تشخيص مرض البروسلوسز في الأبقار في مدينة الموصل باستخدام اختبار الإليزا غير المباشر والاختبارات المصلية التقليدية

ماجد شيال رحيمة، كمال الدين مهلهل السعد و عمر خزعل الحنكاوي

فرع الطب الباطني والوقائي، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل، الموصل، العراق

(الاستلام ٥ كانون الثاني ٢٠٠٩؛ القبول ١٣ تموز ٢٠٠٩)

الخلاصة

شملت الدراسة ١٢٦ رأساً من الابقار توزعت على ٩٤ من الإناث و٣٢ من الذكور وبأعمار تراوحت بين سنة واحدة الى اكثر من خمس سنوات اختيرت عشوائياً في الفترة من تموز ٢٠٠٧ الى آب ٢٠٠٨ في مدينة الموصل. استخدم اختبار الاليزا غير المباشر وبعض الاختبارات المصلية التقليدية (اختبار وردية البنكال، اختبار التلازن الانبوبي، اختبار ٢-مركبتوايثانول) لتحديد نسبة حدوث مرض البروسلوسز. سجلت اعلى نسبة حدوث للمرض عند استخدام اختبار الاليزا غير المباشر إذ كانت ٢٣,٠١% في حين كانت ١٨,٢٥% و ١١,٩٠% و٤,٧٦% باستخدام اختبار وردية البنكال واختبار التلازن الانبوبي واختبار ٢-مركبتوإيثانول على التوالي. سجلت أعلى نسبة حدوث في الاناث مقارنة بالذكور وفي الاختبارات المصلية كافة كما سجلت اعلى نسبة حدوث للمرض في اناث الحيوانات بعمر ١-٣ سنة بلغت٢٦,٦٦% اما في الذكور فكانت ٢٣,٠٧% في عمر اكبر من ثلاث سنوات كما بينت نتائج اختبار التلازن الانبوبي ان المعيار ١/٤٠ هو الاكثر تكراراً مقارنة مع المعايير الأخرى. كانت الحالات المزمنة ست باستخدام اختبار ٢-مركبتوإيثانول. كانت نسبة توافق العينات السالبة لاختبار وردية البنكال واختبارات الاليزا غير المباشر والتلازن الانبوبي و٢-مركبتوإيثانول ٩٤,١٧% و١٠٠% و١٠٠% على التوالي، اما نسبة توافق العينات الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر مع اختبار وردية البنكال واختبار التلازن الانبوبي واختبار ٢- مركبتوإيثانول فكانت ٧٩,٣١% و٥١,٧٢% و٢٠,٦٨% على التوالي.

Diagnosis of bovine brucellosis in Mosul city by indirect ELISA and conventional serological tests

M. S. Rhaymah, K. A. AL-Saad,and O. KH. AL-Hankawe

Department of Internal and Preventive Medicine, College of Veterinary Medicine, University of Mosul, Mosul, Iraq

Abstract

The study was conducted on 126 cattle (94 females and 32 males) of different ages (1->5 years) randomly selected from July 2007 to August 2008 in Mosul. Indirect ELISA test and other traditional tests (rose Bengal test, tube agglutination test and 2- mercapto-ethanol test) were used to determine the incidence of bovine brucellosis. The highest incidence of disease was recorded by Indirect ELISA, 23.01%, whereas it was 18.25%, 11.90% and 4.76% by rose Bengal, tube agglutination and 2-Mercapto-ethanol tests, respectively. The highest incidence was in females in all serological tests and the highest incidence was in females at the age between 1-3 years whereas in males more than 3 years of age it was 23.07%. The results of tube agglutination test revealed the titer 1/40 occurred mostly compared with other titers. Six chronic cases were determined by 2-mercapto-ethanol test. The degree of agreement of negative samples with rose Bengal test and indirect ELISA, tube agglutination, and 2- mercapto-ethanol tests was 94.17%, 100% and 100%, respectively, and by indirect ELISA with rose Bengal, tube agglutination and 2-mercapto-ethanol tests was 79.31%, 51.72% and 20.68%, respectively.

