مجلة جامعة تكريت للعلوم الزراعية المجلد(12) العدد(2)–(2012) - عدد خاص بوقائع المؤتمر العلمي الرابع لعلوم الثروة الحيوانية
ISSN-1813-1646

دراسة مقارنة بين أختباري وردية البنكال والادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر في الكشف عن اضداد جراثيم حمى ملطا في أمصال الاغنام في منطقتي العلم وبيجي

ادريس بلال علي العبدلي[1]، عمر محمد سبيل الجبوري، غالب محمود الجبـــوري و فهد ابراهيم ويس الجبوري[2]
[1]فرع الطب الباطني والجراحة والتوليد ، كلية الطب البيطري، جامعة تكريت، تكريت، العراق
[2]بكلوريوس طب وجراحة بيطرية

الخلاصة

أستهدفت الدراسة الحالية تحديد نسبة تواجد اضداد جراثيم حمى ملطا في أمصال اغنام غير ملقحة في مناطق مختلفة من محافظة صلاح الدين، وأجراء مقارنة بين أختباري وردية البنكال والادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر. تم فحص 92 عينة (العلم : 48 ، بيجي : 44) مصل مثلت 350 رأسا من الاغنام توزعت على منطقتي العلم(200 راس) وبيجي(150 راس) . أظهرت نتائج اختبار وردية البنكال أن النسبة الكلية لتواجد الاضداد بلغت (11.95٪) . وسجلت أعلى نسبة في منطقة العلم (12.5 ٪)، بينما سجلت منطقة بيجي (11.36 ٪)، في حين كانت النسبة الكلية لتواجد الاضداد باستخدام اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر (22.82٪)، وكانت أعلى نسبة في منطقة العلم (25٪) في حين كانت نسبة الاصابة في منطقة بيجي (20.45٪) . أظهرت النتائج أن التوافق بين نتائج الاختبارين كان قليلا اذ بلغت قيمة كابا (0.555) وهذا يدل على حساسية اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر مقارنة مع أختبار وردية البنكال في الكشف عن أضداد جراثيم حمى ملطا في امصال الاغنام .

الكلمات الدالة :
الادمصاص المناعي ، جراثيم ، أمصال الاغنام ، بيجي

للمراسلة :
ادريس بلال علي العبدلي

فرع الطب الباطني والجراحة والتوليد ، كلية الطب البيطري، جامعة تكريت
ايميل:
internistali@yahoo.com

A comparative study between Rose Bengal and indirect Enzyme Linked Immunosorbent Assay tests for detection of brucella antibodies in Al-Alum & Begy regions

Idrees Belal Al-abdaly* Omar M. Sabeel Aljubory* , Ghalib M. Aljubory * , Fahad I. Wais Aljubory *
Department of Internal Medicine & Surgery & Obestetric , College of Veterinary Medicine, Tikrit University

KeyWords:
Rose Bengal, Enzyme Linked

Correspondence:

Idrees Belal Al-abdaly

Department of Internal Medicine & Surgery & Obestetric , College of Veterinary Medicine, University of Tikrit

Email:
internistali@yahoo.com

Abstract:

This study was conducted to determine seroprevalence of brucellosis in non vaccinated sheep in Al-alum & Biji regions in Salah EL-Din and to compare Rose Bengal and indirect ELISA tests for the detection of the antibodies. A total of 92 blood serum samples were examined, representing 350 sheep distributed in the two regions. Results showed that the total seroprevalence of antibodies to brucellosis by using Rose Bengal test was (11.95%), with the highest rate was (12.5%) in Al-Alum followed by (11.36%) in Biji region. Indirect ELISA test showed that the total percentage Of antibody seroprevalence was (22.82٪) and the highest (25٪) was reported in Al-Alum region followed by 20.45٪) in Biji region. The Kappa value between the two tests was (0.555) Higer sensitivity of indirect ELISA test compared with Rose Bengal in brucella antibodies in sheep serum .

