

## EFFECT OF SOME ANTIBIOTICS ON BRUCELLIS OF SHEEPS

Al-Ashker, Bothina\*; A.El-Merirey\*\* and Ebtissam Ahmed\*\*\*

\*\* Biological (Botany) Dept., Fac. of Science, Demascus Univ.

\*\* Molecular Biology Dept. Fac. of Science, Demascus Univ.

\*\*\* Ecological Sci. Dept, Fac. of Science, Demascus Univ.

أثر بعض مضادات الحيوية على البروسيلة الضائية داخل البالعات الضخمة للأغنام  
بثينة الأشقر<sup>1\*</sup>، أيمن المريري<sup>2</sup>، ابتسام حمد<sup>3</sup>  
<sup>1</sup> قسم علم الحياة النباتية، كلية العلوم، جامعة دمشق  
<sup>2</sup> قسم البيولوجيا الجزيئية والتقانة الحيوية، هيئة الطاقة الذرية السورية  
<sup>3</sup> قسم علم البيئة، كلية العلوم، جامعة دمشق

### الملخص

تم دراسة الأثر المثبط لثمانية مضادات حيوية على 33 عزلة بروسيلا ضائية معزولة من الحليب الخام من المنطقة الجنوبية في سورية. البروسيلة بكتيريا سالبة غرام، داخل خلوية، اختيارية، تسبب أمراض خمجية للأغنام والماعز والأبقار والجمال ذات السنام الواحد، كما أنها البكتيريا المسؤولة عن أهم الأمراض المشتركة التي تصيب الإنسان. تم دراسة نشاط البكتيريا القاتل للبالعات الضخمة للأغنام العواس وذلك لتخمين قدرتها على قتل البروسيلة داخل خلوية أثناء المقايسة بوجود ثمانية مضادات حيوية: الستربتومايسين - الجنتاميسين - السيبروفلوكساسين - التتراسكلين - السيفتازيديم - الريفاميسين - الدوكسيسكلين والسيغازولين. أُستنتجت البالعات الضخمة للأغنام العواس بتركيز  $10^5$  خلية في كل حفرة من صفيحة 24 حفر المعقمة، ثم تم إصابتها بالبروسيلة بنسبة 100 خلية بكتيرية لكل خلية من البالعات الضخمة مع أو بدون 1% ( $\mu\text{g/ml}$ ) من مضادات الحيوية. بعد 2-4-24-48-72-96-144 ساعة من الإصابة، تم غسل البالعات الضخمة وتفجيرها. أُستنتجت الخلايا المتفجرة بعد 5 دقائق من الحضان بدرجة حرارة الغرفة، على وسط الـ 2YTA (أجار الخميرة والترتبون - تربيتون) ثم حُضنت أطباق البتري على بدرجة 37°م لمدة 48 ساعة. أظهرت نتائج هذه الدراسة بأن عزلات بكتيريا البروسيلة الضائية مقاومة للستربتومايسين والجنتاميسين كما لوحظ أثر مثبط للمضادات الحيوية الأخرى. يمكن استخدام مزيج من كل من المضادين سيفازولين و سيبروفلوكساسين كمثبط فعال للبكتيريا داخل خلوية.

**كلمات مفتاحية:** بكتيريا البروسيلة، البالعات الضخمة، مضادات حيوية، مقايسة خلوية.

### المقدمة

تُعتبر بكتيريا البروسيلة الضائية *Brucella melitensis* العامل الرئيسي المُسبب لداء البروسيلوسيس عند الأغنام والماعز. إذ ينتمي هذا المرض إلى قائمة الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان، والتي تؤدي إلى تأثيرات هامة على كل من الصحة العامة والإنتاج الحيواني. تنتشر الإصابات بالبروسيلة الضائية انتشاراً واسعاً حول العالم، ولأسيما في دول حوض البحر الأبيض المتوسط والشرق الأوسط. وقد سُجّلت في بعض هذه المناطق، إصابات بالبروسيلة الضائية عند جمال وحيدة السنام (*Camelus dromedarius*) وعند أبقار موجودة على تماس مع أغنام وماعز مصابة (Corbel, 1997). سريراً، يتميز المرض عند المجترات الصغيرة بواحد أو أكثر من المظاهر التالية: إجهاض، انخفاض في إنتاج الحليب، احتباس المشيمة *retained placenta*، التهاب الخصية، التهاب البربخ، ونادراً التهاب المفاصل (Gorvel and Moreno, 2002). تُعتبر بكتيريا البروسيلة الضائية عاملاً شديداً للإمراضية للبشر فهي تسبب حدوث حمى تموجية (تُعرف أيضاً بالحمى المالطية أو حمى البحر الأبيض