Available online at http://www.vetmedmosul.org/ijvs

المقدمة

مرض البروسلوسز من الأمراض المهمة والمشتركة والواسعة الانتشار في العالم يحظى المرض باهتمام الكثير من الباحثين في معظم الدول لخطورته الكبيرة على الصحة العامة والصحة البيطرية (١). ويصيب المرض أنواعاً عديدة من الحيوانات لاسيما المجترات (٢)، وعادة ما تصاب الأبقار بالنوع *Brucella abortus* (٣)، ويحتاج تشخيص المرض الدقيق إلى عزل المسبب المرضي، إلاّ أن الصعوبات العديدة التي تواجه العزل الجرثومي أدت إلى الاعتماد على الاختبارات المصلية كطريقة مثلى لتشخيص المرض في الإنسان والحيوان (٤-٦)، وهناك العديد من الاختبارات المصلية التي تستخدم في التشخيص بصورة منفردة أو مترابطة مع بعضها. يستخدم اختبار وردية البنكال عادة عند إجراء المسوحات لمعرفة نسبة الإصابة بالمرض والذي يمتاز بحساسية وسرعة عاليتين كاختبار أولي وان النتيجة الموجبة بهذا الاختبار يجب أن تؤكد باختبارات أخرى تتصف بنوعية عالية (٧). وعلى الرغم من أن اختبار وردية البنكال هو اختبار مسحي ومعتمد عالميا (١٠) إلاّ أن نتائجه الموجبة يجب أن تؤكد باختبارات مصلية أخرى كاختبار التلازن الأنبوبي واختبار تثبيت المتمم واختبار الإليزا (٨،٩) لأن نتائجه تتأثر بعوامل عديدة منها نوع المستضد المستخدم ودرجة حرارة الغرفة التي يجرى فيها الاختبار (١١) فضلاً عن وجود نتائج إيجابية أو سالبة خاطئة (١٢). لاحظ (١٣) أن اختبار التلازن الأنبوبي يعطي نتيجة موجبة بعد ٧-١٠ أيام من الإصابة وقبل هذه المدة فإن هذا الاختبار يعطي نتيجة سالبة كاذبة والتي يكون سببها ارتباط ملزنات غير نوعية مع جرثومة البروسيلا ومن ثم تتداخل مع النتيجة الموجبة في هذا الاختبار أو قد تكون نتيجة للإصابة المبكرة بالمرض (١٤). وعلى الرغم من كون اختبار تثبيت المتمم من اختبارات التشخيص المهمة إلاّ أنه يمتلك مساوئ عديدة منها لا يمكن إجراؤه على الأمصال الحاوية على الدم كما يستغرق وقتا طويلاً لتنفذه فضلاً عن صعوبة امتلاك التسهيلات المختبرية اللازمة لإجرائه (١٥)؛ ولهذا طوّرت اختبارات تشخيصية أخرى مثل اختبار الإليزا غير المباشر (١٦) الذي يتميز بدقة وكفاءة عاليتين فضلاً عن إمكانيته في تشخيص جميع أنواع الكلوبيولينات المناعية في المصل واحتياجه لكمية قليلة من المصل ومواد أخرى لإتمامه (١٧). وبناءً على ما ذكر في أعلاه عن أهمية المرض وعن تباين نتائج الاختبارات المصلية المستخدمة في التشخيص وضعت هذه الدراسة لمعرفة نسبة الإصابة بالمرض في الأبقار في مدينة الموصل، ولمقارنة نتائج اختبار الإليزا غير المباشر مع نتائج بعض الاختبارات المصلية (اختبار وردية البنكال، اختبار التلازن الأنبوبي، اختبار ٢-مركبتوإيثانول) ومعرفة مدى توافق نتائجه مع نتائج هذه الاختبارات، ولمعرفة تأثير جنس وعمر الحيوان على نسب الإصابة بالمرض.

المواد وطرائق العمل

مستضد البروسيلا لاختبار وردية البنكال المجهز من شركة GOKHAN- تركيا، عدة اختبار الاليزا غير المباشر والمجهزة من شركة SVANOVA- السويد، محلول الفينول الملحي والمحضر حسب (١٨) والذي استخدم لتخفيف المصول والمستضد في اختبار التلازن الانبوبي، محلول ٢-مركبتوإيثانول الذي حضر حسب (١٩) والذي استخدم لتخفيف المصول والمستضد في اختبار ٢- مركبتوإيثانول.