المقدمة

داء حمى ملطا من الامراض المعدية الواسعة الانتشار والمستوطنة في اكثر دول منطقة الشرق الاوسط والبحر الابيض المتوسط(Ariza واخرون ، 1995) و(Songer و Post ، 2005) ، وإن النمط الحيوي الثالث للبروسيلا المالطية في الأغنام هو السائد في دول البحر المتوسط وان انتقال المرض يحدث بشكل رئيسي عن طريق المواد التي تطرح من القناة التناسلية للنعاج تلعب المشيمة الدور الاكبر في نشر المرض بعد الإجهاض والولادة وأن سير العدوى يعتمد على الجرعة المعدية . وبعد الشفاء تكون الأغنام مقاومة للمرض ودرجة استعدادها للمرض مختلفة بشكل كبير ، فأغنام البحر المتوسط تكون عالية الاستعداد للمرض الأمر الذي أدى إلى انتقال المرض للانسان بشكل واسع ، علما" بان الظروف البيئية والعناية االصحية تؤثران في انتشار العدوى بشكل كبير، وفي الإناث تكون إصابة الضرع مترافقة مع طرح الجرثومة مع الحليب أما في الذكور فيؤثر المرض في الأعضاء التناسلية وتطرح الجراثيم مع الحيامن (Garrido واخرون ، 2001) ، وإن الأغنام المصابة بحمى ملطا المجهضة تبقى مصابة أكثر من 40 شهرا" (Luchsinger و Anderson ، 1979) ، و يسبب المرض خسائر اقتصادية كبيرة في الانتاج الحيواني متمثلة بالاجهاض وظهور ولادات ضعيفة وفقدان الخصوبة وقلة انتاج الحليب كما يسبب المرض في بعض الاحيان نفوق الاناث البالغة، الناتج عن التهاب بطانة الرحم الحاد واحتباس المشيمة والتاثير السلبي في الصناعات الغذائية(Silva واخرون ، 2000) و(Chand واخرون ن 2005) . وتأتي الأهمية الصحية للمرض من خلال انتقاله إلى الإنسان بالاحتكاك المباشر مع الحيوان المصاب أو بطرائق غير مباشرة نتيجة تناول الحليب الخام ومشتقاته غير المبسترة أو استنشاق الهواء الجوي الملوث حيث إن استنشاق 10-100 جرثومة تكون كافية لإحداث المرض (Weyant واخرون ، 2001) والذي ذكراإن اختبار وردية البنكال يبقى الاختبار التشخيصي ألمسحي الجيد حيث قدرت النتائج الموجبة الكاذبة لعينات المصل بواسطة اختبار تثبيت المتمم صفر٪ بواسطة اختبار تثبيت المتمم(Hadad و-Al Azawy ،1991) كما وبين منصور (2000) إن نسبة الإصابة في الأغنام في الموصل باختبار وردية البنكال كانت7.1٪ كما ذكرت -Al Thwyni و اخرون (2000) إن نسبة الإصابة في الاغنام في بغداد وحسب اختباري وردية البنكال والتلازن الانبوبي كانت 3.97 ٪ 15.6 ٪ على التوالي وسجل Dhahir (2000) نسبة إصابة الأغنام بداء حمى ملطا في محافظات بغداد وصلاح الدين وديالى للمدة من 1995 ولغاية 2001 باستخدام اختبار وردية البنكال وتلازن المصل 26,4 ٪ وان التشخيص الدقيق للمرض يحتاج الى العزل الجرثومي ولكن بسبب بعض الصعوبات التي تواجة عزل المسبب وفشل كثير من محاولات العزل على الرغم من وجود الاصابة فقد بقيت الاختبارات المصلية هي الطريقة المعتمدة عمليا لتشخيص المرض (Garrido واخرون ، 2001) ، وان الاختبارات المصلية المستخدمة في تشخيص داء حمى ملطا تشخص الاضداد المتكونة ضد متعدد السكريد الشحمي الاملس الموجود في جدار الخلية الجرثومية (Munoz واخرون ، 2005) ، والاختبارات التي تشخص الاضداد المتكونة ضد بروتين الجرثومة (Delpino واخرون ، 2003) . ومن الاختبارات المستخدمة لتشخيص المرض اختبار وردية البنكال والتلازن الانبوبي و تثبيت المتمم واختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم وتقنية تفاعل البلمرة المتسلسل PCR (Muma واخرون ، 2007) . و يعتبر اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم من الاختبارات الجيدة والاكثر دقة في تحديد الاصابة بداء حمى ملطا (Nielsen ،2002) . وضعت هذه الدراسة لتشخيص داء حمى ملطا وبيان نسبة انتشارها بين الاغنام في منطقتي العلم وبيجي ، واجراء مقارنة بين اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر واختبار وردية البنكال في الكشف عن الاضداد في الاغنام .

