التحري عن تواجد اضداد جراثيم البروسيلا في الفصيلة الخيلية في مدينة الموصل باستخدام اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر

وسام سالم الخفاجي ، محمد عبد المحسن الطالبي ، كمال الدين مهلهل السعد ، صدام ظاهر حسن
فرع الطب الباطني والوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل
الموصل، العراق
(الاستلام20 شباط 2011، القبول 4 نيسان2011)

الخلاصة

للتعرف على نسبة تواجد اضداد جراثيم البروسيلا في الفصيلة الخيلية في مدينة الموصل باستخدام اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر ، تم فحص 255 عينة مصل من الفصيلة الخيلية توزعت على (135) و(120) عينة من الخيول والحمير المحلية على التوالي وبأعمار تراوحت بين (3-8) سنوات ومن كلا الجنسين، شملت (105) من الذكور و(150) من الإناث ، اظهر اختبار وردية البنكال نتائج سالبة لجميع عينات المصل المشمولة بالفحص في حين بلغت الاصابة الكلية في الفصيلة الخيلية 9.0% باختبار الاليزا غير المباشر إذ سجلت نسب تواجد الأضداد 5.9% و12.5% في الخيول والحمير على التوالي ، وبلغت نسبة تواجد الاضداد في ذكور الفصيلة الخيلية 8.6% اما في الاناث فبلغت النسبة 9.3% باختبار الاليزا غير المباشر.استنتج من هذه الدراسة أن الفصيلة الخيلية في مدينة الموصل حاملة للاضداد الخاصة بجراثيم البروسيلا لذا قد تلعب دورا هاما في نقل المرض للحيوانات الأخرى والإنسان .

.

المقدمة

البروسيللوسز واحد من الأمراض الجرثومية المنتشرة والمستوطنة في دول البحر الابيض المتوسط والشرق الأوسط واجزاء اخرى من العالم (1) يصيب المرض العديد من الحيوانات المستأنسة والبرية وكذلك الانسان (2) ، تصاب الخيول كغيرها من الحيوانات ، حيث تتواجد جرثومة البروسيلا بشكل كبير مع جرثومة *Actinomyces bovis* في إصابات ناسور الحارك Fistulous withers وتضخم الجراب المزمن Chronic bursitis والذي قد يسبب العرج كما قد تسبب الجرثومة الإجهاض في الأفراس الحوامل (3 ، 4) كذلك عزلت جراثيم *Br. abortus* من أجنة الأفراس المجهضة (4)، تتعرض الخيول للإصابة بنسب عالية نسبياً عندما ترعى سوية مع الحيوانات الخمجة وقد تعطي نتائج موجبة للاختبارات المصلية بدون إظهار اي اعراض سريرية (4،3). يعد العزل الجرثومي عاملا مهما في التشخيص بالرغم من الصعوبات المرافقة له (5) كما تعد الاختبارات المصلية كاختبار وردية البنكال وتثبيت المتمم من طرائق التشخيص المسحية السريعة (7،6) وحديثا تم تطوير اختبارات مصلية أخرى كاختبار الاليزا غير المباشر (9،8) وهذا الاختبار يتميز بدقة وكفاءة عالية فضلا عن سهولة إجراءه بالإضافة إلى انه يمكن الاعتماد عليه كاختبار تأكيدي للإصابة بمرض البروسيللوسز (12،11،10). ولأهمية المرض ولعدم وجود دراسة خاصة بالمرض في الفصيلة الخيلية والتي لها أهمية كبيرة في محافظة نينوى والعراق كونها من الحيوانات المستخدمة للعمل والرياضة وبإعداد كبيرة نسبياً ، فقد تم إجراء هذه الدراسة لمعرفة نسبة تواجد اضداد جراثيم البروسيلا في الفصيلة الخيلية في مدينة الموصل باستخدام اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر.

