستضد الكلاميديافيلا. تعتبر النتائج موثوقة إذا كانت قيمة معدل الشاهد الإيجابي غير المصحح أقل ما يمكن 0,350. والنسبة بين معدل القيمة المصححة للكثافة الضوئية OD للشاهد الإيجابي على طول موجة 450 nm والقيمة المصححة للكثافة الضوئية OD للشاهد السلبيّ على طول موجة 450 nm هي اكبر أو تعادل 3.5.

تُحسب النسبة المئوية للمعدَّل الإيجابي لكل عيّنة مُختبرة sample to positive S/P% من أجل تفسير نتائج العينات التي تم اختبارها وفق المعادلة التالية:

S/P%= (corrected OD450 of the sample/mean corrected OD450 of the positive control)x100

فإذا كانت قيمة S/P% تساوي أو أقل من 50 % تعد الحيوانات سلبية للكلاميديافيلا المجهضة وإذا كانت قيمة S/P% بين (50 و 60) % تكون الحيوانات مشتبهة أما إذا كانت قيمة S/P% تساوي أو اكبر من 60% وأقل من 100% تعد الحيوانات إيجابية للكلاميديافيلا المجهضة بشكل واضح أما إذا كانت اكبر من 100 % فإنها تعد إيجابية.

RESULTS
النتائــج

تم دراسة 24 قطيع أغنام في المنطقة الشمالية في سورية في محافظتان هما محافظة حلب ومحافظة الرقة. عدد الأغنام في هذه القطعان هو 1794 وعدد الأغنام الحوامل هو 1501 رأس غنم. تم جمع عينات الدم من الأغنام المجهضة في هذه القطعان وعدده 418 عينة. وتبين بأن معدل الإجهاض هو 27.85% (418/1501) كما هو موضح في الجدول رقم (1)

الجدول رقم 1: معدل الإجهاض عند الأغنام الحوامل في المنطقة الشمالية من سورية.

المحافظة	عدد القطعان	عدد الإناث الحوامل	عدد الإناث المجهضة	معدل الإجهاض (%)
حلب	22	1354	363	26.80 (363/1354)
الرقة	2	147	55	37.41 (55/147)
المجموع	24	1501	418	27.85 (418/1501)

كما وجدت الأجسام المضادة للكلاميديافيلا المجهضة في 15 قطيع من أصل 24 قطيع تم دراستها أي نسبة 62.5 % من القطعان كان فيها حالات إيجابية. وتراوحت نسب انتشار الحالات الايجابية في قطعان الدراسة بين (4 % - 25 %).

سجلت أن الدراسة 8.61 % (36/418) من أغنام الدراسة كانت إيجابية للأجسام المضادة النوعية للكلاميديافيلا المجهضة والانتشار المصلي للكلاميديافيلا المجهضة في قطعان الدراسة تراوح بين (4 % - 25 %) حيث كان الانتشار المصلي في محافظة حلب 7,98 % (29/363) وفي محافظة الرقة 12,72% (7/55).

وأثبتت الدراسة الحالية أن 2.63 % (11/418) من الأغنام التي تم اختبارها كانت مشتبهة بالإصابة بالكلاميديافيلا المجهضة ، والجدول رقم (2) يوضح التوزيع التكراري النسبي للأغنام الإيجابية والمشتبهة والسلبية مصلياً في مناطق الدراسة خلال الفترة من تشرين الثاني لعام 2009 وحتى شهر نيسان لعام 2010.

الجدول رقم 2: التوزيع التكراري النسبي للأغنام الإيجابية والمشتبهة والسلبية مصلياً في مناطق الدراسة خلال الفترة من تشرين الثاني لعام 2009 وحتى شهر نيسان لعام 2010.

المحافظة	معدلات الإجهاض بالكلاميديافيلا(%)	التوزيع التكراري المئوي للأغنام المشتبهة (%)	التوزيع التكراري المئوي للأغنام السلبية (%)
حلب	7.98 (29/363)	3.03 (11/363)	88.98(323/363)
الرقة	12.72 (7/55)	0 (0/55)	87.27 (48/55)
المجموع	8.61 (36/418)	2.63 (11/418)	88.75 (371/418)

وقد تبين من مقارنة نتائج الاختبار المصلي مع أعمار أغنام الدراسة أن 12 حالة من الحالات الإيجابية مصلياً seropositive كانت بعمر 3 سنوات (26.67%) و10 حالة كانت بعمر سنتين (22.22 %) و5 حالات بعمر 4سنوات (11.11 %) و5 حالات بعمر 5 سنوات (11.11 %) و3 حالات بعمر 6 سنوات (6.67 %) وحالة واحدة بعمر سنة (2,22 %)، والجدول رقم (3) يبين مقارنة الحالات الايجابية مع العمر الإنتاجي لأغنام الدراسة.