\* Correspondance: [buthaina@tigerproduction.net](mailto:buthaina@tigerproduction.net), Fax:11 6115433, Damascus  
P.O.Box :31044

(المتوسط)، كما أنها تؤدي إلى الإصابة بأحد أهم الأمراض المشتركة بين الإنسان والحيوان في العالم. يُصاب البشر بهذا المرض عادةً عند استهلاك حليب ملوث غير مبستر أو جبنة طازجة مصنعة من حليب ملوث أو عن طريق استنشاق المتعضيات المُعدية أو عن طريق التطعيم بالسلالة اللقاحية للبروسيلة الضائية (Boschioli et al., 2001).

تنقسم كلمة antibiotic ذات الأصل الإغريقي إلى قسمين هما: anti وتعني "ضد"، و bios وتعني "حياة". أما في اللغة العربية فيُطلق على الـ antibiotic اسم: صادات أو مضادات حيوية، وهي عبارة عن مركبات كيميائية تُستخدم لقتل أو تثبيط نمو المتعضيات الخامة infectious. وقد كانت الكلمة تشير أصلاً إلى المركبات العضوية التي تنتجها البكتيريا أو العفن والتي تكون سامةً لغيرها من المتعضيات المجهرية (Alp et al., 2006; Akova et al., 1993). يتطلب علاج داء البروسيلات أنظمة علاج مشتركة بالصادات الحيوية انطلاقاً من حقيقة كون البروسيلة عاملاً ممرضاً داخل خلوي؛ من هنا، كان العلاج الناجع يستلزم استخدام عناصر ذات قدرة جيدة على اختراق البالعات الكبيرة. ويتكون النظام المنصوح باستخدامه في علاج داء البروسيلوسيس من مشاركة بين التتراسكلين الفموي والستربتومايسين العضلي (Pappas et al., 2005a). أما البرنامج الآخر المستخدم في المعالجة فهو دوكسي سيكلين (DOX) إلى جانب الريفامبين (RIF) (Solera et al., 1995; Ariza et al., 1992). كما تبين أن السيبروفلوكساسين (CIP) والكينولونات الأخرى كانت فعالةً ضد بكتيريا البروسيلة الضائية في التجارب المعملية (Solera et al., 1997). الأزيثرومايسين (AZI) هو العضو الخامس عشر في حلقة صادات الأزلويد. وبالنظر إلى المستويات الممتازة التي تم الوصول إليها باستخدام الكينولونات والأزيثرومايسين داخل البالعات الضخمة، يمكن استعمال هذه العوامل كبديل في علاج داء البروسيلوسيس (Giannakopoulos et al., 2006; Roushan et al., 2004; Ozbay and Inanmis, 2006). والهدف من هذه الدراسة هو تحديد نشاط الستربتومايسين - الجنتاميسين - السيبروفلوكساسين - التتراسكلين - السيفتازيديم - الريفامبيسين - الدوكسيسكلين والسيغازولين ضد 33 سلالة من بكتيريا البروسيلة الضائية معزولة من عينات حليب أغنام عواس تم جمعها من المنطقة الجنوبية في سورية في التجارب المعملية، إلى جانب تقصي نشاط التآلفات مثل الستربتومايسين - الريفامبيسين و الجنتاميسين - الريفامبيسين و التتراسكلين - الريفامبيسين و الدوكسيسكلين - الريفامبيسين و السيغازولين - الريفامبيسين و السيفتازيديم - السيبروفلوكساسين و السيغازولين - السيبروفلوكساسين ضد بكتيريا البروسيلة الضائية في التجارب المعملية.

## المواد والطرائق

### 1- استئبت بكتيريا البروسيلة الضائية:

استُخدمت 33 سلالة من بكتيريا البروسيلة الضائية المعزولة من مزارع حليب أغنام العواس تم جمعها من المنطقة الجنوبية في سورية في مختبر الميكروبيولوجيا والمناعيات في هيئة الطاقة الذرية السورية من أجل هذه الدراسة. تُركت البروسيلة لتنمو في الشروط المثالية على وسط الزراعة 2YTA (والذي يتكون من آغار [20 غ]، بيتون [10 غ]، كلور الصوديوم [5 غ]، خلاصة اللحم [5 غ] والماء المقطر [1 لتر]) في الدرجة 37° م في حمام مائي (حمام مائي هزاز كبير، موديل OLS200، كامبريدج، المملكة المتحدة) من أجل تأمين عدد كافٍ من الخلايا. وأضيف عدد من المضادات الحيوية لمنع نمو المتعضيات الأخرى غير البروسيلة: سيكلوهيكسيميد cycloheximide (100 ملغ)، باسيتراسين bacitracin (2500 وحدة)، بوليميكسين ب سلفات polymyxin B sulphate (5000 وحدة)، فانكومايسين vancomycin (20 ملغ)، حمض ناليديكسيك nalidixic acid (20 ملغ) ونيسنتاتين nystatin (10000 وحدة) (Al-Mariri et al., 2001).