المواد وطرائق العمل

جمع العينات :

تم جمع 255 عينة دم من الفصيلة الخيلية توزعت على 135 عينة دم من الخيول و120 عينة دم من الحمير باعمار تراوحت بين 3-8 سنوات من كلا الجنسين ومن مناطق مختلفة من مدينة الموصل وبصورة عشوائية ومن الحالات الواردة الى المستشفى التعليمي البيطري في كلية الطب البيطري/جامعة الموصل ، بلغت أعداد عينات الذكور للفصيلة الخيلية (105) اما الاناث فبلغت (150) عينة ، موزعة على الخيول حيث بلغت عدد عينات الذكور 75 عينة اما الاناث فكانت 60 عينة، اما الحمير فبلغت عدد عينات الذكور 30 عينة اما الاناث فكانت 90 عينة .

تم جمع عينات الدم من الوريد الوداجي بعد تعقيم المنطقة بالكحول الاثيلي 70% باستعمال سرنجات معقمة وبواقع 10 مليلتر في أنابيب زجاجية خالية من مانعات التخثر لغرض الحصول على مصل الدم وإجراء الاختبارات المصلية عليها .

تم إجراء اختبار وردية البنكال (المجهز من شركة Omega المملكة المتحدة) على عينات المصل حسب طريقة (13)، وكذلك اجري اختبار الاليزا غير المباشر (المجهز من شركة Svanova السويدية) والحاوي على مستضدات *Brucella abortus* و*B. melitensis* حسب تعليمات الشركة المجهزة لعدة الاختبار على عينات المصل .

تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام اختبار مربع كاي (χ^2) (Chi-square Test) باستخدام برنامج Spss الحاسوبي.

النتائج

أظهرت النتائج أن جميع عينات مصل الخيول والحمير والبالغة 255 عينة المشمولة بالفحص كانت سالبة لاختبار وردية البنكال. في حين أظهرت نتائج اختبار الاليزا غير المباشر ان 23 عينة من عينات الفصيلة الخيلية كانت موجبة للاختبار موزعة على ثمانية من مجموع 135 عينة من عينات الخيول وخمسة عشر من مجموع 120 عينة من عينات الحمير أعطت نتيجة موجبة وكانت العينات المتبقية سالبة للاختبار المصلي ، إذ سجلت فروقات معنوية في نسبة الإصابة بين اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر عند مستوى معنوية ($P<0.05$) في الخيول بينما سجلت فروقات معنوية في نسبة الإصابة بين الاختبارين عند مستوى معنوية ($P<0.01$) في الحمير والمجموع الكلي ،حيث سجل اختبار الاليزا غير المباشر كفاءة أفضل بالمقارنة مع اختبار وردية البنكال في الكشف عن العينات الموجبة (جدول 1). وأظهرت نتائج تواجد الاضداد إن 9 من مجموع 105 من ذكور الفصيلة الخيلية الكلي كانت موجبة باختبار الاليزا غير المباشر، بينما في الإناث أظهرت أن 14 من مجموع 150 كانت موجبة باختبار الاليزا غير المباشر ، ولاتوجد فروقات معنوية في تواجد الاضداد بين الذكور والإناث الكلي(جدول 2). أظهرت نتائج تواجد الاضداد حسب جنس الحيوانات أن 5 من مجموع 75 ذكر كانت موجبة لاختبار الاليزا أما في الإناث فكانت 3 من مجموع 60 موجبة لاختبار الاليزا في الخيول،ولاتوجد فروقات معنوية في تواجد الاضداد بين الذكور والإناث (جدول 3) ، وبينت النتائج آن تواجد الاضداد حسب جنس الحيوانات في الذكور كانت 4 من مجموع 30 ذكر موجبة لاختبار الاليزا وفي الإناث كانت 11 من مجموع 90 موجبة لاختبار الاليزا في الحمير، ولاتوجد اي فروقات معنوية في تواجد الاضداد بين الذكور والإناث في الحمير (جدول 4).