المواد وطرائق البحث

أجريت الدراسة خلال الفترة من شهر تشرين الثاني 2010 ولغاية شهر نيسان 2011 واشتملت على فحص 92 عينة مصل دم مثلت 350 رأسا من الاغنام توزعت على قطعان في منطقتي العلم وبيجي في محافظة صلاح الدين . تم جمع (٥مل) من الدم من الوريد الوداجي بأستخدام حقن معقمة ووضعت في انابيب زجاجية تركت في الثلاجة لمدة ٢٤ ساعة لكي يتخثر الدم ثم نبذت العينات باستخدام جهاز الطرد المركزي بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة خمسة دقائق وفصل المصل ووضع في انابيب بلاستيكية معقمة وحفظت في درجة حرارة (-٢٠°) لحين اجراء الاختبارات المصلية. تم إجراء اختبار وردية البنكال على عينات المصل وحسب تعليمات الشركة الاسبانية المجهزة لعدة الاختبار (CHEMELEX) والتي تحتوي على مستضدات جرثومة حمى ملطا نوع *Brucella abortus*, strain 544 وحسب وصف (Alton واخرون ، 1988) ، كما تم اجراء اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر على العينات الموجبة والسالبة في اختبار وردية البنكال وحسب تعليمات الشركة

السويدية Svanova Biotech AB المجهزة لعدة الاختبار والتي تحتوي على مستضدات *B.abortus* S99 or S1119-. تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام برنامج SPSS Inc.) pass 11.5) وأيجاد التوافق بين اختباري وردية البنكال والادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير مباشرة من خلال إيجاد قيمة Kappa(Martin ، 1977).

النتائج والمناقشة

بينت النتائج من خلال فحص 92 عينة مصل دم بأستخدام اختبار وردية البنكال أن النسبة الكلية لتواجد اضداد جراثيم حمى ملطا في أمصال الاغنام في منطقتي العلم وبيجي هي (11.95٪)، سجلت منطقة العلم أعلى نسبة(12.5٪) ، بينما سجل نسبة(11.36٪) في منطقة بيجي (الجدول 1).

الجدول(1) نسب تواجد اضداد جراثيم حمى ملطا بأستخدام أختبار وردية البنكال في أمصال الاغنام في منطقتي العلم وبيجي من محافظة صلاح الدين

المنطقة	العدد الكلي للقطعان	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية (٪)
العلم	200	48	6	12.5
بيجي	150	44	5	11.36
المجموع الكلي	350	92	11	11.95

الجدول (2) نسب تواجد أضداد جراثيم حمى ملطا بأستخدام أختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر في أمصال الاغنام في منطقتي العلم وبيجي من محافظة صلاح الدين.

المنطقة	العدد الكلي للقطعان	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية (٪)
العلم	200	48	12	25.00
بيجي	150	44	9	20.45
المجموع الكلي	350	92	11	22.82

جدول (3) يبين نتائج التحليل الاحصائي لقياس قيمة كابا Kappa value

اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر	اختبار وردية البنكال		
	عدد العينات الموجبة	عدد العينات السالبة	
عدد العينات الموجبة	21	10	*11
عدد العينات السالبة	71	**1	70
المجموع	92	11	81

Kappa value = (0.555)

*سالبة كاذبة،** موجبة كاذبة (بأعتبار ان اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر هو الادق).

أظهرت نتأئج الدراسة لاختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر للعينات الموجبة والسالبة لأختبار وردية البنكال النسبة الكلية لتواجد اضداد جراثيم حمى ملطا في أمصال الاغنام في منطقتي العلم وبيجي وبلغت (22.82 ٪)، وسجلت أعلى نسبة للاصابة في منطقة العلم (25٪) بينما كانت نسبة الاصابة في منطقة بيجي(20.45٪) (الجدول 2). أظهرت النتائج أن اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر أظهر حساسية عالية مقارنة مع اختبار وردية البنكال،اذ بلغت قيمة كابا Kappa (0.555) (الجدول 3).