لتحضير وسط الزراعة الاصطفائي الصلب، أذينا الوسط الأساسي ثم يردناه حتى الدرجة 56° م في حمام مائي ومن ثم أضفنا المحاليل الأم للمضادات الحيوية. واخترنا البكتيريا موجبة تفاعل الأوكسيداز والبولة من أجل اختبار التراص مع ضد-البروسيلة المصلي وحيد النوعية (مضاد- A ومضاد- M) (أركومكس ARCOMEX، عمان، الأردن). وحُزنت السلالات التي حُدثت على أنها بروسيلة ضائية في وسط نمو البروسيلة السائل (BD، سبارك، الولايات المتحدة الأمريكية) في الدرجة - 20° م لحين إجراء اختبارات الحساسية عليها.

## 2- المقايسة الخلوية:

بما أن البروسيليا بكتيريا داخل خلوية اختيارية وهي تُفضل الوحيدات والبالعات الضخمة في الجسم؛ فقد غُزلت الكريات البيضاء للأغنام العواس السليمة، وذلك لإصابتها بالبروسيليا الضأنية (معملية) حيث تمت دراسة أثر بعض المضادات الحيوية في تثبيط البكتيريا الداخلة خلوية. تم حل 1 مغ من الستربتوميسين – الجنتاميسين – السيبروفلوكساسين – التتراسكلين – سيفتازيديم – الريفاميسين – الدوكسيسكلين والسيفازولين بحجم 1 مل من الموقفي وتم تخزينها في الدرجة -20° م لحين الاستخدام. أُستنتبت الخلايا المعزولة في دوارق مخروطية Flasks ذات سعة 25 مل مستخدمين وسط الاستنبات الخلوي RPMI 1640 المضاف إليه مصل جنين البقر 10%. بعد يومين أو ثلاثة أيام من الاستنبات، تم الحصول على الخلايا مستخدمين التريسين، ومن ثم أُستنتبت 10<sup>6</sup> خلية في كل حفرة من الصفيحة 96 (Tissue culture test plate)، وحُضنت الصفيحة في حاضنة الـ CO<sub>2</sub> (10%) بدرجة 37° م لليوم التالي حيث تم إصابتها بإضافة البروسيليا الضأنية للخلايا وحُضنت لمدة ساعة بالشروط نفسها، ثم تم غسيل الأبار ثلاث مرات ومن ثم إضافة الوسط المغذي إليها مع تركيزات من المضادات الحيوية المراد اختبارها (أربع أبار لكل مضاد حيوي)، ولفترات زمنية محددة. حُلَّت الخلايا المدروسة بواسطة التريبتون Trito، وتمت زراعة السائل المُعلق على أطباق بترى تحوي وسط الاستنبات البكتيري الصلب 2YTA وحُضنت لمدة 2-3 يوم في الحاضنة بدرجة 37° م ومن ثم تم التعداد البكتيري.

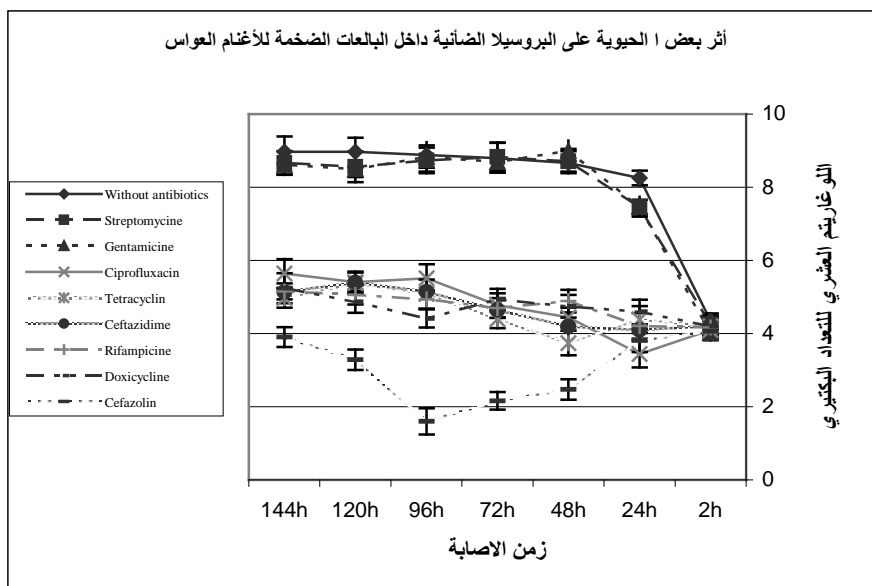
## 3- التحليل الإحصائي:

أجرينا كل تجربة نموذجياً في ثلاث مكررات. وحددنا الاختلافات ذات القيمة (الهامة) بين المتوسطات بواسطة كلٍ من اختبار الطالب Student's t test أو تحليل التباين. وتمت الاختبارات باستخدام الميكروسوفت إكسل Microsoft Excel، النسخة 4، البرنامج الإحصائي. حيث يُعْتَبَر الفرق معنوي عندما تكون  $p < 0.05$ .

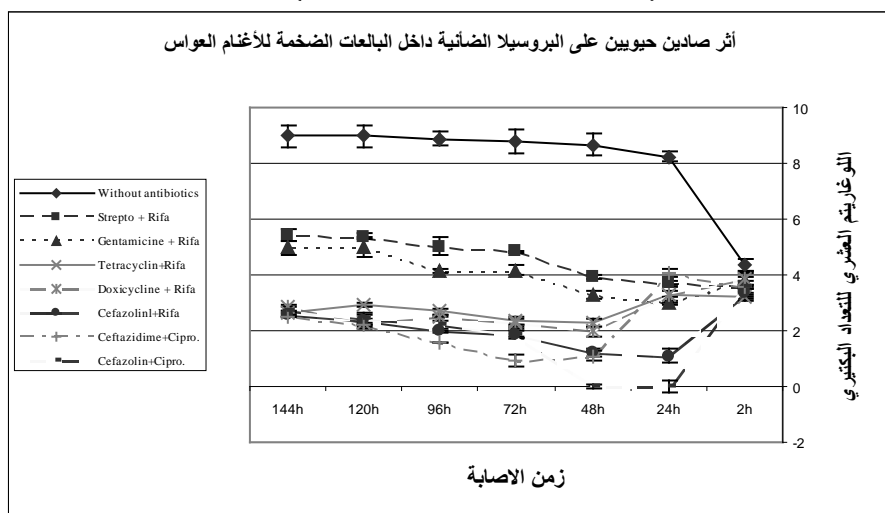
## النتائج والمناقشة

يُلاحظ من الشكل 1 أنه عندما تم استخدام مضاد حيوي وحيد للحماية من بكتيريا البروسيليا الضأنية، بعد 2 ساعة من الإصابة، لا يوجد تأثيراً كبيراً لهذه المضادات على البكتيريا خاصةً أن التعداد البكتيري بدون مضادات كان منخفضاً نسبياً، لكن تأثير بعض المضادات يبدأ بعد 24 ساعة من الإصابة إلى نهاية فترة المقايسة الخلوية. لم يكن هناك تأثيراً للمضاد Cefazolin بعد ساعتين من الإصابة، بينما كان له تأثيراً بعد 24 ساعة من الإصابة حتى 144 ساعة؛ فقد تراوح اللوغاريتم العشري لتعداد بكتيريا البروسيليا من CFU 4.05 بعد ساعتين من الإصابة ليصبح 3.91 CFU بعد 144 ساعة. كان تأثير الـ Doxycycline تأثيراً متوسطاً حيث تراوح اللوغاريتم العشري للبكتيريا بين 4.1 CFU ليصل إلى 5.2 CFU في نهاية فترة المقايسة.

لوحظ أثر الحماية للمضادات Tetracycline، Ceflazine و Rifampicine، و Ciproflaxacin بعد 24 ساعة من الإصابة، واستمر الأثر المثبط المتوسط حتى نهاية فترة المقايسة. لم يُلاحظ أي أثر للحماية للستربتوميسين أو الجنتاميسين عندما أُضيف كمضادين وحيدتين. يُظهر الشكل 2 أنه كان هناك أثر مثبط عندما أُضيف الستربتوميسين أو الجنتاميسين إلى الريفاميسين حيث تراوح التعداد البكتيري للبروسيليا الضأنية بعد 24 ساعة 3.7 و 3.2 CFU ليصل بعد 144 ساعة إلى 5.3 و 4.97 CFU على التوالي. أوضحت النتائج أنه أفضل مضادين حيويين لتثبيط بكتيريا البروسيليا الضأنية داخل خلوية هما الـ Cefazolin + Ciproflaxacin حيث كان هناك تثبيط تاماً للبروسيليا بعد 24 و 48 ساعة من فترة المقايسة وليرتفع التعداد البكتيري إلى 2.7 CFU بعد 144 ساعة من الإصابة فقط (الشكل 2).



