استخدام الاليزا التنافسي للكشف عن أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل، العراق

مآب ابراهيم الفروه جي، أسامة موفق العراقي، عمر خزعل الحنكاوي و محمد أسامة عبد المجيد

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

الخلاصة

أستخدِم في الدراسة الحالية اختبار الإليزا التنافسي لمعرفة نسبة تواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل وتقييم صحة نتائج اختبار وردية البنكال. أظهرت نتائج فحص مصول 126 رأساً من الأبقار أن نسبة التواجد الكلية قد بلغت 16.7% باختبار الإليزا التنافسي و 18.3% باختبار وردية البنكال، وتبيّن أن هناك اختلافاً في نسب تواجد الأضداد تبعاً لجنس الحيوان، حيث أظهرت الإناث أعلى نسبة تواجد للأضداد مقارنة بالذكور حيث بلغت 19.1% و 20.2% في اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال على التوالي، أما في الذكور فبلغت 9.4% و 12.5% في الاختبارين على التوالي، كما أظهر الاختباران اختلافاً في نسب تواجد الأضداد في الحيوانات تبعاً للفئة العمرية وحالة الحمل في الإناث. ومن خلال إيجاد قيمة Kappa تبيّن أن هناك توافقاً قليلاً بين الاختبارين (قيمة Kappa بلغت 0.229)، حيث أظهر اختبار وردية البنكال نتائج سالبة كاذبة في 13 عينة من أصل 21 عينة موجبة باختبار الإليزا التنافسي ونتائج موجبة كاذبة في 15 عينة من أصل 105 عينة سالبة باختبار الإليزا التنافسي. ومن خلال متابعة نتائج اختباري التلازن الأنبوبي و 2-مركبتوإيثانول يتبين أن هناك انخفاضاً في معايير الأضداد المسجلة في الاختبارين عن السنوات السابقة حيث سجل اختبار التلازن الأنبوبي المعيار 10/1 بنسبة 19.05% وكانت أغلب المعايير أقل من 40/1 في اختبار 2-مركبتوإيثانول وبنسبة 76.2%. أستنتج من الدراسة الحالية أن نسبة تواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل قد ارتفعت عن السنوات السابقة وأن معظم الحالات كانت حادة.

Using of competitive ELISA in detection of brucella antibodies in cattle sera in Mosul city, Iraq

M. I. Al-Farwachi, O. M. Al-Iraqi, O. Kh. Al-Hankawe and M. O. Abdul-Majeed

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

Abstract

Competitive ELISA test was used in this study to identify brucella antibodies in cattle sera in Mosul, and assessing the results that are given by Rose-Bengal test. Results of testing 126 cattle sera revealed that the seroprevalence was 16.7% using C-ELISA and 18.3% using RBT. There were differences in seroprevalence according to sex of animals, females showed higher seroprevalence than males, it was 19.1% and 20.2% in females and 9.4% and 12.5% in males by C-ELISA and RBT respectively. Also there were differences in seroprevalence according to age of animals and pregnancy status of females. Kappa value revealed that there was little agreement between C-ELISA and RBT, (Kappa value was 0.229). RBT was not accurate in giving real seroprevalence, since there were 13 false-negative samples from 21 samples positive with C-ELISA, and there were 15 false-positive samples from 105 samples negative with C-ELISA. Results of tube agglutination test and 2-Mercaptoethanol test indicated a decline of titers from those of previous studies, lower titer of TAT was 1/10 (19.05%) and most of titers were lower than 1/40 (76.2%) in 2-Me test. This study concluded that the brucella antibodies in cattle sera in Mosul was increased from previous years and most of cases were acute.

المقدمة

يعد مرض البروسلوسز من أكثر الأمراض الانتقالية انتشاراً في دول العالم (1)، ويسبب خسائر اقتصادية كبيرة في الثروة الحيوانية، ولا يمكن السيطرة عليه بسهولة في المناطق الموبوءة به (2). يحدث المرض في الأبقار نتيجة الإصابة بأحد الأنماط التي تعود للنوع *Brucella abortus* كما يمكن أن تصاب بالنوع *Brucella melitensis* عندما تربى سوية مع الضأن والمعز (3)، فضلا عن إمكانية

الإصابة بالنوع *Brucella suis* الذي يصيب الغدد اللبنية من غير أن تسجل حالات إجهاض نتيجة الإصابة به (4).