الجدول رقم 3: مقارنة الحالات الايجابية مع العمر الإنتاجي لأغنام الدراسة في المنطقة الشمالية من سورية.

عمر الحيوان/سنة	التكرار المطلق للحيوانات الايجابية	التكرار المطلق الحيوانات المشتبهة	التوزيع التكراري المئوي للحيوانات الايجابية	التوزيع التكراري المئوي للحيوانات المشتبهة
1	1	0	2.22	0
2	10	3	22.22	6.67
3	12	3	26.67	6.67
4	5	4	11.11	8.89
5	5	1	11.11	2.22
6	3	0	6.67	0

وباستخدام اختبار بيرسون مربع كاي Pearsons chi squar لمقارنة نسب الانتشار المصلي حسب العمر وجد أن هناك فروقات معنوية واضحة بين نسب الانتشار في الأعمار التي تقل عن سنتين والأعمار المتقدمة / تزيد عن سنتين / (P= 0.0000) كما وجد أن أكثر الأعمار إصابة بالمرض بعمر سنتين وثلاثة سنوات مقارنة مع الأعمار الإنتاجية في الموسم الرابع والخامس والسادس الإنتاجي و بفروقات معنوية واضحة (P=0.0000).

التحليل الإحصائي: Statistical Analysis Methods

استخدام اختبار بيرسون مربع كاي Pearsons chi squar لمقارنة نسب الانتشار المصلي الايجابية مع الأعمار الإنتاجية لأغنام الدراسة لتحديد الأعمار الإنتاجية الأكثر قابلية للإصابة لمرض إجهاض الأغنام المستوطن.

DISCUSSION and CONCLUSION
المناقشة والاستنتاجات

تعد أمراض الإجهاض هي من الأمراض المستوطنة في الجمهورية العربية السورية وقد أصبح الإجهاض من الأعراض المألوفة لدى المربين نتيجة تكرار الإصابات سنوياً في الأغنام الحوامل. وتعد الكلاميديافيلا المجهضة أحد أهم المسببات المرضية التي تسبب الإجهاض عند الأغنام(OIE, 2000 ; Da Silva *et al.*, 2006).

عدد الأغنام الحوامل في قطعان الدراسة هو 1501 رأس غنم ، تم جمع عينات الدم من الأغنام المجهضة في هذه القطعان وعدده 418 عينة. وتبين بأن معدل الإجهاض هو

27.85% (418/1501) كما هو موضح في الجدول رقم (Aikten, 1993). والأجسام المضادة للكلاميديافيلا المجهضة وُجدتْ في 15 قطيع من أصل 24 قطيع تم دراستها أي نسبة 62.5 % من قطعان الدراسة كان فيها حالات إيجابية. في هذه الدراسة 8.61 % (36 / 418) من الأغنام كانت إيجابية للأجسام المضادة النوعية للكلاميديافيلا المجهضة والانتشار المصلي للكلاميديافيلا المجهضة في قطعان الدراسة تراوح بين (4%-25%) حيث كان الانتشار المصلي في محافظة حلب 7,98 % (29/363) وفي محافظة الرقة 12,72% (7/55). وبينت الدراسة أن 2.63% (11/ 418) من الأغنام التي تم اختبارها كانت مشتبهة بالإصابة بالكلاميديافيلا المجهضة ، والجدول رقم (2) يوضح التوزيع التكراري النسبي للأغنام الإيجابية والمشتبهة والسلبية مصلياً في مناطق الدراسة خلال الفترة من تشرين الثاني لعام 2009 وحتى شهر نيسان لعام 2010.

أثبتت الدراسة بأنه لم تكن هناك فروقات معنوية بين الانتشار المصلي للكلاميديا فيلا المجهضة في قطعان الدراسة في محافظة حلب ومحافظة الرقة (P=1.0000).