شملت الدراسة ١٢٦ رأساً من الأبقار (٩٤ً من الإناث، و٣٢ً من الذكور) وبأعمار تراوحت ما بين سنة واحدة وأكثر من خمس سنوات، اختيرت عشوائياً وتوزعت على مناطق مختلفة في مدينة الموصل في الفترة من تموز ٢٠٠٧ الى آب ٢٠٠٨. تم جمع ٨ مليلتر دم من الوريد الوداجي باستعمال سرنجات معقمة ثم وضعت في أنابيب زجاجية حجم ١٠ مليلتر نظيفة ومعقمة وتركت في الثلاجة بدرجة ٤ ْم لمدة ١٢ – ١٨ ساعة لغرض تكوين الخثرة، وتم فصل المصل بوضع النماذج بالنابذة بسرعة ٢٠٠٠ دورة/ دقيقة لمدة ٥ دقائق ثم سحب المصل بواسطة ماصات باستور المعقمة ووضع في أنابيب بلاستيكية صغيرة ووضعت الأمصال في المجمدة بدرجة – ٢٠ ْم لحين إجراء الاختبارات المصلية عليها والتي شملت؛ اختبار وردية البنكال، وتم إجراؤه حسب تعليمات الشركة المجهزة للمستضد. اختبار التلازن الأنبوبي، وتم إجراؤه حسب (١٨). اختبار ٢-مركبتوإيثانول، وتم إجراؤه حسب (١٩). اختبار الإليزا غير المباشر، وأجري هذا الاختبار حسب تعليمات الشركة المجهزة لعدة الاختبار.

النتائج

بينت نتائج الدراسة أن نسبة الإصابة الكلية بالمرض عند استخدام اختبار وردية البنكال كانت ١٨،٢٥%، وتباينت النسبة تبعا لجنس الحيوان حيث كانت ٢٠،٢١% في الإناث و ١٢،٥% في الذكور (جدول ١)، كما أظهرت النتائج بأن أعلى نسبة للإصابة في الإناث كانت بعمر ١-٣ سنة حيث بلغت ٢٦،٦٦% أما في الذكور فكانت في الأعمار أكثر من ٣ سنوات هي الأعلى حيث بلغت ٢٣،٠٧% (جدول ٢).

جدول (١) النسبة المئوية للإصابة في الأبقار باستخدام اختبار وردية البنكال.

جنس الحيوان	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية للإصابة
إناث	٩٤	١٩	٢٠,٢١
ذكور	٣٢	٤	١٢,٥
المجموع	١٢٦	٢٣	١٨,٢٥

عند ملاحظة معايير الأضداد كان المعيار ١/٤٠ هو الأكثر تكراراً في الإناث حيث لوحظ في ١٠ نماذج وبنسبة ٥٢,٦٣%، أما المعيار ١/٦٤٠ فقد ظهر في نموذج واحد فقط وبنسبة ٥,٢٦%، أما في الذكور فكان المعيار ١/٤٠ هو الأعلى ايضا وظهر في نموذجين فقط وبنسبة ٥٠% (جدول ٣). وعند إجراء اختبار ٢-مركبتوإيثانول للتمييز بين الحالات الحادة والمزمنة من الإصابة ظهر بأن عدد الحالات الموجبة بهذا الاختبار كانت ست حالات (مزمنة) في كلا الجنسين وتوزعت على المعيارين ١/٤٠ و ١/٦٤٠ وبالنسبتين ٢١,٧٣% و ٤,٣٤% على التوالي، اما باقي العينات فكانت سالبة للإختبار (حالات حادة) وكما موضح في الجدول (٤).

جدول (٢) علاقة عمر الحيوان (الإناث والذكور) بنسبة الإصابة باستخدام اختبار وردية البنكال.

جنس الحيوان	الفئة العمرية	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية للإصابة
الإناث	١-٣ سنة	٣٠	٨	٢٦,٦٦
	٣-٥ سنوات	٤٧	٨	١٧,٠٢
	أكثرمن٥ سنوات	١٧	٣	١٧,٦٤
الذكور	١ - ٢ سنة	١٩	١	٥,٢٦
	أكثرمن٣ سنوات	١٣	٣	٢٣,٠٧

جدول (٣) معايير الأضداد باستخدام اختبار التلازن الأنبوبي للعينات الموجبة باختبار وردية البنكال.