يتطلب التشخيص الدقيق للمرض العزل الجرثومي للمسبب، إلاّ أن هذا الإجراء يكون غير عمليّ في بعض الأحيان لاسيما في البرامج المسحية عن المرض، فضلاً عن أنه ليس كل الحيوانات المصابة ممكن يعزل منها المسبب المرضي؛ لذا يُعمَد إلى استخدام الاختبارات المصلية التي تعتمد الكشف عن تواجد الأجسام المضادة في مصول الحيوانات المصابة (5، 6، 7، 8). وبصورة عامة يمكن أن تقسم الاختبارات المصلية إلى اختبارات كشفية Screening كاختبار وردية البنكال Rose Bengal Test (RBT)، وأخرى تأكيدية Confirmatory كاختبار الإليزا التنافسي C-ELISA (9). وقد استخدم اختبار وردية البنكال في دراسات سابقة للكشف عن نسبة إصابة الأبقار بالمرض في مدينة الموصل (10، 11، 12، 13) وتباينت فيها النسب بين 5.8% و 10.7% و 6.7% و 8.5% على التوالي. وعلى الرغم من أن اختبار وردية البنكال يمتلك حساسية عالية، إلاّ أنه قد يعطي نتائج موجبة كاذبة False-positive بسبب وجود أجسام مضادة الناتجة من التلقيح بـ*B. abortus* S19 أو بسبب تعرض الحيوانات لجراثيم سالبة الكرام تحتوي على متعدد السكريد الشحمي LPS O-chain مشابه لجراثيم البروسيلا مما يحدث تفاعلاً تصالبياً بينها وبين البروسيلا، وهي Vibrio cholerae O1 و *Escherichia coli* O:157 و Salmonella group N (O:30) و *Yersinia enterocolitica* O:9، لاسيما الأخيرة (1، 7، 14، 15)، كما أنه قد يعطي نتائج سالبة كاذبة False-negative في المراحل المبكرة من المرض وكذلك بعد الإجهاض مباشرة (16). وهذا ما دعا الباحثين إلى استخدام اختبارات أكثر دقة في تشخيص المرض، فقد أشار Nielsen (17) و Weynants et al (18) إلى أن اختبار الإليزا التنافسي له القدرة على التخلص من أغلب التفاعلات الناتجة من بقايا الأجسام المضادة والمتولدة نتيجة اللقاح أو من التفاعلات التصالبية مع جراثيم أخرى، فضلا عن أن هذا الاختبار يمتلك نسبة عالية من الدقة عند استخدام أجسام مضادة خاصة وأحادية النسل (19). وقد ذكر عدد من الباحثين أنه يمكن الاعتماد على نتائج اختبار الإليزا التنافسي في تشخيص مرض البروسلوسز وعدّه اختباراً كشفياً يمتلك حساسية ونوعية عاليتين ويمكن أن يستخدم في برامج السيطرة على المرض بدلاً من العديد من الاختبارات المصلية التقليدية (16، 20، 21، 22، 23، 24). ومن هنا جاءت هذه الدراسة لتحقق الأهداف الآتية: (1) تحديد النسبة الكلية لتواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل باختبار الإليزا التنافسي وتقييم نتائج اختبار وردية البنكال وذلك بمقارنة نتائجه بنتائج اختبار الإليزا التنافسي. (2) معرفة علاقة عمر الحيوان في كلا الجنسين ووجود الحمل في الإناث بنسب تواجد الأضداد. (3) معرفة معايير الأضداد للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي من خلال قياسها باختبار التلازن الأنبوبي، وتحديد نسب الحالات الحادة والمزمنة باختبار 2-مركبتوإيثانول.