الشكل 1. إصابة البالعات الضخمة للأغنام العواس بواسطة بكتريا البروسيلة الضخمة، ومعالجتها ببعض المضادات الحيوية (من ساعتين إلى 144 ساعة من الإصابة).



الشكل 2. إصابة البالعات الضخمة للأغنام العواس بواسطة بكتريا البروسيلة الضخمة، ومعالجتها ببعض المضادات الحيوية كثنائيات (من ساعتين إلى 144 ساعة من الإصابة).

لقد طورت بكتريا البروسيلة آليات لتستطيع التأقلم والتكاثر داخل البالعات الضخمة، وأي علاج فعال ضد هذه البكتيريا يجب أن يكون نفاذاً للخلايا ومثبطاً للبروسيلة ضمن البلعميات (Pappas et al., 2005b) لهذا فقد درسنا أثر ثمانية مضادات حيوية على تثبيطها داخل البالعات الضخمة للأغنام العواس. تحدث الإصابات المزمنة بالبروسيلة بسبب قدرة هذه البكتيريا على المحافظة على حياتها داخل الخلايا البلعمية التي تُبقيها في مأمن من الآليات الدفاعية خارج الخلوية لدى المضيف مثل بروتينات المتممة

والأضداد (Gorvel and Moreno, 2000). يوجد علاقة ما بين فوعة سلالة strain وما بين قدرتها على التكاثر داخل الخلايا البلعمية. وهكذا فقد تبين أن سلالة البروسيل الضائية تقاوم بشكل أفضل الهمد الذي تقوم به الكريات البيض للمضيف من السلالة الموهنة. (Aballay et al., 2002). وكذلك تقاوم السلالات الملساء للبروسيل الضائية التفكيك الذي تقوم به الكريات البيضاء والمعدلة والبالعات الضخمة الموجودة في الغدد الثديية بشكل أكبر من السلالات اللقاحية الموهنة الخشنة (RB51 أو 20/45) أو الملساء (S19) ولا زالت آلية المرور داخل الخلية للبروسيل إلى قلب الخلايا البلعمية غير معروفة (Liautrad et al., 1996) ومع ذلك فقد تبين أن الاس الهيدروجيني (pH) الحامضي للجسيم البلعمي الحال مهم من أجل بقاء البروسيل على قيد الحياة داخل البلعميات (Reichow et al., 2006) هذا وقد تفاقمت مشكلة مقاومة المضادات الحيوية نتيجة لاستخدام هذه الأخيرة كوقاية من المرض، بقصد منع العدوى قبل حدوثها. حيث أن الاستخدام غير الملائم للمضادات الحيوية في علاج نزلة البرد الشائعة والإصابات الفيروسية الأخرى العادية، والتي لا تملك المضادات أي تأثير ضدها، يؤدي إلى القضاء على البكتيريا الحساسة للمضادات ويسمح بتطور الأنواع المقاومة (Bayindir et al., 2003). وعلى نحو مشابه، فإن استخدام المضادات الحيوية في تغذية الدواجن والمواشي عزز ظاهرة مقاومة الأدوية وأدى إلى الانتشار واسع الطيف لتلوث اللحوم والدواجن بالبكتيريا المقاومة للمضادات كالسالمونيلا؛ ونعتقد أن هذا هو السبب الرئيسي لمقاومة البروسيل الضائية للستربتومايسين والجنتاميسين (الشكل 1)، وهذا ما ذكره تقرير الصحة العالمية أن استخدام المضادات الحيوية في علاج الحيوانات ذات الأهمية الاقتصادية (أغنام-ماعز-أبقار- دواجن- أسماك... الخ)؛ يؤدي إلى ظهور سلالات بكتيرية مقاومة لهذه المضادات حيث تنتقل إلى الإنسان عبر السلسلة الغذائية (Anonymous, 1986). وتشكل عملية تعطيل نشاط inactivation المضاد إحدى هذه الآليات الرئيسية. وهذه هي طريقة الدفاع المألوفة ضد البنسلينات والكلورامفينيكول. أما آلية الدفاع الثانية فتستلزم حدوث طفرة تُعَيِّر الأنزيم البكتيري الذي يؤثر عليه الدواء بطريقة لا يمكن للمضاد بعدها أن يثبط الأنزيم. وهذه هي الآلية الرئيسية المستخدمة في مقاومة المركبات المثبطة لتكوين البروتين، مثل التتراسكلينات.