جنس الحيوان	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة بـRBT	العيارية (وحدة دولية/مليلتر)						
			١٥ ١/١٠	٣٠ ١/٢٠	٦٠ ١/٤٠	١٢٠ ١/٨٠	٢٤٠ ١/١٦٠	٤٨٠ ١/٣٢٠	٩٦٠ ١/٦٤٠
الإناث	٩٤	١٩	٢ ١٠,٥٢%	٤ ٢١,٠٥%	١٠ ٥٢,٦٣%	٢ ١٠,٥٢%	-	-	١ ٥,٢٦%
الذكور	٣٢	٤	-	٢ ٥٠%	٢ ٥٠%	-	-	-	-
المجموع	١٢٦	٢٣	٢ ٨,٦٩%	٦ ٢٦,٠٨%	١٢ ٥٢,١٧%	٢ ٨,٦٩%	-	-	١ ٤,٣٤%

جدول (٤) نتائج اختبار ٢-مركبتوإيثانول للعينات الموجبة باختبار وردية البنكال.

جنس الحيوان	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة بـRBT	العيارية (وحدة دولية/مليلتر)						
			١٥ ١/١٠	٣٠ ١/٢٠	٦٠ ١/٤٠	١٢٠ ١/٨٠	٢٤٠ ١/١٦٠	٤٨٠ ١/٣٢٠	٩٦٠ ١/٦٤٠
الإناث	٩٤	١٩	١ ٥,٢٦%	١ ٥,٢٦%	٤ ٢١,٠٥%	-	-	-	١ ٥,٢٦%
الذكور	٣٢	٤	١ ٢٥%	٢ ٥٠%	١ ٢٥%	-	-	-	-
المجموع	١٢٦	٢٣	٢ ٨,٦٨%	٣ ١٠,٠٤%	٥ ٢١,٧٣%	-	-	-	١ ٤,٣٤%

جدول (٥) النسب المئوية للإصابة طبقاً للاختبارات المصلية المستخدمة.

جنس الحيوان	عدد العينات المفحوصة	RBT +ve	RBT -ve	TAT +ve	TAT -ve	2-Me +ve	2-Me -ve	i-ELISA +ve	i-ELISA -ve
الإناث	٩٤	١٩ ٢٠,٢١%	٧٥ ٧٩,٧٨%	١٣ ١٣,٨٢%	٨١ ٨٦,١٧%	٥ ٥,٣١%	٨٩ ٩٤,٦٨%	٢٣ ٢٤,٤٦%	٧١ ٧٥,٥٣%
الذكور	٣٢	٤ ١٢,٥%	٢٨ ٨٧,٥%	٢ ٦,٢٥%	٣٠ ٩٣,٧٥%	١ ٣,١٢%	٣١ ٩٦,٨٧%	٦ ١٨,٧٥%	٢٦ ٨١,٢٥%
المجموع	١٢٦	٢٣* ١٨,٢٥%	١٠٣ ٨١,٧٤%	١٥* ١١,٩٠%	١١١ ٨٨,٠٩%	٦* ٤,٧٦%	١٢٠ ٩٥,٢٣%	٢٩* ٢٣,٠١%	٩٧ ٧٦,٩٨%

* القيم تمثل عدد الحالات الموجبة والنسبة المئوية (%).

أظهرت نتائج الدراسة تبايناً واضحاً ما بين الاختبارات حول نسبة الإصابة بالمرض حيث أظهر اختبار الإليزا غير المباشر أعلى نسبة للإصابة حيث بلغت ٢٣,٠١% مقارنة مع اختبار وردية البنكال واختبار التلازن الأنبوبي واختبار ٢-مركبتوايثانول التي أظهرت نسب إصابة ١٨,٢٥%، ١١,٩٠% و ٤,٧٦% على التوالي كما في الجدول (٥).

كما أوضحت نتائج الدراسة أيضاً بأن عدد العينات السالبة لمصول دم الأبقار باستخدام اختبار وردية البنكال في الإناث والذكور كانت ٧٥ و ٢٨ عينة على التوالي إذ ظهرت ٤عينات موجبة في الاناث و ٢عينة منها موجبة في الذكور باختبار الإليزا غير المباشر وبنسبة توافق بين الاختبارين ٩٤,٦٦% و ٩٢,٨٥% في الاناث والذكور على التوالي في حين أعطت العينات نتائج سالبة أيضاً عند استخدام اختباري التلازن الأنبوبي و ٢-مركبتوايثانول وبنسبة توافق ١٠٠% لكلا الاختبارين وكما مبين في الجدول (٦).