المواد وطرائق العمل

تضمنت الدراسة فحص 126 عينة من مصول الأبقار المحلية في مدينة الموصل (94 أنثى، و 32 ذكراً) أخذت من مناطق مختلفة من المدينة. قسِّمت أعمار حيوانات الدراسة اعتماداً على حالة النضوج الجنسي إلى مجموعتين أولاهما أقل من سنتين والثانية سنتان فما فوق (25)، كما قسّمت الإناث اعتماداً على حالة الحمل إلى حوامل وغير حوامل. تم فحص مصول جميع الأبقار التي شملتها الدراسة باختبار الإليزا التنافسي الذي أجري حسب تعليمات شركة Svanova السويدية المجهزة لعدة الاختبار، واختبار وردية البنكال الذي أجري حسب تعليمات شركة Gokhan التركية المجهزة لعدة الاختبار، وحُددَت النسبة الكلية لتواجد أضداد البروسيلا في الأبقار باستخدام طرائق متعددة شملت احتساب نتيجة اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال كلٌّ على حدة، واحتساب النتائج المتطابقة في الاختبارين كليهما لزيادة نوعية النتائج وتسمى هذه الطريقة Series testing denotation، واحتساب النتائج الموجبة لكلا الاختبارين لزيادة حساسية النتائج وتسمى هذه الطريقة Parallel testing denotation (26)، كما حددت نسب تواجد الأضداد في الأبقار تَبَعاً لجنسها وعمرها فضلاً عن حالة الحمل في الإناث. تمت المقارنة الإحصائية بين اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال لتحديد مدى توافق نتائجهما من خلال إيجاد قيمة Kappa (27)، حيث إن (Kappa=1) تعني أن التوافق تام بين الاختبارين، بينما (Kappa=0) تعني عدم وجود توافق بين الاختبارين (برنامج SPSS 11.5، SPSS Inc.). وحُددَت النتائج السالبة والموجبة الكاذبتين لاختبار وردية البنكال على أساس اختبار الإليزا التنافسي كونه يمتلك حساسية 100% ونوعية 99.7% (16). أُجريَ اختبار التلازن الأنبوبي لتحديد معايير الأضداد للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي، حيث حضّر محلول الفينول الملحي المستخدم في تخفيف المصول والمستضد في اختبار التلازن الأنبوبي بحسب ما ورد في (28)، واعتمدت طريقة Alton et al (29) في تحضير محلول ٢-مركبتوايثانول لغرض تحديد نسب الحالات الحادة والمزمنة.

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة الحالية أن النسبة الكلية لتواجد الأضداد في مصول الأبقار في مدينة الموصل هي 16.7% باختبار الإليزا التنافسي، و 18.3% باختبار وردية البنكال، كما بلغت النسبة 6.4% عند احتساب النتائج الموجبة المتطابقة في الاختبارين كليهما، بينما بلغت 28.6% عند تجاهل النتائج السالبة الكاذبة في كلا الاختبارين (جدول 1). وتبيّن من نتائج اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال وجود اختلاف في

نسب تواجد الأضداد تبعاً لجنس الحيوان، حيث أظهرت الإناث أعلى نسبة مقارنة بالذكور في كلا الاختبارين حيث بلغت 19.1% و 20.2% على التوالي، أما في الذكور فبلغت 9.4% و 12.5% على التوالي، كما أظهر الاختباران اختلافاً في نسب تواجد الأضداد في الحيوانات تبعاً للفئة العمرية وحالة الحمل في الإناث، وتبيّن أن الاختبارين غير متوافقين، إذ بلغت قيمة Kappa 0.229 (جدول 2). وعند دراسة نتائج الاختبارين في كل عينة تبين أن هناك نتائج سالبة كاذبة وموجبة كاذبة باختبار وردية البنكال، حيث ظهرت 13 عينة سالبة كاذبة من أصل 21 عينة موجبة باختبار الإليزا التنافسي و 15 عينة موجبة كاذبة من أصل 105 عينة سالبة باختبار الإليزا التنافسي، توزعت على الحيوانات تبعاً للفئة العمرية وكذلك الإناث الحوامل وغير الحوامل (جدول 3). وعند قياس معايير الأضداد للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي تبيّن أن المعيار 20/1 قد أظهر أعلى نسبة حيث بلغت 47.6%، بينما ظهر أعلى معيار (640/1) بنسبة 4.8% (جدول 4). وقد أظهر اختبار 2-مركبتوإيثانول أن نسبة الحالات الحادة هي الأعلى في الذكور والإناث مقارنة بنسب الحالات المزمنة في كلا الجنسين (جدول 5).

جدول (1) النسب الكلية لتواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار باستخدام اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال

الاختبار	عدد العينات الموجبة	النسبة المئوية
اختبار الإليزا التنافسي (لوحده فقط)	21	% 16.7
اختبار وردية البنكال (لوحده فقط)	23	% 18.3
تطابق النتائج الموجبة في الاختبارين (Series testing denotation)	8	% 6.4
تجاهل النتائج السالبة الكاذبة في الاختبارين (Parallel testing denotation)	36	% 28.6

جدول (2) مقارنة نسب تواجد أضداد البروسيلا باختبار الإليزا التنافسي مع اختبار وردية البنكال

حيوانات الدراسة			عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة ونسبها المئوية	
				C-ELISA	RBT
	العدد الكلي للإناث		94	(%19.1) 18	(%20.2) 19
الإناث	العمر	أقل من سنتين	11	(%18.2) 2	(%18.2) 2
		سنتان فما فوق	83	(%19.3) 16	(%20.5) 17
	الحمل	الحوامل	19	(%26.3) 5	(%10.5) 2
		غير الحوامل	75	(%17.3) 13	(%22.7) 17
	العدد الكلي للذكور		32	(%9.4) 3	(%12.5) 4
الذكور	العمر	أقل من سنتين	16	(% 6.3) 1	(%25) 4
		سنتان فما فوق	16	(%12.5) 2	(%0.0) 0
العدد الكلي لحيوانات الدراسة			126	(%16.7) 21	(%18.3) 23
Kappa value				0.229 *	
Kappa significance				P < 0.01	

* قيمة Kappa=1: الاختباران متوافقان تماماً.
قيمة Kappa=0 : لا يوجد توافق بين الاختبارين.

