المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٦، عدد إضافي ٢، ٢٠١٢ (٩٧-١٠٣)
وقائع المؤتمر العلمي السادس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

مقارنة اختبار الاليزا والاختبارات المصلية الأخرى لتشخيص مرض البروسلوسز في الضــأن فـي محافظة نينـوى

عمر خزعل الحنكاوي وماجد شيال رحيمة

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

الخلاصة

استهدفت الدراسة مقارنة بين اختبار الإليزا والاختبارات المصلية الأخرى (اختبار وردية البنكال Rose bengal test، واختبار وردية البنكال المحوّر Modified rose bengal test، واختبار التلازن الأنبوبي Tube agglutination test، واختبار المركبتوإيثانول الثنائي-2 mercapto ethanol test) في تشخيص مرض البروسلوسز في الضأن ومعرفة مدى انتشار المرض.تضمنت الدراسة 5723 رأساً من الضأن توزعت على 48 قطيعاً إذ تم جمع 364 عينة مصل من الضأن البالغة جنسياً ومن كلا الجنسين ومن 7 مواقع جغرافية مختلفة في محافظة نينوى. إذ كانت نسبة انتشار الإجهاض الكلية (2.42%) في حين تباينت هذه النسبة تبعاً لاختلاف المناطق, إذ سجلت منطقة تلكيف ومركز مدينة الموصل أعلى نسبة لانتشار الإجهاض وهي (3.5%)، في حين سجلت منطقتي بعشيقة والشمسيات أقل نسبة (1.9%). استخدم اختبار وردية البنكال كاختبار مسحي للكشف عن نسبة تواجد أضداد المرض إذ كانت نسبة الإنتشار الكلية (11.8%) وتباينت النسب تبعا للمناطق إذ سجلت في منطقة الشيخان أعلى نسبة لانتشار المرض (22.7%) تلتها منطقة تلكيف (18.5%) بينما سجل في مركز مدينة الموصل أقل نسبة وهي (6%). كما تباينت نسب انتشار المرض الكلية قد تباينت طبقاً لنوع الاختبار المستخدم إذ سجل اختبار الإليزا أعلى نسبة بلغت (15.9%) وتلاه اختبار وردية البنكال المحور (13.5%) واختبار وردية البنكال (11.8%) واختبار التلازن الأنبوبي (6.9 %) ثم اختبار المركبتوإيثانول الثنائي (8.2%). وعند مقارنة النتائج الموجبة لاختبار الإليزا مع نتائج الاختبارات المصلية الأخرى (اختبار وردية البنكال واختبار وردية البنكال المحوّر واختبار التلازن الأنبوبي واختبار المركبتوإيثانول الثنائي) كانت نسبة التوافق بين نتائج اختبار الإليزا وهذه الاختبارات (74.1%) و(84.5%) و(43.1%) و(51.7%) على التوالي. وقد ظهر وجود فرقٍ معنويٍ بين اختبار الإليزا والاختبارات المصلية الأخرى عند مستوى معنوية ($P<0.05$).

Comparison between ELISA and other serological tests for diagnosis of brucellosis in sheep in Ninevah Province

O.KH. Al-Hankawe and M.S. Rhaymah

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

Abstract

The study was conducted to compare between the ELISA test and other serological tests (Rose bengal, modified rose bengal, tube agglutination and 2-mercapto-ethanol tests), for diagnosis of Brucellosis in sheep, and to identify the prevalence of the disease. The study included 5723 heads representing 48 flocks, 364 sera were collected from adults of both sexes from different seven geographical areas in Ninevah Province. The total prevalence of abortion was (%2.4) this value varied according to different areas. The highest in Telkef and Mosul center was (3.5%) and the lowest in Bahsheka and Shamseat was (1.9%). using the Rose-bengal test as a screening test to identify the prevalence of the disease, the total prevalence was (%11.8) and this value varied according to the areas, the highest prevalence was in Al-Shekan (22.7%), then Telkef (18.5%), while the lowest was in Mosul city center (6%). The study revealed that the prevalence of the disease varied according to the type of the serological tests were used. ELISA recorded the highest (15.9%) then the modified Rose-bengal test (13.4%), Rose-bengal test (11.8%), tube agglutination test (6.9%) and 2-Mercapto-ethanol test recorded (8.2%). When comparing the positive results of ELISA and other serological tests (Rose-Bengal, Modified rose-bengal, Tube agglutination, 2-mercapto-ethanol tests) the degree of agreement was (74.1%), (84.5%), (43.1%) and (51.7%) respectively. The results reveals significant ($P<0.05$) difference between ELISA and other serological tests.