جدول (٦) نسب التوافق بين العينات السالبة باختبار وردية البنكال والاختبارات المصلية الأخرى.

جنس الحيوان	عدد العينات السالبة بـــRBT	TAT	2-Me	I-ELISA
الإناث	٧٥	٧٥ ١٠٠%	٧٥ ١٠٠%	٧١ ٩٤,٦٦%
الذكور	٢٨	٢٨ ١٠٠%	٢٨ ١٠٠%	٢٦ ٩٢,٨٥%
المجموع	١٠٣	١٠٣ ١٠٠%	١٠٣ ١٠٠%	٩٧ ٩٤,١٧%

واعتماداً على العينات التي أعطت نتائج موجبة باختبار الإليزا غير المباشر بأن النسبة المئوية للتوافق بين هذا الاختبار واختبار وردية البنكال واختبار التلازن الأنبوبي و ٢-مركبتوايثانول كانت ٨٢,٦٠% و ٥٦,٥٢% و ٢١,٧٣% على التوالي في الإناث، اما في الذكور فكانت ٦٦,٦٦% و ٣٣,٣٣% و ١٦,٦٦% على التوالي وكما موضح في الجدول (٧).

جدول (٧) نسبة التوافق بين العينات الموجبة باختبار الإليزا غير المباشر والاختبارات المصلية الأخرى.

جنس الحيوان	عدد العينات الموجبة بـــ I-ELISA	RBT	TAT	2-Me
الإناث	٢٣	١٩ ٨٢,٦٠%	١٣ ٥٦,٥٢%	٥ ٢١,٧٣%
الذكور	٦	٤ ٦٦,٦٦%	٢ ٣٣,٣٣%	١ ١٦,٦٦%
المجموع	٢٩	٢٣ ٧٩,٣١%	١٥ ٥١,٧٢%	٦ ٢٠,٦٨%

المناقشة

بينت الدراسة جوانب عديدة منها نسبة الإصابة بالمرض في الابقار باستخدام اختبار الاليزا غير المباشر ومقارنة نتائجه مع نتائج الاختبارات المصلية التقليدية (اختبار وردية البنكال، اختبار التلازن الانبوبي، اختبار ٢- مركبتوايثانول) فضلاً عن تأثير عمر وجنس الحيوان على نسبة الاصابة. وضحت الدراسة معايير الأضداد وعدد الحالات المزمنة والحادة كذلك مدى توافق الاختبارات فيما بينها في الكشف عن نسبة الاصابة. استخدم اختبار وردية البنكال كاختبار اولي كونه اختباراً مسحياً وتشخيصياً فضلاً عن كونه سهل وسريع الاجراء (١٠،٢٠). ومن خلال استعراض نتائج الدراسة تبين ان النسبة الكلية للاصابة كانت ١٨,٢٥% وهذه النسبة تختلف عما توصل اليها (٢١) إذ أشارالى أن نسبة انتشار المرض في الابقار في