جدول (3) تحديد النتائج السالبة والموجبة الكاذبتين باختبار وردية البنكال مقارنة بنتائج اختبار الإليزا التنافسي

حيوانات الدراسة			اختبـــار c-ELISA		اختبار RBT	
					النتيجة الموجبة	النتيجة السالبة
الإنـــاث	العـدد الكلـي للإنـــاث		الموجبة	18	7	* 11
			السالبة	76	** 12	64
	العمـــر	أقل من سنتين	الموجبة	2	1	* 1
			السالبة	9	** 1	8
		سنتان فما فوق	الموجبة	16	6	* 10
			السالبة	67	** 11	56
	الحمـل	الحوامـــل	الموجبة	5	1	* 4
			السالبة	14	** 1	13
		غير الحوامل	الموجبة	13	6	* 7
			السالبة	62	** 11	51
الذكـــور	العـدد الكلـي للذكـــور		الموجبة	3	1	* 2
			السالبة	29	** 3	26
	العمـــر	أقل من سنتين	الموجبة	1	1	* 0
			السالبة	15	** 3	12
		سنتان فما فوق	الموجبة	2	0	* 2
			السالبة	14	** 0	14
العـدد الكلي لحيوانات الدراسـة			الموجبة	21	8	* 13
			السالبة	105	** 15	90

* نتيجة سالبة كاذبة باختبار وردية البنكال. ** نتيجة موجبة كاذبة باختبار وردية البنكال.

جدول (4) معايير الأضداد في العينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي باستخدام اختبار التلازن الأنبوبي

جنس الحيوان	عدد الحيوانات المفحوصة	عدد العينات الموجبة C-ELISA	عدد العينات باستخدام اختبار التلازن الأنبوبي تبعاً للعيارية (وحدة دولية / مل)						
			15 10/1	30 20/1	60 40/1	120 80/1	240 160/1	480 320/1	960 640/1
الإنـــاث	94	18	3 %16.7	9 %50	5 %27.8	-	-	-	1 %5.6
الذكـــور	32	3	1 %33.4	1 %33.4	1 %33.4	-	-	-	-
المجمـوع	126	21	4 %19.05	10 %47.6	6 %28.6	-	-	-	1 %4.8

جدول (5) نسب الحالات الحادة والمزمنة للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي باستخدام اختبار 2-مركبتوإيثانول

جنس الحيوان	عدد العينات المفحوصة	عدد العينات الموجبة C-ELISA	إختبار 2-مركبتوإيثانول	
			الإصابة الحادة العيارية < 40/1 وحدة دولية/مل	الإصابة المزمنة العيارية ≤ 40/1 وحدة دولية/مل
الإنـــاث	94	18	14 %77.8	4 %22.2
الذكـــور	32	3	2 %66.7	1 %33.3
المجمـوع	126	21	16 %76.2	5 %23.8

المناقشة

تضمنت الدراسة جوانب مختلفة منها معرفة نسبة تواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل، وتأثرها بعمر الحيوان وجنسه، ومقارنة نتائج اختبار الإليزا التنافسي بنتائج اختبار وردية البنكال ومعرفة مدى التوافق بينهما، كما بينت الدراسة معايير الأضداد للعينات الموجبة، ونسب الحالات الحادة والمزمنة بالمرض. ومن خلال استخدام اختباري وردية البنكال والإليزا التنافسي أيضاً في هذه الدراسة تبين ارتفاع نسبة تواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في المدينة مقارنة بالسنوات السابقة (10، 11، 12، 13)، وقد يعود السبب إلى عدم وجود برنامج متكامل للسيطرة على المرض فضلاً عن جهل المربين بخطورة المرض وسرعة انتشاره وعدم اتباعهم الطرائق الصحيّة في التخلص من الأجنة المجهضة والملوثات الأخرى ومن ثم فقد سهّلت هذه العوامل انتشار المرض، هذا فضلاً عن سهولة تنقّل الحيوانات من منطقة إلى أخرى دون مراقبة مما أدى إلى انتشار المرض من المناطق الموبوءة إلى السليمة.