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

المقدمة

يعد مرض البروسلوسز من الأمراض الهامة والمشتركة والذي لا يمكن السيطرة عليه بسهولة لاسيما في المناطق الموبوءة بالمرض كدول البحر المتوسط والشرق الأوسط، وأفريقيا، وأمريكا اللاتينية، وجزء من آسيا (1). يحدث المرض من جراء الإصابة بجراثيم تعود لجنس البروسيلا، ولهذه الجراثيم القدرة على العيش والتكاثر داخل خلايا المضيف (2,3). تأتي الأهمية الاقتصادية للمرض من خلال تسببه في حالات الإجهاض لاسيما في الثلث الأخير من الحمل فضلاً عن ظهور ولادات ضعيفة لا تستطيع العيش طويلاً مع فشل في التكاثر ونفوق أعداد كبيرة من الإناث المجهضة نتيجة احتباس المشيمة والتهاب الرحم (4,5) ويصعب تشخيص المرض اعتمادا على العلامات السريرية نظرا لتعددها لذا فإن التشخيص بصورة دقيقة يجب أن يؤكد عن طريق عزل المسبب المرضي أو عن طريق قياس الاستجابة المناعية ضد المسبب المرضي (7). إن النمو البطيء لجراثيم البروسيلا في أثناء العزل الأولي يجعل التشخيص يأخذ وقتاً طويلاً مما يسبب حدوث مضاعفات عديدة قبل التوصّل إليه (8،9) لذا فإن اللجوء إلى استخدام الاختبارات المصلية في التشخيص يسهل من عملية الكشف عن الإصابة وعلاج الحالات قبل بلوغها المراحل المتقدمة (7) فضلاً عن أن برامج السيطرة على المرض تعتمد كليّاً على طرائق التشخيص المصلي (10،11) ومن هذه الاختبارات اختبار وردية البنكال واختبار تثبيت المتمم اللذين يعدّان من الاختبارات المعتمدة في الكشف عن المرض في البلدان الأوربية لاستخدامها في برامج السيطرة على المرض في المجترات الصغيرة (12) لكن هذين الاختبارين لا يميزان بين الحيوانات المصابة طبيعياً والحيوانات الملقحة (13) فضلاً عن النتائج الموجبة الكاذبة لهذين الاختبارين فقد طوّر حديثاً اختبار الإليزا لتجنب العديد من المشاكل والعيوب التي تحدثها الاختبارات المصلية الأخرى (14) إذ يتميز هذا الاختبار بكفاءة عالية في التشخيص فضلاً عن أنه ذو فائدة في التفريق بين الحيوانات الملقحة والحيوانات المصابة طبيعياً (15). كما سجّل بأنه فعال وكافٍ لتشخيص المرض في الضأن (16-18) ولغرض دراسة كفاءة اختبار الاليزا ومقارنتها مع الاختبارات المصلية الأخرى وضعت هذه الدراسة لمعرفة نسبة انتشار الإجهاض وداء البروسيلا في بعض قطعان الضأن في محافظة نينوى، وتقييم أهمية اختبار الإليزا في التشخيص من خلال مقارنة نتائجه مع نتائج بعض الاختبارات المصلية الأخرى.