الموصل كانت ٥,٨% وكذلك تختلف نتائج هذه الدراسة عن النتائج التي ذكرت من قبل (٢٢) في الموصل ايضاً الذين سجلو نسبة انتشار للمرض بلغت ١٠,٧%. كما تختلف نتائج هذه الدراسة ايضاً عما توصل اليه (٢٣،٢٤) في المدينة نفسها اللذين توصلا الى ان نسبة الاصابة في الابقار في مدينة الموصل كانت ٦,٧% و٨,٥٢% على التوالي باستخدام اختبار وردية البنكال وقد يعود سبب زيادة نسبة الإصابة بين هذه الدراسة والدراسات المشار اليها الى عدم تطبيق برامج سيطرة علمية ومتكاملة على المرض فضلاً عن جهل المربين بخطورة المرض وسرعة انتشاره وعدم اتباعهم الطرق الصحية في التخلص من الاجنة المجهضة والملوثات الاخرى. ومجمل هذه العوامل ساعدت على ارتفاع نسبة انتشاره بين الحيوانات فضلاً عن سهولة حركة الحيوانات من منطقة الى اخرى دون مراقبة مما يسهل من انتشار المرض من المناطق الموبوءة الى السليمة (٢٥،٢٦) أما على صعيد انتشار المرض في القطر فان النسبة التي توصلت اليها هذه الدراسة هي الاعلى مقارنة مع ماتوصل اليه (٢٧) حيث ذكر ان نسبة انتشار المرض في الابقار في مدينة بغداد كانت ٦,٨٥% باستخدام اختبار وردية البنكال، في حين كانت نسبة الاصابة في هذه الدراسة اقل مما توصل اليه (٢٨) في دراسته التي اجراها في محافظة الديوانية حيث كانت النسبة ٣٠% وقد يعزى سبب هذا الاختلاف في نسبة الاصابة الى عدد العينات المأخوذة والى الاختلاف في طرائق التربية وحسن الادارة والتي تختلف من حقل لأخر ومن محافظة الى اخرى فضلاً عن الخلفية العلمية للمربين بالتعامل مع الحيوانات المصابة. فعند مقارنة نسبة الاصابة في هذه الدراسة مع الدراسة التي اجراها (٢٩) في سوريا والتي شملت ١٢,٥٥٤ عينة دم من الابقار كانت نسبة الاصابة ٣,٥٧% و٣,١٢% باستخدام اختباري وردية البنكال والتلازن الانبوبي على التوالي ويعزى سبب هذا الاختلاف بنسبة الاصابة للاسباب التي ذكرت سالفاً فضلاً عن تطبيق برامج السيطرة على المرض باستخدام اللقاح (المتبعة في سوريا) مما قلل من نسبة الإصابة (٢٩) ومن استعراض نتائج هذه الدراسة ايضاً نلاحظ ان نسبة الاصابة في الاناث هي الاعلى مقارنة مما سجلت في الذكور، وقد يعزى السبب الى زيادة سكر الاريثريتول في رحم الاناث الحوامل مقارنة مع مستوياته في اعضاء الجهاز التناسلي الذكري مما يجعله عاملاً مؤهباً لتكاثر الجراثيم المسببة للمرض بشكل اكبر في الاناث عما هو عليه في الذكور (٣٠) وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (٢٨) من ان نسبة انتشار المرض في الاناث كانت ٣٣,٣% مقارنة مع ماسجل في الذكور والتي بلغت ١١,٢% باستخدام اختبار وردية البنكال في محافظة الديوانية، كما بينت نتائج الدراسة بأن هناك اختلافاً في نسب الاصابة اعتماداً على عمر الحيوان، حيث لوحظ بأن الفئة العمرية من سنة واحدة الى ثلاث سنوات وكذلك الفئة الاكبر من ثلاث سنوات في الاناث والذكور سجلت نسب اصابة عالية وقد يعزى سبب ذلك الى تعرض الحيوانات في هذه الاعمار الى المسبب المرضي اكثر من الحيوانات الصغيرة وهذا يتفق مع ماذكره (٣٠) حيث ذكر ان نسب الاصابة بالمرض تكون عالية في الحيوانات البالغة جنسياً مقارنة مع الحيوانات صغيرة العمر. ومن خلال استعراض نتائج الدراسة ايضاً لوحظ اختلاف نتائج الاختبارات المصلية المستخدمة في الدراسة فيما بينها مما انعكس على الاختلاف في نسبة التوافق بينهم وهذا يتفق مع ماتوصل اليه (٢٣،٢٤،٣١،٢٢) إذ لاحظوا أن أعلى نسبة للإصابة ظهرت عند استخدام اختبار الاليزا غير المباشر في حين سجلت اقل نسبة للاصابة باختبار ٢- مركبتوإيثانول وسبب هذا الاختلاف يعود الى التباين في كفاءة هذه الاختبارات المصلية في الكشف عن الاجسام المضادة في المراحل المختلفة من المرض والى ان اختبار٢-مركبتوإيثانول يستخدم للكشف عن الاصابات المزمنة في الحيوانات مما يجعله لا يعطي نتائج موجبة في الحيوانات المصابة في الطور الحاد من المرض (٩،٣٣،٣٢) فضلاً عن انه في بعض الاحيان يكون التلازن في هذه الاختبارات (اختبار وردية البنكال، اختبار التلازن الانبوبي، اختبار ٢ – مركبتو ايثانول) غير نوعي بسبب وجود تفاعل تصالبي بين جراثيم البروسيلا وجراثيم اخرى مما يؤدي الى تحفيز اجسام مضادة تظهر نتيجة موجبة كاذبة (٣٤) وقد بينت النتائج أن أعلى نسبة للإصابة أظهرها اختبار الإليزا غير المباشر وقد يعود سبب ذلك الى مايمتلكه هذا الاختبار من دقة وكفاءة عاليتين فضلاً عن امكانيته في تشخيص جميع انواع الكلوبيولينات المناعية في المصل (١٧،٣٣) وهذا يتفق مع ما توصل اليه (٣١) في دراسته والذي استنتج ان اختبار الاليزا غير المباشر اظهر كفاءة تشخيصية عالية للمرض في الضأن والمعز مقارنة مع الاختبارات المصلية الاخرى. كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع نتائج الدراسة التي اجراها (٣٥) في الارجنتين إذ لاحظ أن حساسية ونوعية اختبار الاليزا غير المباشر بلغت ٩٨% و٩٩,٧% على التوالي. كذلك تتفق نتائج هذه الدراسة مع ماتوصل اليه (٣٦) والذي لاحظ حساسية ونوعية اختبار الاليزا غير المباشر كانت هي الاعلى مقارنة مع نتائج اختبارات وردية البنكال والتلازن الانبوبي و٢- مركبتوإيثانول.