ولوحظ من خلال الدراسة أن النسبة الكلية للأضداد قد بلغت 6.4% عند احتساب النتائج المتطابقة في اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال كليهما، وهذه النسبة أقل من نتيجة اختبار الإليزا التنافسي لوحده فقط (16.7%) وأقل من نتيجة اختبار وردية البنكال لوحده فقط (18.3%) وهذه الطريقة تزيد من نوعية النتائج أي أن النتيجة الموجبة هي بسبب الإصابة الحقيقية بالبروسلوسز؛ لذا يمكن أن تستخدم طريقة الاحتساب هذه عندما يكون التقييم الحقيقي للحيوانات السليمة صعباً أو مكلفاً (27)، أما عند تجاهل النتائج السالبة الكاذبة في احتساب النتائج الموجبة لكلا الاختبارين يتبين أن النسبة الكلية للأضداد قد بلغت 28.6% وهي أعلى من النسب التي أعطاها اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال كلٌّ لوحده فقط وهذه الطريقة تزيد من حساسية النتائج بحيث لا يمكن تجاهل أي نتيجة موجبة مهما كان سببها، وتستخدم هاتين الطريقتين في بعض المختبرات التشخيصية العالمية (26)، ويمكن القول بأنه في البلدان التي تريد استخدام طريقة الفحص والذبح Test and slaughter في السيطرة على المرض وفي الوقت نفسه تكون هذه الطريقة مكلفة للمربين، مع تكلفة تعويضهم أيضاً، فإنه يمكن إتباع طريقة Series testing denotation في احتساب الحيوانات الموجبة لأنها طريقة تزيد من نوعية الاختبارات المستخدمة في التشخيص وبذلك لا يذبح إلاّ الحيوان الذي يعطى نتيجة موجبة في أكثر من اختبار واحد لاسيما إذا كانت الاختبارات المستخدمة تمتلك نوعية قليلة، أما في المناطق الخالية من المرض وتخشى من دخول المرض إليها فيمكن إتباع طريقة Parallel testing denotation في احتساب الحيوانات الموجبة لأنها طريقة تزيد من حساسية الاختبارات المستخدمة في التشخيص، وبذلك لا يمكن تجاهل أي نتيجة موجبة، فالحيوان الذي يعطي نتيجة موجبة في أي اختبار يعزل لحين التأكد من خلوّه من المرض لاسيما إذا كانت الاختبارات المستخدمة تمتلك حساسية قليلة.

تبين من التحليل الإحصائي لنتائج اختباري الإليزا التنافسي ووردية البنكال أن قيمة Kappa قد بلغت (0.229)، وهي قريبة من الصفر الذي يعني عدم وجود توافق بين الاختبارين، لذا فالتوافق بينهما قليل؛ وقد يعود السبب في ذلك إلى وجود نتائج سالبة كاذبة وموجبة كاذبة في اختبار وردية البنكال، وقد تنتج النتائج السالبة الكاذبة باختبار وردية البنكال عندما تكون الإصابة بالمرض مبكرة Recent infection، كما قد تنتج بسبب التحضير غير الجيد للمستضد (5) أو قد تكون بسبب تثبيط الكلوبيولينات المناعية نتيجةً لاستخدام المضادات الحياتية (30)، كما إن النتائج الموجبة الكاذبة باختبار وردية البنكال قد تكون بسبب تعرض الحيوانات لجراثيم سالبة الكرام تحتوي على متعدد السكريد الشحمي LPS O-chain مشابه لجراثيم البروسيلا مما يحدث تفاعلاً تصالبياً بينها وبين جراثيم البروسيلا، لاسيما جراثيم *Yersinia enterocolitica* O:9 (1، 8، 14، 15)، كما إن اختبار وردية البنكال لا يستطيع أن يفرّق بين الحيوانات الملقحة وغير الملقحة على العكس من اختبار الإليزا التنافسي، والسبب في ذلك هو أن اللقاح يحفز أجساماً مضادة قليلة الألفة نتيجة التعرّض للمستضد لمدة قصيرة فضلاً عن سرعة التخلص من المستضد عن طريق الجهاز المناعي، وعلى العكس من ذلك فإن الأجسام المضادة المتولدة من الإصابة الطبيعية تمتلك ألفة عالية لعدم قدرة الجسم على التخلص من المستضد عن طريق الجهاز المناعي بسرعة لذلك يبقى المستضد في الجسم مدّة أطول (31، 32)؛ لذلك يُظهر اختبار وردية البنكال نتائج موجبة كاذبة في حالة التلقيح لأنه لا يستطيع أن يفرق بين النوعين من الأجسام المضادة المذكورة على العكس من اختبار الإليزا التنافسي الذي طُوّرَ لكي يتغلب على هذه المشكلة (26).