جدول (1) نسبة الإصابة حسب نوع الحيوان (مقارنة بين اختباري الاليزا غير المباشر ووردية البنكال)

نوع الحيوان	العدد الكلي	العينات الموجبة		χ^2	p
		وردية البنكال	اختبار الاليزا		
الخيول	135	0	8 (%5.9)	6.312	< 0.05
الحمير	120	0	15 (%12.5)	13.938	< 0.01
المجموع	255	0	23 (%9.0)	37.334	< 0.01

جدول (2) نسبة تواجد الأضداد حسب جنس الحيوانات المفحوصة باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر

جنس الحيوان	عدد العينات الكلي	العينات الموجبة
ذكور	105	9
إناث	150	14
العدد الكلي	255	23

جدول (3) نسبة تواجد الاضداد باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر حسب الجنس في الخيول

الجنس	العدد الكلي	العينات الموجبة
ذكور	75	5
اناث	60	3
العدد الكلي	135	8

جدول (4) نسبة تواجد الاضداد باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر حسب الجنس في الحمير

الجنس	العدد الكلي	العينات الموجبة
ذكور	30	4
إناث	90	11
العدد الكلي	120	15

المناقشة

أظهرت نتائج الدراسة ان اختبار وردية البنكال اعطى نتائج سالبة لعينات الفصيلة الخيلية التي تم فحصها وهذه النتيجة مشابهة لما لاحظه (14) عند دراسته المسحية التي شملت الخيول في اريتيريا إذ لم يسجل أي نتيجة موجبة لعينات الخيول باختبار وردية البنكال ، والسبب قد يعزى الى حدوث الاصابة الكامنة latent في هذه الحيوانات حيث ان الاضداد الخاصة بالمرض تتواجد في الجسم بكميات غير كافية للاتحاد مع المستضد الموجود باختبار وردية البنكال وإظهار النتيجة الموجبة ، بينما اظهر اختبار الاليزا غير المباشر نتائج موجبة عند فحصه لنفس العينات، إذ ان اختبار الاليزا يستطيع الكشف عن الإصابات الكامنة بمرض البروسيللوسز (15) ، في حين اختلفت النتيجة مع دراسة (16) الذي سجل نسبة انتشار بلغت 2.5% باختبار وردية البنكال في الخيول في إيران وكذلك مع دراسة (17) الذي سجل نسبة انتشار بلغت 5.88% في الخيول في مصر ومع دراسة (18) الذي سجل نسبة 7.3% في الحمير في مصر وهذا التباين قد يعود الى الاختلاف في المناطق الجغرافية واختلاف نظم تربية الحيوانات من حيث الاختلاط مع المجترات وغيرها التي قد تكون حاملة للاصابة بمرض البروسيللوسز وتشكل مصدراً لانتشار المرض. بينما اظهرت نتائج اختبار الاليزا غير المباشر وجود ثمانية من عينات الخيول وخمسة عشر عينة من عينات الحمير أعطت نتيجة موجبة وهذا يعزى إلى كون اختبار وردية البنكال من الاختبارات المسحية السريعة والسهل انجازها (19) ويستخدم معلق جرثومي من خلايا كاملة من جراثيم البروسيلا الملساء كمستضد للكشف عن الأضداد (20) ولكنه قد يعطي نتائج سالبة كاذبة (21) ، ولهذا فنتائجه يجب تأكيدها باستخدام اختبارات أخرى تمتاز بحساسية ونوعية عالية مثل اختبار الاليزا غير المباشر (22،23) .إذ ان اختبار الاليزا غير المباشر يستخدم مستخلص متعدد السكريد الشحمي (S-) Lipopolysaccharide (Lps أو ما يعرف بسلسلة – O (O-chain) كمستضد لتشخيص الأجسام المضادة وأن هذا النوع من الاختبارات المعتمدة على مستخلص (S-Lps) تمتلك كفاءة وحساسية أعلى في التشخيص من الاختبارات المصلية التقليدية الأخرى (24،25) ، ولوحظ من نتائج دراستنا ان هناك تفاوتاً في نسب تواجد الاضداد اعتمادا على نوع الحيوان إذ وجد ان أعلى نسبة لتواجد الاضداد كانت في الحمير إذ بلغت 12.5%، بينما في الخيول بلغت النسبة 5.9% باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر ، والسبب قد يعزى الى كون الحمير في مدينة الموصل غالباً ماتربى مع الضأن والمعز لاغراض الرعي كوسيلة للتنقل ونقل المواد المختلفة مما يجعلها في تماس مباشر وغير مباشر مع هذه الحيوانات الحساسة للاصابة بالمرض مما يعرض الحمير للاصابة وانتشار المرض اكثر من الخيول ، إذ أن الفصيلة الخيلية معرضة ايضاً كباقي الحيوانات للإصابة بمرض البروسيللوسز (3،4) ، وان جراثيم البروسيلا تتميز بقدرتها على إصابة العديد من المضائف إذ تحدث الإصابة في أنواع عديدة من الحيوانات