شكر وتقدير

يشكر الباحثون عمادة كلية الطب البيطري، جامعة الموصل لما قدمته من تسهيلات ودعم لانجاز البحث.

المصادر

١. نيونيكوليتي باول. تشخيص مرض البروسيلا ومكافحته في الشرق الأدنى. سلسلة دراسات الانتاج الحيواني والصحة الحيوانية (٣٨). منظمة الأغذية والزراعة للامم المتحدة. ١٩٨٦.

2. Bricker BJ, Ewalt DR, MacMillan AP, Foster G, Brew S. Molecular charac-terization of brucella strain isolated from marine mammals. J Clin Microbiol. 2000;38:1258-1262.
3. Verger JM, Grain-Bastuji B, Grayon M, Mahe AM. Labrucellose bovine a *Brucella melitensis* en France. Ann Rech Vet. 1989;20:93-102.
4. Leal-Klevezas DS, Martinez-Vazquez IO, Lopez-Merino A, Martinez-Soriano JP. Single-Step PCR for detection of *Brucella spp* from blood and milk of infected animals. J Clin Microbiol. 1995;33:3087-3090.
5. Martar GM, Khneisser I A Abdelmoor AM. Rapid Laboratory confirmation of human brucellosis by PCR-analysis of a target sequence on the 31-kilodalton Brucella antigen DNA. J Clin Microbiol. 1996;34:477-478.
6. Cloeckaert A, Verger J M, Grayon M, Grepinet O. Polymorphism at the dnak locus of Brucella species and identification of a *Brucella melitensis* species-specific marker. J Med Microbiol. 1996;45:200-205.
7. FAO/OMS. Comite Mixtode expertos en brucelosis. Sexto informe OMS, Geneve, 1986;149p.
8. 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;48:315-222.
9. 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. Clin Lab. 2003;49:577-589.
10. Garin-Bastuji B, Blasco JM. Caprine and ovine brucellosis (excluding *Br. Ovis* infection). In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 3rd ed.Paris: OIE; 1996. 350-368p.
11. Blasco JM, Garin-Bastuji B, Marin CM, Gerbier G, Faulo J, Jimenez de Nagues M P, Cau C. Efficacy of different rose Bengal and complement of fixation antigen for the diagnosis of *Brucella melitensis* in sheep and goats. Vet Rec.1994;134:415-420.
12. Beh KJ. Quantitative distribution of Brucella antibody amongst immunoglobulin classes in vaccinated and infected cattle. Res Vet Sci. 1974;17:1-2.
13. Cruickshank R, Duguid JP, Marmion BP, Swain RH A. Medical microbiology. 12th ed. London: Edinbarch; 1975.175-184p.
14. MacMillan AP, Cockrem D S. Reduction of non-specific reactions to the *Brucella abortus* serum agglutination test by the addition of EDTA. Res Vet Sci. 1985;38:288-291.
15. MacMillan A. Conventional serological test. In: Nielsen K, Duncan J R eds. Animal Brucellosis. Boca Raton: CRC Press Inc; 1990.153-198p.
16. Wright PF, Kelly W, Gall D E. Application of a timing protocol to the reduction of inter plate variability of anti-Brucella antigen. J Immunoassay. 1985;6:189-199.
17. Nielsen KH, Wright PF, Kelly WA, Cherwonogrodzky JH. A review of enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in cattle. Vet Immunol Immunopath. 1988;18:331-347.
18. Alton GG, Jones LM, Angus RD, Verger JM. Techniques for the brucellosis laboratory. Paris: INRA; 1988.
19. Alton GG, Jones LM, Pietza DE. Laboratory Techniques in 2nd world health organization. Geneve. 1975.
20. Hadad JJ, AL-Azawy ZS. Incidence of Brucellosis in Sheep and goats in Ninevah province. Iraq J Vet Sci. 1990;4:27-33.
21. Hadad JJ, Jamalludeen NMA. The prevelance of brucellosis in cattle in Ninevah province. Iraqi J Vet Sci. 1990;5:159-164.
22. Hussain K A, Saleem AN, Fatoohi FAM. prevalence brucellosis in buffaloes, cattle and sheep in Mosul region. Iraqi J Vet Sci. 1994;7: 233-238.