تجري الأبحاث المخبرية حول معالجة البكتيريا، ومن بينها البروسيل، منذ الثمانينات. إن فعالية الكينولونات quinolones ضد البكتيريا داخل الخلية تقلل من خطورة حدوث السمية الكلوية nephrotoxicity، كما وأن تمتع هذه الزمرة بخصائص ديناميكية دوائية جيدة جداً يزيد من أهميتها العلاجية (Jonse et al., 1999).

وُجد أن الـ Clinofloxacin (وهو من عائلة الكينولونات) يؤثر على البروسيل بتركيز بين الـ 0.06 و 2 مغ/مل، ولا يوجد إلا دراسات قليلة حولهما مقارنة مع مضادات أخرى من العائلة ذاتها (García Rodríguez et al., 1990; Kocagöz et al., 2002; Rodríguez et al., 1994)؛ بينما كانت نتائج دراستنا أن تأثير هذا المضاد على البروسيل داخل خلية هو تأثير متوسط حيث تراوح من CFU 3.44 بعد 24 ساعة ليرتفع إلى CFU 5.5 بعد 72 ساعة من الإصابة.

كما أوضحت بعض الدراسات أن فعاليات مضادات هذه العائلة تنخفض في درجة الحموضة = pH 5 [هي درجة حموضة الجسيم الحال البلعمي في البالعات الضخمة، حيث تتكاثر البروسيل]. حيث وجد Garcia Rodríguez وزملاؤه (García-Rodríguez et al., 1994)، أن فعالية صادات هذه العائلة تنخفض مرتين أو أربع مرات بدرجة الـ pH = 5 مقارنة مع الـ pH = 7. كما أوضح Akova وزملاؤه (1999) أن الريفا والدوكسي سكلين يمتلكان فعالية جيدة في درجة الـ pH = 5، بينما كانت صادات حيوية أخرى مثل: سيبروفلوكساسين وفلوكساسين وستربتومايسين وأزيترومايسين وأزيترومايسين أقل فعالية في درجة الحموضة 5. بينما بين بعض الباحثين أن الريفا فقط يمتلك فعالية أكبر في درجة الحموضة بين 5 و 7. بينما أظهرت نتائجنا أنه لا يوجد أثر لدرجة الحموضة 5 أو 7 على فعالية المضادات الحيوية المستخدمة في دراستنا (نتائج غير منشورة).

قام Sturniolo وزملاؤه (Sturniolo et al., 1993) في دراستهم بوضع مختلف المضادات مع بعضها لاختبار أثرها على البروسيل الضائية، إلا أنهم لم يجدوا نظام معالجة فعال أفضل من نظام ريفا - دوكسي. إذ وجد هؤلاء الباحثين أن إضافة السيبروفلوكساسين إلى minocycline كانت ذات تأثير منخفض على قتل البروسيل، بينما كان لإضافة الستربتومايسين إلى أي مضاد حيوي آخر تأثير سريع في قتل البروسيل. ولكن نعتقد أن هذا المضاد الحيوي غير فعال لمعالجة الحمى المالطية في سورية وذلك لأن أغلب العزلات كانت مقاومة له وحتى بتركيز 100 ميكرو غرام/مل (نتائج غير منشورة). وفي هذه الدراسة، وُجد أن تطبيق نظام ريفا + سيفازولين هو الأفضل من ناحية التآزر بينما الأفضل لتثبيط البروسيل الضائية داخل خلية عندما أضيف سيبروفلوكساسين + سيفازولين .

كما هو معلوم فإن ارتباط نجاح معالجة مرضى الحمى المالطية يعتمد على المدة والجرعة والفترة التي يُدئ بها العلاج. ذكر Al-Sibai وزملاؤه (Al-sibai et al., 1992) أنه عند معالجة الحمى المالطية بدواء وحيد هو السبيروفلوكساسين، كانت حالات النكس مرتفعة ونسبة 26.7% و21.4% على التوالي. بينما أظهرت دراسة علمية أخرى أُجريت على 22 مريضاً تمت معالجتهم بالمضاد الحيوي نفسه، وجود فشل في بداية المعالجة بنسبة 9.1% دون حدوث نكس (Sturniolo et al., 1993). وعموماً يمكننا القول أن المعالجة بالسبيروفلوكساسين لوحده غير كافية حيث توجد حالات نكس كثيرة (Akova et al., 1993).