وسجلت الدراسة أن أعلى انتشار مصلي ايجابي في الأعمار الإنتاجية المتراوحة بين سنتين وثلاثة سنوات مقارنة مع الأعمار الإنتاجية الأخرى وهذا يثبت أن الأغنام اليافعة أكثر قابلية للإصابة مقارنة مع الأغنام الفتية والمعمرة. باستخدام اختبار بيرسون مربع كاي Pearsons chi squar لمقارنة نسب الانتشار المصلي حسب العمر وجد ان هناك فروقات معنوية واضحة بين نسب الانتشار في الاعمار التي تقل عن سنتين والاعمار المتقدمة / تزيد عن سنتين / (P= 0.0000) كما وجد ان اكثر الاعمار اصابة بالمرض بعمر سنتين وثلاثة سنوات مقارنة مع الأعمار الإنتاجية في الموسم الرابع والخامس والسادس الإنتاجي وبفروقات معنوية واضحة (P=0.0000). ويمكن أن يعزى الانتشار المصلي لهذا المرض نتيجة طرح الحيوانات المصابة لإعداد كبيرة من العامل المسبب وقت حدوث الإجهاض أو الولادة وبشكل خاص مع المشيمة والاطلاقات المهبلية وإمكانية طرحه مع الحليب والبراز والإفرازات الأنفية والعينية من الإناث المجهضة وأيضا إمكانية انتقاله عن الطريق التناسلي مؤدياً إلى موت الأجنة أو العقم (Nietfeld, 2001 ; Masala *et al.*, 2005 ; Da Silva *et al.*, 2006) فالحيوانات القابلة للإصابة يمكن أن تصاب عن طريق تناول أو استنشاق المادة المصابة بالكلاميديافيلا المجهضة نتيجة تلوث حظائر الولادات بالسوائل الولادية والأغشية الجنينية، وفي الحيوانات غير الحوامل يمكن أن يبقى بشكل كامن في النسيج اللمفاوي حيث يبقى حتى الفترة الأخيرة من الحمل المقبل (Entrican *et al.*, 2001 ; Nietfeld, 2001 ; Da Silva *et al.*, 2006) ويمكن أن يستمر طرح العامل المسبب خلال دورات الشبق والولادات اللاحقة ولهذا يستمر تلوث البيئة وانتشار العدوى (Nietfeld, 2001 ; Da Silva *et al.*, 2006).

الانتشار المصلي للحالات الايجابية الذي سجلته هذه الدراسة يتوافق بشكل تقريبي مع ما سجلته دول الجوار حيث ثبت أن الانتشار المصلي لمرض إجهاض الأغنام المستوطن في تركيا هو 13.98% (Gokce *et al.*, 2007). كما أثبتت دراسة أخرى أجريت في إيران بان الانتشار المصلي كان 8.9 % ولا يوجد أي ارتباط بين الأصابة والعمر الانتاجي (Ghorbanpoor *et al.*, 2007). أما في المملكة الأردنية فمن خلال

دراسة عن الانتشار المصلي للأجسام المضادة للكلاميديا فيلا المجهضة عند أغنام العواس والماعز البلدي في الأردن ثُبت بأن 21.8% كانت ايجابية ولم يكن للعمر تأثير معنوي على الإصابة بهذا المرض ($P>0.05$) (Al-Qudah *et al.*, 2004). توافقت نتائج الدراسة الحالية مع نتائج دراسة أجريت في مصر بواسطة اختبار تثبيت المتممة عام 1993حيث أثبتت بان الانتشار المصلي كان في 11.68% من أغنام المزارع المصرية (El-Sayed, 1993). توافقت نتائج هذه الدراسة مع ما سجلته دراسة أجريت في الهند من اجل التقصي الحقلي عن المسببات الجرثومية المسببة للإجهاض بين الأغنام والماعز حيث سجلت معدل انتشار 7.14% (8/112) (Sharma *et al.*, 2008).