المواد وطرائق العمل

تضمنت الدراسة 5723 رأساً من الضأن توزعت على 48 قطيعاً إذ تم جمع 364 عينة دم (298 من الإناث المجهضة والحوامل و 66 من الذكور) من الضأن البالغة جنسيا وبصورة عشوائية وبعمر (2- 5) سنوات في الفترة من حزيران ٢٠٠٥ ولغاية نيسان ٢٠٠٦، واختيرت سبعة مواقع مختلفة جغرافيا في محافظة نينوى لجمع نماذج الدم. سحبت عينات الدم من الوريد الوداجي باستعمال سرنجات معقمة وبواقع 5 مل ومن ثم وضعت في أنابيب زجاجية حجم 10 مل نظيفة ومعقمة وتركت نماذج الدم في الثلاجة بدرجة 4°م لمدة (12-18) ساعة لغرض تكوين الخثرة. في صباح اليوم التالي سحب المصل ووضع في النابذة بسرعة 1500 دورة/دقيقة لمدة 5 دقائق ثم سحب المصل بواسطة ماصات باستور المعقمة ووضع في أنابيب بلاستيكية صغيرة معقمة، وتم إجراء اختبار وردية البنكال في اليوم نفسه ووضعت الأمصال في المجمدة -20°م لحين إجراء الاختبارات المصلية الأخرى عليها (اختبار وردية البنكال وتم إجراؤه حسب تعليمات الشركة المجهزة للمستضد واختبار التلازن الأنبوبي وتم إجراؤه حسب (19) و اختبار 2-مركبتوإيثانول، وتم إجراؤه حسب (20) واختبار وردية البنكال المحور وتم إجراؤه حسب (21) واختبار الإليزا غير المباشر، وأجري هذا الاختبار حسب تعليمات الشركة المجهزة لعدة الاختبار). إذ تم استخدام مستضد البروسيلا لاختباري وردية البنكال ووردية البنكال المحور المجهز من شركة (Omega)_ أمريكا جهّز المستضد من شركة (Omega) الأمريكية. وهو عبارة عن عالق مركّز من جرثومة Br. abortus strain 99 مقتولة بالحرارة والفورمالين ومصبوغة بصبغة وردية البنكال ومعايرة ضد المصل القياسي لمنظمة الصحة العالميةWHO بمستوى(> 25 وحدة دولية / مل). و مستضد البروسيلا لاختباري التلازن الأنبوبي و 2- مركبتوإيثانول والمجهّز من المشروع الوطني للبروسيلا والسل / الشركة العامة للبيطرة في بغداد وهو عبارة عن عالق من جرثومة البروسيلا المجهضة العترة 99 المقتولة بالحرارة والفينول بتركيز 0.5%، وعدة اختبار الاليزا غير المباشر والمجهزة من شركة (Synbiotics)_ فرنسا ومحلول الفينول الملحي والمحضر حسب (19) والذي استخدم لتخفيف المصول والمستضد في اختبار التلازن الأنبوبي.ومحلول 2- مركبتوإيثانول الذي حضر حسب (20) والذي استخدم لتخفيف المصول والمستضد في اختبار 2-مركبتوإيثانول.

التحليل الإحصائي

تم استخدام اختبار مربع كاي ((Chi-square Test (χ^2)) والمعروف بـ (اختبار حسن المطابقة (Goodness of Fitting)) للمقارنة بين أنواع الاختبارات من ناحية عدد الإصابات التي كشفها كل اختبار، ويستخدم هذا الاختبار الإحصائي لغرض المقارنة بين تكرارات نتائج طريقتين مختلفتين، مع الأخذ بنظر الاعتبار العدد الكامل للمشاهدات المدروسة. وقد تمّ استخدام البرنامج الإحصائي (Minitab 14) في إجراء التحليل الإحصائي. وتمّ من خلال التحليل إيجاد قيمة المختبر الإحصائي (χ^2). و كذلك التعرف على الفروقات المعنوية بين الاختبارات من خلال قيمة (P) (22).

النتائج

كانت نسبة الإجهاض الكلي في النعاج الحوامل (2.4 %) أي حدوث (91) حالة إجهاض من المجموع الكلي للإناث (3745) نعجة حامل وتراوحت بين (1.9%) إلى (3.5%) للمناطق التي شملتها الدراسة، إذ سجلت أعلى نسبة (3.5%) في منطقة تلكيف ومركز مدينة الموصل. في حين سجلت أقل نسبة للإجهاض في منطقتي بعشيقة والشمسيات إذ كانت (1.9%) وتراوحت باقي النسب بين هاتين النسبتين (الجدول 1).

بينت نتائج الدراسة بأن النسب المئوية لانتشار مرض البروسلوسز في الضأن اختلفت طبقا للمناطق المختلفة التي شملتها الدراسة وكذلك لنوع الاختبار المستخدم حيث كانت النسبة المئوية الكلية لانتشار المرض هي (15.9%) باستخدام اختبار الاليزا و(13.5 %) باستخدام اختبار وردية البنكال المحور و(11.8%) باستخدام اختبار وردية البنكال و(6.9%) و(8.2%) باستخدام اختباري التلازن الأنبوبي 2- مركبتوإيثانول على التوالي وللمناطق كافة (الجدول 2). وعند مقارنة النتائج المستحصل عليها إحصائيا تبين عدم وجود اختلاف معنوي بين اختبار وردية البنكال من جهة واختباري وردية البنكال المحور و 2- مركبتوإيثانول عند مستوى معنوية $P< 0.05$ كذلك لايوجد فرق معنوي بين اختباري التلازن الأنبوبي و 2- مركبتوإيثانول فيما بينهما إلا انه ظهر اختلاف معنوي بين اختبار الاليزا والاختبارات الأخرى عند مستوى معنوية $P< 0.05$ (الجدول 2).

الجدول (1) النسب المئوية للإجهاض في الضأن حسب المناطق التي شملتها الدراسة.