وقد أجرى Aygent وزملاؤه (Aygen et al., 2002) دراسةً علميةً على 480 مريضاً، حيث تم استخدام مضادات مختلفة لعلاج داء البروسيلات، ف لوحظت حالات نكس بنسبة 4.6% إذا كانت المضادات لا تنتمي إلى عائلة الكينولونات، و 17.9% عند المرضى الذين تمت معالجتهم بمضادات من زمرة الكينولونات كمضاد وحيد، و 14.3% عندما كان أحد المضادين من عائلة الكينولونات والآخر من عائلة مختلفة. أخيراً، في دراسة لـ Tasova وزملائه (Tasova et al., 1999) على 87 مريضاً يعانون من أمراض عظمية مفصلية osteoarticular بسبب البروسيلات [12 منها التهاب فقرات]، كانت النتائج متشابهة سواءً تمت المعالجة بواسطة مضادات الكينولونات أو مضادات منتمية إلى عائلة أخرى. كما أوضحت الدراسات فعالية مضادات الكينولونات عند مرضى التهاب شغاف القلب الناجم عن بكتريا البروسيلات (Micozzi et al., 1990).

## REFERENCES

- Corbel, J. M. (1997). Brucellosis: an overview. *Emerging Infectious Diseases*, 3(2), 213-221.
- Gorvelm J. P. and E. Moreno (2002). *Brucella* intracellular life: from invasion to intracellular replication. *Vet. Microbiol.*, 20;90(1-4), 281-297.
- Boschioli, M. L.; V. Foulongne and D. O'Callaghan (2001). Brucellosis: a worldwide zoonosis. *Curr. Opin. Microbiol.*, 4:58-64.
- Akova, M.; O. Uzun; H. E. Akalin; M. Hayran; S. Unal and D. Gur (1993). Quinolones in treatment of human brucellosis: comparative trial of ofloxacin-rifampicin versus doxycycline-rifampicin. *Antimicrob Agents Chemother.*, 37:1831-1834.
- Alp, E.; R. K.; A.C. Koc; O. Durak Yildiz; B. Aygen; B. Sumerkan and M. Doganay (2006). Doxycycline plus streptomycin versus ciprofloxacin plus rifampicin in spinal brucellosis [ISRCTN31053647]. *BMC Infect. Dis.*, 6:72.
- Pappas, G.; N. Akirtidis and E. Tsianos (2005a). Effective treatments in the management of brucellosis. *Expert. Opin. Pharmacother*, 6(2), 201-209.
- Solera, J.; M. Rodríguez-Zapata; P. Geijo; J. Largo; J. Paulino Sáez; L. Martínez-Alfaro; E. Sánchez; M. A. Sepulveda and M. D. Ruiz-Ribó (1995). Doxycycline-rifampicin versus doxycycline-streptomycin in treatment of human brucellosis due to *Brucella melitensis*. *Antimicrob Agents Chemother.*, 39(9):2061-2067.
- Ariza, J.; F. Gudiol; R. Pallares; P. F. Viladrich; G. Rufi; J. Corredoira and M. R. Miravittles (1992). Treatment of human brucellosis with doxycycline plus rifampicin or doxycycline plus streptomycin. A randomized, double-blind study. *Ann. Intern. Med.*, 117: 25-30.