أظهرت نتائج الدراسة بأستخدام اختبار وردية البنكال أن نسبة أنتشار اضداد جراثيم حمى ملطا في امصال الاغنام كانت(11.95 ٪) والتي شملت منطقتي العلم وبيجي في محافظة صلاح الدين وجاءت هذه النسبة مختلفة عن نتائج الدراسات السابقة ((Hadad و Al-azawy ، 1991) و (منصور ، 2000) و (Al-Thwyni واخرون ، 2000) و(Dhahir ، 2002) و(Al-lzzi واخرون ، 1985) و(Al-lzzi و Barhoom ، 1988) و(Salem واخرون ، 1977) و (العبدلي ، 2005) و (Agasthya واخرون ، 2007) حيث كانت نسب الإصابة في الاغنام وبأستخدام اختبار وردية البنكال لتلك الدراسات (5.5 ٪ و7.1 ٪ و 15.6 ٪ و26.4 ٪ و 7.91 ٪ و23.3 ٪ ، 13 ٪، 6.74 ٪) وعلى التوالي ، وأشار Al-lzzi و Barhoom ، 1988 الى ان سبب الاختلاف في النسب يعود الى ان بعض الدراسات أقتصرت على قطيع واحد يعاني من الاجهاض في حين شملت الدراسة

الحالية عدة قطعان من الاغنام موزعة على مناطق واسعة من المحافظة ، وقد يكون سبب الاختلاف في النسب المئوية للاصابة في الاغنام في هذه الدراسات بسبب استخدام انواع مختلفة من المستضدات (Agasthya واخرون ، 2007) . وأظهرت النتائج الحالية أن منطقة العلم سجلت أعلى نسبة (12.5٪) بينما كانت النسبة في بيجي 11.36٪ ، وقد يعزى التفاوت في نسب الاصابة الى كثافة التربية في مناطق دون غيرها فضلا عن وجود مناطق موبوءة وأخرى سليمة بالإضافة الى حرية انتقال الحيوانات المصابة بدون سيطرة ورقابة (الحنكاوي، 2006) .

بينت نتائج اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر إن النسبة الكلية للاصابة بلغت(22.82٪) ، وسجلت اعلى نسبة في منطقة العلم (25 ٪) في حين سجلت منطقة بيجي نسبة (20.45 ٪) ، و تدل هذه النسب على الحساسية العالية لاختبارالادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر مقارنة مع اختبار وردية البنكال ، وأكد الحنكاوي، 2006 أن اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر ذو كفاءة عالية في تشخيص داء حمى ملطا في الاغنام مقارنة مع الاختبارات المصلية الأخرى وأشار الى أن نسبة الاصابة في الاغنام في الموصل بلغت (20٪) بأستخدام ا ختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر. أظهرت النتائج إن التوافق كان قليلا بين اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر واختبار وردية البنكال اذ بلغت قيمة كابا Kappa (0.555) وهذا يدل على الحساسية العالية لاختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم غير المباشر في الكشف عن اضداد جراثيم البروسيل في أمصال الاغنام . وجاءت النتيجة متفقة مع كل من (Arslan واخرون ، 2010) و(Nielsen واخرون ، 2004) حيث اشاروا الى كفاءة اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم في تشخيص داء حمى ملطا مقارنة مع الاختبارات المصلية الاخرى .

شكر وتقدير نقدم شكرنا وتقديرنا للسيد عيسى محمد ثلج وكافة منتسبي المختبر المركزي في جامعة تكريت لما قدموه من تسهيلات ودعم لانجاز البحث.

المصادر

الحنكاوي،عمر خزعل سلو.2006 دراسة مقارنة لتشخيص مرض البروسيللوسز في الضأن والماعز في محافظة نينوى بأستخدام اختبار الادمصاص المناعي المرتبط بالانزيم مع الاختبارات المصلية الاخرى .رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري،جامعة الموصل .

العبدلي ، ادريس بلال علي 2005. الاصابة بحمى ملطا في محافظة نينولى وبعض الجوانب الكيمياوية الحيوية . اطروحة دكتوراه ، كلية الطب البيطري ، جامعة الموصل .

منصور ، ريم سالم 2000. دراسة وبائية وتشخيصية لمرض حمى ملطا في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل .

Agasthya, A.S. ; Lsioor, S. and Prrbhudas, K. (2007) . Brucellosis in high risk group individuals.Indian J. Med. Microb. 25(1):28-30.

Al-lzzi, S.A. and Barhoom , S.S. (1988). Prevalence of brucellosis among sheep and goat in Baghdad , Iraq . Iraqi J. Vet. Sci. 1(1-2) : 108-115 .

Al-lzzi, S.A., Al-Bassam , L.S. and Al-Delaimi, A.K. (1985) . A study on ovine brucellosis in Baghdad. The Iraqi J. of Vet. Med. 9 :19-27.