أسم المنطقة	عدد الحيوانات الكلي	عدد الإناث الحوامل	عدد الإناث المجهضة	النسبة المئوية للإجهاض
الموصل	687	401	14	% 3.5
تلعفر	740	515	13	% 2.5
الحضر	1126	712	15	% 2.1
الشيخان	694	456	10	% 2.2
الشمسيات	846	578	11	% 1.9
بعشيقة	854	598	11	% 1.9
تلكيف	776	485	17	% 3.5
المجموع	5723	3745	91	% 2.4

الجدول (2) النسب المئوية لانتشار المرض في الضأن حسب المناطق وطبقاً للاختبارات المستخدمة.

اسم المنطقة	عدد النماذج المفحوصة	عدد العينات الموجبة والنسبة المئوية للإصابة طبقا لنوع الاختبار				
		RB	MRB	SAT	2-Me	ELISA
الموصل	50	3 (% 6)	3 (% 6)	2 (% 4)	2 (% 4)	8 (%16)
تلعفر	59	5 (%8.5)	7 (%11.9)	5 (%8.5)	6 (%10.2)	5 (%8.5)
الحضر	64	6 (%9.4)	6 (%9.4)	3 (%4.7)	3 (%4.7)	8 (%12.5)
الشيخان	44	10 (%22.7)	10 (%22.7)	4 (%9)	6 (%13.6)	11 (%25)
الشمسيات	47	4 (%8.5)	5 (%10.6)	4 (%8.5)	4 (%8.5)	5 (%10.6)
بعشيقة	46	5 (%10.9)	8 (%17.4)	1 (%2.2)	2 (%4.3)	10 (%21.7)
تلكيف	54	10 (%18.5)	10 (%18.5)	6 (%11.1)	7 (%13)	11 (%20.4)
المجموع	364	43 (%11.8)	49 (%13.5)	25 (%6.9)	30 (%8.2)	58 (%15.9)

RB =اختبار وردية البنكال, MRB = اختبار وردية البنكال المحوّر,SAT= اختبار التلازن الأنبوبي, 2-Me =اختبار المركبتوإيثانول, ELISA =اختبار الإليزا

أظهرت نتائج الدراسة العلاقة بين جنس الحيوان وحالته (إناث حوامل أو مجهضة) وتواجد أضداد البروسيلا في الاختبارات المصلية المختلفة إذ إن النسبة المئوية لإصابة الذكور كانت (15.2%) باستخدام اختبار الاليزا وهي الأعلى ومن ثم اختبار وردية البنكال و اختبار وردية البنكال المحور(12.1 %) لكلا الاختبارين واختبار2- مركبتوإيثانول واختبار التلازن

الأنبوبي (4.5%) (3%) على التوالي. أما في الإناث الحوامل فكان اختبار الاليزا هو الأعلى (9.2%) ومن ثم اختبار وردية البنكال المحور واختبار وردية البنكال واختبار2- مركبتوإيثانول واختبار التلازن الأنبوبي (7.7%), (4.8%), (1.9%),(1.4%) على التوالي. وفي الإناث المجهضة فكانت نسبة الانتشار (31.7%) في اختبار الاليزا و(27.5%) لكل من اختبار وردية البنكال و اختبار وردية البنكال المحور و(25.3%) لاختبار 2- مركبتوإيثانول و(22%) لاختبار التلازن الأنبوبي.وعند مقارنة النتائج إحصائيا تبين وجود اختلافات معنوية عند مستوى 0.05 >P في المجاميع المختلفة وللاختبارات المستخدمة (الجدول 3).

الجدول (3) النسب المئوية لانتشار المرض في الضأن وفقاً لجنس الحيوان وحالته (إناث حوامل أو مجهضة) وطبقاً للاختبارات المستخدمة.

نوع الاختبار	الذكور		الإناث				
			إناث حوامل		إناث مجهضة		الكلي
	النماذج الموجبة (+ve)	النماذج السالبة (-ve)	النماذج الموجبة (+ve)	النماذج السالبة (-ve)	النماذج الموجبة (+ve)	النماذج السالبة (-ve)	النماذج الموجبة (+ve)
RB	bc 8 (%12.1)	58	bc 10 (%4.8)	197	a 25 (%27.5)	66	abc 35 (%11.7)
MRB	bc 8 (%12.1)	58	c 16 (%7.7)	191	a 25 (%27.5)	66	bc 41 (%13.8)
SAT	a 2 (%3)	64	a 3 (%1.4)	204	a 20 (%22)	71	a 23 (%7.7)
2-Me	ab 3 (%4.5)	63	ab 4 (%1.9)	203	a 23 (%25.3)	68	ab 27 (%9)
ELISA	c 10 (%15.2)	56	c 19 (%9.2)	188	a 29 (%31.7)	62	c 48 (%16.1)

الاختبارات التي يظهر بينها حرف مشترك لا تختلف معنوياً عند مستوى معنوية (P<0.05).