وجاءت نتائج هذه الدراسة متفقة مع ما ذكر (33) من أن نسبة الإصابة بالمرض تكون عالية في الحيوانات البالغة جنسياً مقارنة مع الحيوانات صغيرة العمر، وقد يعزى السبب في ذلك إلى زيادة تعرض الحيوانات البالغة جنسياً لجراثيم البروسيلا نتيجة لعملية التزاوج (34)، كما تتفق نتائج هذه الدراسة مع ما توصل إليه (12، 35) من أن نسبة الإصابة في الإناث هي أعلى مما عليه في الذكور، وقد يكون مستوى سكر الإريثريتول في الجسم هو سبب هذا الاختلاف حيث يكون في رحم الإناث أعلى مقارنة مع ما موجود في الجهاز التناسلي الذكري مما يجعله عاملاً مؤهباً لتكاثر جراثيم البروسيلا بشكل أسرع في الإناث مقارنة بالذكور (33).

أظهرت نتائج اختبار التلازن الأنبوبي أن أعلى نسبة لمعايير الأضداد للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي كانت للمعيار 20/1 وبنسبة 47.6%، بينما أظهر المعيار 640/1 نسبة 4.8%، وتوزعت بقية النسب على المعيارين 10/1 و 40/1 . ويعتقد سبب ظهور المعيار 20/1 بأعلى نسبة هو أن المرض في مراحله الأولية؛ إذ أن كميات الأجسام المضادة في بداية المرض تكون قليلة ولا تصل إلى

مستويات معنوية بحيث يتم كشفها باختبار التلازن الأنبوبي (16، 36) أو قد تكون نتيجة شفاء الحيوانات من المرض حيث ذكر (37) أن مستوى الأجسام المضادة لجراثيم البروسيلا ينخفض بعد شفاء الحيوان من المرض وأن التلازن يحدث نتيجة الكمية المتبقية من الكلوبيولين المناعي نوع IgM الذي يبقى لعدة أشهر أو لمدة سنة، أما إن كان هناك عدداً من الحالات المزمنة فإن اختبار التلازن الأنبوبي يسجل نتيجة سالبة أيضاً بسبب تضاؤل ملزنات المصل Serum agglutinins في الحالات المزمنة (16)، ويمكن أن يكون سبب ظهور معيار للأضداد 640/1 في الدراسة الحالية، على الرغم من نسبته القليلة (4.8%)، هو ارتباط ملزنات غير نوعية مع جرثومة البروسيلا ومن ثَمَّ تتداخل مع النتيجة الموجبة لاختبار التلازن الأنبوبي فقد ذكر (38) أن الأجسام المضادة الملزنة قد ترتفع أحياناً عند إصابة الحيوان بجراثيم أخرى تمتاز بوجود تفاعل تصالبي بينها وبين جراثيم البروسيلا مثل جرثومة *Yersinia enterocolitica* O:9.

بينت نتائج اختبار 2-مركبتوإيثانول أن أغلب حالات البروسلوسز في الأبقار في مدينة الموصل هي حالات حادة، حيث ظهرت الحالات الحادة للعينات الموجبة باختبار الإليزا التنافسي بنسبة 76.2% في حين ظهرت الحالات المزمنة بنسبة 23.8%، وهذا ما يدعم نتائج دراستنا الحالية في اختبار التلازن الأنبوبي، إذ أن النتيجة السالبة باختبار 2-مركبتوإيثانول تعني حالة حادة لأن المادة المختزلة (2-مركبتوإيثانول) تحطّم الكلوبيولين المناعي نوع IgM تاركة الكولبيولين نوع IgG (39)، وقد ذكرنا بأن المعايير القليلة في اختبار التلازن الأنبوبي قد تكون بسبب الكمية المتبقية من الكلوبيولين المناعي نوع IgM الذي يبقى لعدة أشهر أو لمدة سنة بعد شفاء الحيوان من المرض، أو أن الحالات قد تكون حادة ولكنها في المراحل المبكرة من المرض كما ذكر آنفاً من أن كميات الأجسام المضادة في بداية المرض تكون قليلة ولا تصل إلى مستويات معنوية بحيث يتم كشفها باختبار التلازن الأنبوبي (16، 36) على الرغم من وجود إصابات مزمنة في أبقار المدينة أظهرها اختبار 2-مركبتوإيثانول.