المستأنسة والبرية وكذلك الإنسان (26). وأن الخيول يمكن أن تكتسب الإصابة عند الاتصال المباشر او غير المباشر مع الحيوانات المصابة أو إفرازاتها الملوثة وبخاصة عند تربية الخيول في نفس الحقول مع المجترات الأخرى (2،3)، وقد تعطي نسبة من الخيول نتائج موجبة للاختبارات المصلية بدون ظهور اي عرض سريري (3،4)، وقد لوحظ عند إجراء مسح مصلي عبر مدة 8 سنوات بين الخيول وجود نسبة تتراوح بين 8-16% من العينات الموجبة لتواجد أضداد جراثيم البروسيلا (3) ، وان الفصيلة الخيلية يجب ان تشمل في اي فحوصات مسحية مصلية في حالة تطبيق برامج السيطرة واستئصال مرض البروسيللوسز (3،4) . نستنتج من هذه الدراسة والتي تعد الأولى في المحافظة ان الفصيلة الخيلية في مدينة الموصل تتواجد فيها الأضداد الخاصة بجراثيم البروسيلا ويجب معرفة دور هذه الحيوانات في نقل المرض للحيوانات الأخرى والانسان .

شكر وتقدير

يشكر الباحثون عمادة كلية الطب البيطري/ جامعة الموصل لما قدمته من دعم وتسهيلات لانجاز هذا البحث .

INVESTIGATION FOR THE PRESENCE OF *BRUCELLA* ANTIBODIES IN EQUIDAE IN MOSUL CITY USING ROSE BENGAL AND INDIRECT ELISA TESTS

W. S. Al-Khafaji, M. A. Al-talibi , K. M. Alsaad , S. D. Hassan
Department of Internal and Preventive Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

ABSTRACT

To investigate the presence of *Brucella* antibodies in equidae in Mosul city using Rose Bengal and indirect ELISA tests. (255) sera of equidae were examined which divided into (135) and (120) samples from local horses and donkeys breed respectively, their ages between (3-8) years old from both sexes , included (105) males and (150) females. The Rose Bengal test show negative results for all serum samples whereas 5.9% and 12.5% of antibodies of horses and donkeys respectively were detected by indirect ELISA test. Male of equidae showed 8.6% of detected antibodies whereas in females was 9.3% by indirect ELISA test . It have been concluded that equidae in Mosul area were carry *brucella* antibodies therefore it may play important role in transmission the disease to other animals and even human .

المصادر

1. Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ. Brucellosis- new aspects of an old disease. J. of Applied Microbiol 2005; 98: 1270-1281.

2. Lapaque N, Moriyon I, Moreno E, Gorvel JP. (2005). Brucella lipopolysaccharide acts as a virulence factor. Curr Opin Microbiol 2005; 8: 60-66.

3.Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff KW, Constable PD. Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle,horses, sheep,pigs and goats. 10th ed., Elsevier Saunders, London 2007; 966-994.

4. Nicoletti PL. In: Sellon DC, Long MT. Equine infectious diseases .Saunders Elsevier.Missouri 2007; 348-350.

5. Orduna A, Almaraz A, Prado A, Gutierrez MP, Garcia-Pascual A, Duenas A,

Cuervo M, Abad R, Hernandez B, Lorenzo B, Bratos MA, Rodriguez-Torres A. Evaluation of an immunocapture-agglutination test (Brucella-capt) for the serodiagnosis of human brucellosis. J. Clinic. Microbiol 2000; 38: 4000-4005.