٢٣.منصور، ريم سالم. دراسة وبائية وتشخيصية لمرض البروسيلا في محافظة نينوى. (رسالة ماجستير) كلية الطب البيطري، جامعة الموصل؛ ٢٠٠٠.

٢٤.العبدلي، ادريس بلال علي. الاصابة بالبروسلا في محافظة نينوى وبعض الجوانب الكيمياوية الحيوية. (اطروحة دكتوراه)، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل: ٢٠٠٥.

25. Kadohira M, Dermott MCJJ, Shouki MM, Kyule MN. variations in the prevalence of antibody to brucella infection in cattle by farm, area and district in Kenya. Epidemiol Infect. 1997;118:53-41.
26. Omer MK, Skjerva E, Woldehiwet Z, Holstad G. Risk factors for Brucella Spp. Infection in dairy cattle farms in Asmara, state of Eritrea. Prev Vet Med. 2000;46:257-265.
27. AL-Thwyni A, AL-Bayatti S, Abass A, Abdulhussin A. A study in the epidemiology of brucellosis in some production animals in the province of Baghdad. The Veterinarian. 2000;10:168-174.

٢٨.الروضان، محسن عبد نعمة. مسح وبائي لمرض الاجهاض الساري في الابقار في مدينة الديوانية. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري ٢٠٠٥; ٤: ١٣-١٧.

29. Darwesh M, Benkirane A. Field investigations of brucellosis in cattle and small ruminants in Syria, 1990-1996. Rev Sci tech Int Epiz. 2001; 20:769-775.
30. Charanjeet MS, Katoch RC, Prasenject D, Rajinder K. Application of RBPT, SAT and Avidin-Biotin serum ELISA for detecting brucellosis among livestock in himachal Pradesh. Indian J comp Microbiol Immunol Infect Dis. 2004;25:15-18.

٣١.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، ٢٠٠٦.

32. Kolar J. Diagnosis and control of brucellosis in small ruminants. Prev Vet Med. 1984;2:215-225.
33. Quinn P J, Carter M E, Markey B, Carter G R. Clinical Veterinary Microbiology. 1st ed. London: Elservier; 1999.78-79p.
34. Mittal KR, Tizard I R, Barnum DA. Serological cross-reactions between brucella abortus and *yersinia enterocoliticao*: 9 Int. J Zoonoses. 1985;12:219-227.
35. Uzal FA, Carrrascoe A, Echaide S, Robles CA. Evaluation of an Indirect ELISA for the diagnosis of bovine brucellosis in Patagonia, Argentina. http://www.iaeaiorg/programmes/nafa/d3/puplic/uzal/indirect-1.55pdf.
36. Gall D, Nielsen K. Serological diagnosis of bovine brucellosis: A review of test performance and cost comparison. Rev Sci tech Int Epiz. 2004;23:989-1002.