وقد اختلفت نتائج اختباري التلازن الأنبوبي و2-مركبتوإيثانول في الدراسة الحالية عن الدراستين السابقتين اللتين أجريتا على الأبقار في مدينة الموصل (12، 13)، ومن خلال متابعة الدراسات الثلاث نلاحظ انخفاض المعايير المسجلة في الاختبارين بالتدريج حيث كان أقل معيار لاختبار التلازن الأنبوبي هو 160/1 وبنسبة 54.5% عام 2000 (12) بينما كان المعيار 60/1 هو أقل معيار عام 2005 وبنسبة 33.3% (13)، وكان أقل معيار في اختبار 2-مركبتوإيثانول عام 2000 هو 80/1 بنسبة 10% (12) وانخفض في عام 2005 ليصل 40/1 بنسبة 8.3% (13)، في حين سجلت الدراسة الحالية المعيار 10/1 وبنسبة 19.05% في اختبار التلازن الأنبوبي وكانت أغلب المعايير في اختبار 2-مركبتوإيثانول أقل من 40/1 ، ويمكن أن يكون هناك سببان لهذا الانخفاض في المعايير أوّلهما أن الحيوانات التي سجلت معايير عالية للأضداد قد تم جزرها أو قد نفقت وأن حيوانات الدراسة الحالية قد تعاني من إصابة مبكرة، والسبب الثاني هو أنه قد تم استعمال المضادات الحياتية من قبل المربين لغرض الحدّ من المرض، بالرغم من أن هذا الإجراء لم يحد من انتشاره في المدينة، وأن التلازن حدث نتيجة الكمية المتبقية من الكلوبيولين المناعي نوع IgM الذي يبقى لعدة أشهر أو لمدة سنة بعد العلاج كما ذكر (37).

نستنتج من الدراسة الحالية أن نسب تواجد أضداد البروسيلا في مصول الأبقار في مدينة الموصل قد ارتفعت عن السنوات السابقة بالرغم من انخفاض معايير الأضداد، وأن معظم الحالات كانت حادة.

المصادر

1. Charisis N S. Human and animal brucellosis: epidemiological surveillance in the MZCP countries. Report of a WHO/MZCP workshop, Damascus, Syrian Arab Republic, 4-5 May 1998.
2. Refai M. Incidence and controle of brucellosis in animals in countries of the middle east region. Vet. Microbio. 2002; 20: 81-110.
3. Verger J M, Grain-Bastuji B, Grayon M, Mahe A M. Labrucellose bovine a *Brucella melitensis* en France. Ann. Rech. Vet. 1989; 20: 93-102.
4. Ewalt D R, Payeur J B, Rhyan T C, Geer P L. *Brucella suis* biovar 1 in naturally infected cattle: a bacteriological, serological and histological study. J. Vet. Diag. Invest. 1997; 10: 417-420.
5. Clavijo E, Diaz R, Anguita A, Garcia A P, Smits H L. Comparison of a dipstick assay for detection of *Brucella*-specific immunoglobulin M antibodies with other tests for serodiagnosis of human brucellosis. Clin Diag Lab Immunol, 2003; 10(4): 612-615.
6. Ausvetplan. Diseases strategy: bovine brucellosis (Version 3.0). Australian Veterinary Emergency Plan, edition 3, Primary Industries Ministerial Council, Canberra, ACT, 2005. http://www.animalhealthaustralia.com.au
7. OIE. Manual of Diagnostic tests and vaccines for Terrestrial animal: Chapter 2.3.1: Bovine Brucellosis. 2004. http://www.oie.int
8. Fosgate G T, Adesiyun A A, Hird D W, Hietala S K. Likelihood ratio estimation without a gold standard: A case study evaluatuing a brucellosis c-ELISA in cattle and water buffalo of Trinidad. Preventive Veterinary Medicine, 2006; 75: 189-205.
9. Robinson A. Guidelines for coordinated human and animal brucellosis surveillance. FAO, animal production and health division. 2003.
10. Hadad J J, Jamalludeen N M A. The prevalence of brucellosis in cattle in ninevah province. Iraqi J Vet Sci, 1990; 5(2): 159-164.
11. Hussain K A, Saleem A N, Fatoohi F A M. Prevalence brucellosis in buffaloes, cattle and sheep in Mosul region. Iraqi J Vet Sci, 1994; 7(3): 233-238.
12. منصور، ريم سالم. دراسة وبائية وتشخيصية لمرض البروسيلا في محافظة نينوى. رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل. 2000.
13. العبدلي، إدريس بلال علي. الإصابة بالبروسيلا في محافظة نينوى وبعض الجوانب الكيمياوية الحيوية. أطروحة دكتوراه، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل. 2005.
14. Gerbier G, Garin-Bastuji B, Pouillot R, Very P, Cau C, Berr V, Dufour B, Moutou F. False positive serological reactions in bovine brucellosis: evidence of the role of *Yersinia enterocolitica* serotype O:9 in a field trial. Vet Res, 1997; 28: 375-383.
15. Munoz P M, Marin C M, Monreal D, Gonzalez D, Garin-Bastuji B, Diaz R, Mainar-Jaime R C, Moriyon I, Blasco J M. 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. Clin Diag Lab Immunol, 2005; 12(1): 141-151.
16. Radostits O M, Gay C C, Hinchcliff K W, Constable P O. Veterinary medicine. A textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs and horses. 10th ed. Saunders Elsever. London. 2007; pp. 971-972.
17. Nielsen K. The serological response of cattle immunized with *Yersinia enterocolitica* O:9 or O:16 to *Yersinia* and *Brucella*