- Giannakopoulos I.; N. M, Nikolakopoulou; M. Eliopoulou; A. Ellina; F. Kolonitsiou and D. A. Papanastasiou (2006). Presentation of childhood brucellosis in Western Greece. *Jpn. J. Infect Dis.*, 59: 160-3.
- Roushan, M. R.; S. M. and S. A. Gangi Ahmadi (2004). Comparison of the efficacy of two months of treatment with co-trimoxazole plus doxycycline vs. co-trimoxazole plus rifampicin in brucellosis. *Swiss Med. Wkly.*, 134:564-8.
- Ozbay, K. and R. A. Inanmis (2006). Successful treatment of brucellosis in a twin pregnancy. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 33:61-2.
- Al-Mariri, A.; A. Tibor; P. Mertens; X. Debolle; P. J. Michel Godefrod; K. Walravens and J-J. Letesson (2001). Protection of BALB/c mice against *Brucella abortus* 544 challenge by vaccination with bacterioferritin or P39 recombinant proteins with CpG oligodeoxynucleotides as adjuvant. *Infect. and Immun.*, 69(8), 4816-4822.
- Aballay, A.; L. S. Mayorga; G. N. Arenas and L. Staskevich (2000). Intracellular trafficking of *Brucella abortus* in J774 macrophages. *Infect. Immun.*, 68(7), 4255-4263.
- Liautrad, J. P.; A. Gross; J. Dornand; S. Kohler (1996). Interactions between professional phagocytes and *Brucella* spp. *Microbiologia*, 12(2), 197-206.
- Reichow, H. E. Y. S.; S. Ramamoorthy; X. Ding; R. Lathilgra; S. M. Craig; J. C. Sobra; G. G. Schurig and N. Boyle (2006). *Brucella melitensis* triggers time-dependent modulation of apoptosis and down-regulation of mitochondrion-associated gene expression in mouse macrophages. *Infect. Immun.*, 74(9), 5035-5046.
- Pappas, G.; N. Akrtidis; M. Bosilkovski and E. Tsianos (2005b). *Brucellosis*. *The new Eng. J. of Med.*, 2;352(22), 2325-2336.
- Bayindir, Y., E. Sonmez Aladag and A. Buyukberber (2003). Comparison of five antimicrobial regimens for the treatment of *brucellar spondylitis*: a prospective, randomized study. *J Chemother.* 15: 466-71.
- Anonymous (1986). Joint FAO/WHO Expert Committee on Brucellosis. WHO Tech. Rep. Ser., 740:1-132.
- Jones, M. E.; M. R. Visser; M. Klootwijk; P. Heisig; J. Verhoef and F.-J. Schmitz (1999). Comparative activities of clinafloxacin, grepafloxacin, levofloxacin, moxifloxacin, ofloxacin, sparfloxacin, and trovafloxacin and nonquinolones linzolid, quinupristin-dalfopristin, gentamicin, and vancomycin against clinical isolates of ciprofloxacin-resistant and -susceptible *Staphylococcus aureus* Strains. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 43: 421-423.
- Kocagöz, S.; M. Akova; B. Altun; D. Gür and G. Hasçelik (2002). *In vitro* activities of new quinolones against *Brucella melitensis* isolated in a tertiary-care hospital in Turkey. *Clin. Microbiol. Infect.*, 8(4):240-242.
- García-Rodríguez, J. A.; J. E. García Sánchez; M. I. García Fresnadillo; M. J. Trujillano and E. García Sánchez (1994). *In vitro* activity of four new fluoroquinolones. *J. Antimicrob. Chemother.*, 34(1):53-64.
- Akovam M.; D. Gür; D. M. Livermore; T. Kocagöz and H. E. Akalin (1999). *In vitro* activities of antibiotics alone and in combination against *Brucella*

- melitensis* at neutral and acidic pHs. *Antimicrob. Agents. Chemother.* 43(5):1298-1300.
- Sturniolo G., Ricciardi F., Ruggeri P., Costantino G., Pellicanò G.F., Bertuccio O., La Rosá F. (1993). Treatment of chronic brucellosis with ciprofloxacin. Personal experience. *Minerva. Med.* 84(4):187-190.
- Al-Sibai, M. B.; M. A. Halim el-Shaker; B. A. Khan and S. M. Qadri (1992). Efficacy of ciprofloxacin for treatment of *Brucella melitensis* infections. *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 36(1):150-152.
- Aygen, B.; M. Doganany; B. Sumerkan; O. Yildiz and U. Kayabas (2002). Clinical manifestation, complications and treatment of *Brucellar spondylitis*: a prospective, randomized study. *J. Chemother.*, 15:466-471.
- Taşova, Y.; N. Saltoğlu; G. Sahin and H. S. Aksu (1999). Osteoarthricular involvement of brucellosis in Turkey. *Clin. Rheumatol.*, 18(3):214-219.
- Micozzi, A.; M. Venditti; G. Gentile; N. Alessandri; M. Santero and P. Martino (1990). Successful treatment of *Brucella melitensis* endocarditis with pefloxacin. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* ,9(6):440-442.

## **EFFECT OF SOME ANTIBIOTICS ON BRUCELLIS OF SHEEPS**

**Al-Ashker, Bothina\* ; A.El-Merirey\*\* and Ebtissam Ahmed\*\*\***

\*\* Biological (Botany) Dept., Fac. of Science, Demascus Univ.

\*\* Molecular Biology Dept. Fac. of Science, Demascus Univ.

\*\*\* Ecological Sci. Dept, Fac. of Science, Demascus Univ.

### **ABSTRACT**

Inhibitory effect of eight different antibiotics were tested on the growth of *Brucella melitensis* (33 strains) isolated from Syria. Growth of *Brucella melitensis* strains were tested on geast trypton agar and trypton agar media, cultivated in petri dishes, incubated at 37C for 48 ho.

The results cleared that *Brucella* strains were resistant for streptomycin and Gentomycine Mixed cefazolin cipro fluxacin more inhibitor effect after 2h and 48hr.

قام بتحكيم البحث

أ.د / محمد منصور قاسم

أ.د / حسين عبدالله محمد الفضالي

كلية الزراعة – جامعة المنصورة  
كلية الزراعة – جامعة المنصورة (دمياط)