6. Portanti O, Tittarelli M, Di-Febo T, Luciani M, Mercante MT, Conte A, Lelli R. Development and validation of a competitive ELISA kit for the serological diagnosis of ovine, caprine and bovine brucellosis. J Vet Med 2006; 53: 494-498.
7. Delpino MV, Cassataro J, Fossati CA, Baldi PC. Antibodies to the CP24 protein of Brucella melitensis lack diagnostic usefulness in ovine brucellosis. Vet Microbiol 2003; 93: 101-107.
8. OIE, Caprine and Ovine Brucellosis. In: OIE manual of diagnostic tests and vaccines for terrestrial animals. 5th ed.,2004 Chapter: 2.4.2.
9. Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJC, Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 1st ed., Blackwell Science Ltd., London 2002; pp. 163-167.
10. Burriel AR, Christodoulopoulos, G, Bisias G, Fthenakis GC. Comparison of fluorescence polarization assay, indirect ELISA and competitive ELISA methods for diagnosis of Brucella melitensis infection in small ruminants. Small Rum Res 2004; 54: 243-247.
11. الحنكاوي، عمر خزعل سلو. دراسة مقارنة لتشخيص مرض البروسلوسز في الضأن والمعز في محافظة نينوى باستخدام اختبار الاليزا مع الاختبارات المصلية الأخرى. رسالة ماجستير ، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل 2006.
12. أرسلان،سامح هدايت ،حسين ، خضر جاسم ، إسماعيل، سلام عبد، حسن ، صدام ظاهر. مقارنة اختباري وردية البنكال والاليزا غير المباشر في الكشف عن اضداد جراثيم البروسيلا في أمصال الضأن في مدينة الموصل. المجلة العراقية للعلوم البيطرية. 2010.المجلد 24، العدد 2 ، (89-92).
13. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris. 1988; 63-129.
14. Omer MK, Skjerve E, Holstad G, Woldehiwet Z, MacMillan AP. Prevalence of antibodies to Brucella spp. In cattle, sheep, goats,horses and camels in the state of Eritrea; influence of husbandry systems. Epidemiol Infection.2000; 125(2) 447-453.
15. Reynolds SL, Lindstrom JL, Fancher TL. Use of ELISA in prediciting latent calfhood brucellosis infection. Proc U.S. Anim Hlth Assoc 1985; 89: 150-158.
16. Tahamtan Y, Namavari MM, Mohammadi G, Jula GM. Prevalence of brucellosis in horse north-east of Iran. Journal of Equine Vet Science. 2010; 30(7) 376-378.
17. Montasser AM, Saleh S, Ibrahim SI, Gibaly SE. Recent studies on brucellosis in domestic animals in Egypt. In: Proc. 5th Sci Cong Egyptian Soc Cattle Diseases, Assiut , Egypt. 1999;12-16.
18. Hamoda, F. K. and A. M. Montaser 1998. Clinico-epizootiological study on brucellosis in donkeys. Beni-Suef Vet Med J 1998; 8: 105–118.
19. Garin-Bastuji B, Blasco JM. Caprine and ovine brucellosis (excluding Br. ovis infection). In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 3rd ed.

1997; OIE, Paris, 350-368.

20. Munoz PM, Martin CM, Monreal D, Gonzalez D, Garin-Bastuhi B, Diaz R, Mainar-Jaime R, Moriyon I, Blasco JM. Efficacy of several serological tests and antigens for diagnosis of bovine brucellosis in the presence of false-positive serological results due to Yersinia enterocolitica O:9. Clinic Diag Lab Immun 2005; 12(1): 141-151.
21. Kolar J. Control of brucellosis in developing countries. Annales de l'Institute Pasteur Microbiology.1987; 138: 122-126.
22. Al-Dahouk S, Tomaso H, Nockler K, Neubauer H, Frangoulidis D. Laboratory based diagnosis of brucellosis: overview of the literature. Part II: Serological tests for brucellosis. Clinic Lab 2003; 49: 577-589.
23. Omer MK, Skjerve E, MacMillan AP, Woldehiwet Z. Comparison of the three serological tests in the diagnosis of brucella infection in unvaccinated cattle in Eritrea. Prev Vet Med 2001; 48: 215-222.
24. Nielsen K. Diagnosis of Brucellosis by Serology. Vet Microbiol 2002; 90: 447-459.
25. Delgado S, Fernandez M, Carmenes P. Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of sheep infected and vaccinated with Brucella melitensis. J Vet Diag Invest 1995; 7: 206-209.
26. Smits HL, Kadri SM. Brucellosis in India: a deceptive infectious disease. Indian J Med Res 2005; 122: 375-384.