ولم تتوافق دراسة أخرى أجريت في فلسطين خلال عام 1999- 2000 بينت بان الكلاميديبا الببغائية مسؤولة عن 60% من الاجهاضات (Barhoom, 2007). وكذلك لم تتوافق مع دراسة أجريت في تونس لعزل وتصنيف العترات المحلية للكلاميديا فيلا المجهضة في تونس تبين بان 58% من المسحات المهبلية كانت ايجابية بواسطة اختبار الاليزا و 18% كانت ايجابية على الخلايا المزرعية (Rekiki *et al.*, 2002). دراسة أخرى أجريت في البرازيل لتحديد الانتشار المصلي للكلاميديا فيلا المجهضة في البرازيل حيث سجلت معدل انتشار 21.5 % (Junior1 *et al.*, 2010). وكذلك مع دراسة أجريت في لتوانيا من اجل الانتشار المصلي وطرق تشخيص إجهاض الأغنام المستوطن حيث أن 26.9% من الأغنام المختبرة كانت ايجابية وأغلبية الأغنام الايجابية 86.4% كانت بعمر 18-24 شهر (Bagdonas *et al.*, 2007). أما بالمقارنة مع نتائج دراسة أجريت في جزيرة سردينيا في ايطاليا فقد كانت نتائج الدراسة اقل مما سجلته نتائج الدراسة الحالية حيث سجلت الدراسة معدل انتشار 4.8% (Masala *et al.*, 2005). وكانت نتائج الدراسة الحالية متوافقة مع دراسة أجريت في سلوفاكيا من اجل المسح المصلي للكلاميديا الببغائية في جمهورية سلوفاكيا خلال السنوات من عام 1996-2000 تبين من خلالها بان الانتشار المصلي في عام 1996 هو 6.37 % وفي عام 1997 هو 9.25 % وفي عام 1998 هو 9.57 % وفي عام 1999 هو 7.91 % وفي عام 2000 هو 10.99 % (Travnieek *et al.*, 2001). تشير النتائج بأن عدوى الكلاميديافيلا المجهضة منتشرةً في قطعان الأغنام في المنطقة الشمالية في سورية. وبناًء على ذلك يجب القيام بدراسات أشمل لتحديد معدلات الإصابة في القطر بالكامل، وعزل العامل المسبب، وتأكيد دوره في الاضطرابات التناسلية عند الأغنام بالإضافة إلى ذلك يجب اتخاذ كافة الإجراءات الوقائية، وتعزيز البرامج الصحية في المناطق التي شملتها الدراسة من أجل الحد من انتشار المرض وخفض معدلات الخمج لضمان بقاء القطعان خالية من العدوى، ولخفض تلوث البيئة بهذه المسببات وخطر انتقالها المحتمل إلى الإنسان.

REFERENCES
المراجـع

Aikten, I.D. (1993): Ovine clamydial abortion. In: Woldehiwet, Z.; Ristic, M. (Eds.), Rickettsial and Chlamydial. Diseases of Domestic Animals. Pergamon Press: Oxford, p. 349-360.

Aikten, I.D. (2007): Clamydial abortion. In: Aikten, I.D. Diseases of Sheep. Blackell Science: Oxford, p. 247-290.

Al-Qudah, K.M.; Sharif, L.A.; Raouf, R.Y.; Hailat, N.Q. and Al-Domy, F.M. (2004): Seroprevalence of antibodies to Chlamydophila abortus shown in Awassi sheep and local goats in Jordan. Vet. Med. – Czech, 12: 460-466.

Appleyard, W.T.; Aitken, I.D. and Anderson, I.E. (1985): Attempted veneral transmission of Chlamydia psittaci in sheep. Vet. Rec. 116: 535-538.

Bagdonas, J.; Šalomskas, A.; Petkevičius, S.; Augustinavičius, Ž.; Gerulis, G. and Mockeliūnas, R. (2007): The Prevalence and diagnostic methods of ewes enzootic abortion in Lituania. Vetrinarijair Zootechnik. T. 37 (59).

Barhoom, S. (2007): Enzootic abortion of ewes (ovine chlamydiosis): diagnosis and control. The Islamic University J., 15(2): 15-19.

Borel, N.; Doherr, M.G.; Vretou, E.; Psarrou, E.; Thoma, R. and Pospischil, A. (2004): Seroprevalences for ovine enzootic abortion in Switzerland. Prev. Vet. Med. 2004, 65: 205-216.

CFSPH "The Center for Food Security and Public Health. Zoonotic Clamydiae from Mammals" (2009): Available at: http://www.cfsph.iastate.edu. Accessed: 01 february 2008.

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

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

Entrican, G.; Buxton, D. and Longbottom, D. (2001): Chlamydial infection in sheep: immune control versus fetal pathology. J. Roy. Soc. Med. 94: 273-277.

Entrican, G. (2002): Immune regulation during pregnancy and host-pathogen interactions in infectious abortion. J. Comp. Pathol., 126: 79–94.

Everett, K.D.E.; Bush, R.M. and Andersen, A.A. (1999): Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms. Int. J. System. Bact., 49: 415–440.

Galiero, G. (2007): Causes of infectious abortion in the Mediterranean buffalo. Ital. J. Anim. Sci. 6: 194-199.

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.

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.