Al-Thwyni, A.; Al-Bayatti, S.; Abass, A. and Abdulhussin,T. (2000). A study inthe epidemiological of brucellosis in some production animals in the province of Baghdad. The Veterinarian. 10(1) : 168-174.

Alton, G.G.; Jones, L.M. ; Angus, R.D. and Verger, J. M. (1988) . Techniques for the Brucellosis laboratory. INRA,Paris France.;63-129.

Ariza, J.; Corredoira, J.; Pallares, R.; Villadrich, P.F. and Rufi, G.(1995)Characteristics of and risk factors for relapse of brucellosis in humans. Clin Infect Dis.;20:1241–1249.

Arslan, S. H.; Al-Obaidi, Q. T. ; Al-Taliby, M. A. and Hassan,S. D. (2010). A comparative study between Rose Bengal & indirect-ELISA tests for detection of antibrucella antibodies in serum of goats in Mosul city. Iraqi J Vet Med .; 24(2) :93-96.

Chand, P.; Rajpurohit, B.S.; Malhotra, A.K. and Poonia, J.S.(2005) Comparison of milk-ELISA and serum- ELISA for the diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. Vet Microbiol;108:305-311.

Delpino, M.V.;Cassatro, J,; Fossat, C.A. and Baldi, P.C. (2003). Antibodies to the CP24protin of *Brucella melitensis* lack diagnostic usfulness in ovine brucellosis. Vet Microbiol. 93:101-107.

Dhahir, S.H. (2002). Incidence of brucellosis in animals and man. Iraqi J.of Vet. Med. 26 (2) : 140-144 .

Garrido, F.; Duran, M.; Macmillan, A.; Minas, A.; Nicoletti, P. and Vecchi, G.(2001).Brucellosis in sheep and goat (*Br.melitensis*) . European commission,Report of scientific Committee on animal health and animal welfare.

Hadad, J. J. and Al-azawy , Z. S. (1991) . Incidence of brucellosis in sheep and goats in Ninevah Province. Iraqi J. of Vet. Sci. 4 (1) : 27-33 .

Luchsinger, D.W. and Anderson, R.K. (1979). Longitudinal studies of naturally acquired *Br. abortus* infection in Sheep. Amer. J. of Vet. Res. 40 (9) : 1307-1312.

Martin, S.W.(1977).The evaluation of tests.Can. J. Comp.Med. : 41:19-25.

Muma, J.B.; Toft, N.; Oloya, J, ;Lund, A.; Nielsen, K. ;Samui, K.and Skjerve E.E.(2007). Valuation of three serological tests for Brucellosiin naturally infected cattle using latent class analysis, Vet. Microbiol 125:187-192.

Munoz, P.M.; Martin, C.M.; Monreal, D.;Gonzalez, D.; Garin- Bastuhi,B. ;Diaz, R.; Mainar-jaime, R.; Moriyon, I. and Blasco, J.M.(2005). Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovin Brucellosis in the presence of false-positive serological results due to *Yersinia entrocolitica* 0:9:Clinic Diag Lab. Immun. 12(1):141-151.

Nielsen, K. (2002). Diagnosis of brucellosis by Serology.Vet. Microbiol, 90; 447-459.

Nielsen, K. ; Smith, P.; Yu , W. ; Nicoletti , P. ; Elzer, P. ; Vigliocco, A.; Silva , P. ; Bermudez , R. ; Gall , D. ; Perez, B. ; Rojas, X. (2004) .Enzyme immunoassay for the diagnosis of Brucellosis : chimeric protein A-protein G as a common enzyme labeled detection reagent for different animal species. Vet. Microbiol.;101:123-129.

Salem, A.A. ; Al-Khayyat, A.A. ; Aziz, T. (1977) . Studies on Brucellosis of goats in Baghdad , Iraq. Iraqi J. Vet. Med.;1:73-87.

Silva, I.; Dangolla, A. and Kulachelvy,K.(2000). Seroepidemiology of *Br.abortus* infection in bovids in Sri Lanka. Pre. Vet. Med. 46 : 51-59 .

Songer, J.G. and Post, K.W.(2005).Veterinary microbiology bacterial and fungal agents of animal disease. Elservier Saunders, Missouri;200-206.

Weyant, R.S.; Popovis,T. and Bragg,S.L.(2001). Basic Laboratory protocol for the presumptive identification of brucella species. Centers for disease control and prevention (CDC), USA.