abortus antigens in enzyme immunoassay. Vet Immunol Immunopathol, 1990; 24: 373-382.

18. Weynants V, Gilson D, Cloeckaert A, Tibor A, Denoel P A, Godfroid F, Limet J N, Letesson J J. Characterization of smooth-lipopolysaccharide and o-polysaccharides of Brucella species by competition binding assays with monoclonal antibodies. Infect Immun, 1997; 65: 1939-1943.
19. Nielsen K H, Cherwonogrodzky J, Duncan J R, Bundle D R. Enzyme-linked immunosorbent assay for differentiation of the antibody response of cattle naturally infected with *Brucella abortus* or vaccinated with strain 19. Am J Vet Res, 1989; 50: 5-9.
20. Gall D, Colling A, Marino O, Moreno E, Nielsen K, Perez B, Samartino L. Enzyme immunoassays for the diagnosis of bovine brucellosis: trial in Latin America. Diagnosis and Epidemiology of Animal Diseases in Latin America, IAEA in Vienna, Austria, 1998; 113-130.
21. Moreno E, Rojas N, Nielsen H, Gall D. Comparison of different serological assays for diagnosis of brucellosis. Diagnosis and Epidemiology of Animal Diseases in Latin America, IAEA in Vienna, Austria, 1998; 153-162.
22. Nielsen K, Gall D. Summary of field trials using the indirect and competitive enzyme immunoassays for detection of antibody to *Brucella abortus*. Diagnosis and Epidemiology of Animal Diseases in Latin America, IAEA in Vienna, Austria, 1998; 107-112.
23. Perez B, Rojas M. Field trial of brucellosis competitive ELISA. Diagnosis and Epidemiology of Animal Diseases in Latin America, IAEA in Vienna, Austria, 1998; 169-180.
24. Portanti O, Tittarealli M, Febo T Di, Luciani M, Mercante M T, 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.
25. السعدي، حسين عبد الكريم. الخصوبة والتلقيح الاصطناعي. دار الكتب للطباعة والنشر، جامعة الموصل، 2001؛ 2: 80.
26. Gall D, Nielsen K. Serological diagnosis of bovine brucellosis: a review of test performance and cost comparison. Rev Sci Tech Off Int Epiz, 2004; 23(3): 989-1002.
27. Martin S W. The evaluation of tests. Can J Comp Med, 1977; 41: 19-25.
28. Alton G G, Jones L M, Angus R D, Verger J M. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris. 1988.
29. Alton G G, Jones L M, Pietza D E. Laboratory Techniques in 2nd world health organization. Geneve. 1975.
30. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. Butterworths. London. 1986; 179-184.
31. Nielsen K H, Wright P F, Kelly W A, Cherwonogrodzky J H. A review of enzyme immunoassay for detection of antibody to *Brucella abortus* in cattle. Vet Immunol Immunopath, 1988; 18: 331-347.
32. MacMillan A. Conventional serological test. In: Nielsen K, Duncan J R eds. Animal Brucellosis. CRC Press Inc. Boca Raton. 1990; 153-198.
33. Charanjeet M S, Katoch R C, Prasenjeet 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(1): 15-18.
34. Nielsen K, Duncan J R. Animal Brucellosis. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA. 1990; 335-378.
35. الروضان، محسن عبد نعمة. مسح وبائي لمرض الاجهاض الساري في الابقار في مدينة الديوانية. مجلة القادسية لعلوم الطب البيطري. 2005؛ 4 (2): 13-17.
36. Garrido F, Duran M, Macmillan A, Minas A, Nicoletti P, Vecchi G. Brucellosis in sheep and goats (*Br. melitensis*). European Commission, Report of Scientific committee on animal health and animal welfare. 2001.
37. Cruickshank R, Duguid J P, Marmion B P, Swain R H A. Medical microbiology. 12th ed. Edinbarch, London and New York. 1975; 175-184.
38. Krieg N R, Holt J G. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1, Williams and wilkins, Baltimore, London. 1984; 377-388.
39. 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.