Jones, G.E. and Anderson, I.E. (1988): Chlamydia psittaci: Is tonsilar tissue the portal of entry in ovine enzootic abortion. Res. Vet. Sci., 44: 260–261.

Jorgensen, D.M. (1997): Gestational psittacosis in a Montana sheep rancher. Emerg. Infect. Dis., 3: 191–194.

Junior1, J.; Mota, A.; Piatti, M.; Oliveira, F.; Silva, A.; Abreu, S.; Anderlini, G.; and Valença, R. (2010): Seroprevalence of antibodies to chlamydophila abortus in ovine in the state of ALAgoas, Brazil. Brazilian Journal of Microbiology, 41: 358-364.

Longbottom, D.; Fairley, S.; Chapman, S.; Psarrou, E.; Vretou, E. and Livingtsone (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. *Journal of Clinical Microbiology*, 40: 4235-4243.

Masala, G.; Porcu, R.; Sana, G.; Tanda, A. and Tola, S. (2005): Role of *Chlamydophila abortus* in ovine and caprine abortion in Sardinia, Italy. Vet. Res. Commun. 29: 117-123.

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

Mousa, H.A.A.; Mahmoud, H.A. and Ibrhim, M.A. (2010): Detetion of Chlamydia in rabbit using traditional methods and electron microscope. Global Veterinaria 4(1): 74-77.

Niemczuk, K. (2005): Prevalence of antibodies against Chlamydia psittaci and Chlamydophila abortus in cattle in Poland. A preliminary report. Bull Vet Inst Pulawy, 49: 293-297.

Nietfeld, J.C. (2001): Chlamydial infections in small ruminants. Vet. Clin North Am Food Anim Pract, 17: 301-314.

OIE "Office International De Epizooties" (2000): Manual of Standard Diagnostic Tests and Vaccines

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.

Papp, J.R.; Shewen, P.E. and Gartly, C.J. (1994): Abortion and subsequent excretion of chlamydiae from the reproductive tract of sheep during oestrus. Infect. Immun., 62: 3786–3792.

Rekiki, A.; Sidi-Boumedine, K.; Souriau, A.; Jemli, J.; Hammami, S. and Rodolakis, A. (2002) Isolation and characterization of local strains of Chlamydophila abortus (Chlamydia psittaci serotype 1) from Tunisia. Vet. Res., 33: 215-222.

Rodolakis, A.; Salinas, J. and Papp, J. (1998): Recent advances on ovine chlamydial abortion. Vet. Res. 29 (3/4): 275-288.

Sharma, M.; Batta, K.M.; Katoch, R.C. and Andersen, A.A. (2008): A field investigation of bacterial etiology of abortions among migratory sheep and goats in North-West hill states of India, Veterinarski Arhiv 78 (1), 65-71.

Shewen, P.E. (1980): Chlamydial infection in animals: a review. Can. Vet. J. 21: 2–11.

Travnicek, M.; Kovacova, D.; Bhide, M.R.; Zubricky, P. and Cislakova, L. (2002): Field evaluation of an iELISA and CF test for detection of IgG antibodies against Chlamydophila abortus in goats, sheep, and rams. Vet. Med. Czech, 47: 195-198.

Travnieek, M.; Kovaeova, D.; Zubricky, P. and Èislakova, L. (2001): Serosurvey of sheep and goats to Chlamydia psittaci in Slovakia during the years (1996–2000). Vet. Med. - Czech, 46: 281-285.

Vlahović, K.; Dovč, A. and Lasta, P. (2006): Zoonotic aspects of animal chlamydioses-a review. Veterinarski Arhiv 76 (Suppl.), S259-S274.

Vretou, E.; Radouani, F.; Psarrou, E.; Kritikos, I.; Xylouri, E. and Mangana, O. (2007): Evaluation of two commercial assays for the detection of Chlamydophila abortus antibodies. Veterinary Microbiology, 123: 153-161.

Williams, E.J. and Donovan, J.O. (2009): Ovine abortion: an overview, Irish Veterinary Journal 62, 5: 342-346.

Wilsmore, A.J.; Dawson, M.; Trower, C.J.; Venables, C. and Arthur, M.J. (1986): Ovine enzootic abortion: field observations on naturally acquired and vaccine-elicited delayed type hypersensitivity to Chlamydia psittaci. Vet. Rec., 118: 331–332.

Wilsmore, A.J. and Dawson, M. (1990): Chlamidial diseases of ruminant in Britain. In: Aitken, D. Agriculture Chlamydial diseases of

ruminants. Commission of the European Communities Seminar, p.13-16