الجدول (4) نسب التوافق بين اختبار الإليزا والاختبارات الأخرى للعينات الموجبة في اختبار الإليزا في ذكور وإناث الضأن.

نوع العينات	عدد النماذج الموجبة بـELISA	RB	MRB	SAT	2-Me
ذكور	10	8 (% 80)	8 (% 80)	2 (% 20)	3 (% 30)
إناث مجهضة	29	25 (%86.2)	25 (%86.2)	20 (%69)	23 (%79.3)
إناث حوامل	19	10 (%52.6)	16 (%84.2)	3 (%15.8)	4 (%21)
المجموع	58 **	43 (%74.1)	49 (%84.5)	25 (%43.1)	30 (%51.7)

القيم تدل على نسبة التوافق بين نتائج اختبار الإليزا ونتائج الاختبارات المصلية الأخرى.
** تدل على وجود اختلاف معنوي (P<0.05) بين نتائج اختبار الإليزا بالمقارنة مع نتائج الاختبارات المصلية الأخرى.

أظهرت نتائج الدراسة عند مقارنة العينات التي أعطت نتائج موجبة في اختبار الإليزا مع نتائج الاختبارات المصلية الأخرى التي استخدمت في الدراسة بأن عدد العينات الموجبة لاختبار الإليزا في مصول الضأن كان (58) عينة توزعت على (10) عينات ذكور و (29) عينة لإناث مجهضة و (19) عينة لإناث حوامل وعند إجراء اختبار وردية البنكال على العينات نفسها كان عدد العينات الموجبة في هذا الاختبار (8) عينات في الذكور وبنسبة توافق (80%) و (25) عينة في الإناث المجهضة وبنسبة توافق 86.2% و (10) عينات في الإناث الحوامل وبنسبة توافق (52.6%) (الجدول 4). وعند إجراء اختبار وردية البنكال المحور على العينات الموجبة في اختبار الإليزا كان عدد العينات الموجبة في هذا الاختبار في مصول ذكور الضأن (8) عينات وبنسبة توافق (80%) في حين كان عدد العينات الموجبة في الإناث المجهضة (25) عينة وبنسبة توافق (86.2%). أما عدد العينات

الموجبة في مصول دم إناث الضأن الحوامل فقد كانت (16) عينة وبنسبة توافق (84.2%). بينما كان عدد العينات الموجبة لاختبار التلازن الأنبوبي لمصول دم ذكور الضأن عينتين وبنسبة توافق (20%) في حين وصل عدد العينات الموجبة لمصول النعاج المجهضة إلى (20) عينة وبنسبة توافق (69%) وأخيرا كان عدد العينات الموجبة لمصول النعاج الحوامل ثلاث عينات وبنسبة توافق (15.8%). وعند إجراء اختبار المركبتوإيثانول على مصول الضأن التي أعطت نتائج موجبة لاختبار الإليزا ظهر بأن عدد العينات الموجبة (30) عينة من مجموع (58) عينة توزعت على (3) عينات لمصول ذكور الضأن وبنسبة توافق (30%) و (23) عينة للنعاج المجهضة وبنسبة توافق (79.3%) و(4) عينات للنعاج الحوامل وبنسبة توافق (21%) ولوحظ وجود فرق معنوي بين اختبار الإليزا والاختبارات المصلية الأخرى عند مستوى معنوية ($P<0.05$) عند مقارنة العينات الكلية الموجبة في اختبار الإليزا مع تلك الاختبارات (الجدول 4).

المناقشة

أوضحت نتائج الدراسة إن نسبة انتشار الإجهاض اختلفت في القطعان المختلفة في المناطق التي شملتها الدراسة، وكذلك انتشار المرض بين إناث وذكور تلك القطعان.إذ تباينت نسبة انتشار المرض بين الباحثين في العراق اعتمادا على نوع الاختبارات المستخدمة في المنطقة الواحدة وكذلك اعتمادا على الموقع الجغرافي الذي أجريت فيه الدراسة وعلى حجم العينات المأخوذة ونوع العينة.بينت النتائج اختلاف بنسبة انتشار المرض وقد يعود سبب هذا التفاوت في النسب إلى الاختلاف في كثافة تربية الحيوانات وانعدام برامج السيطرة على المرض مما أدى إلى وجود بؤر موبؤة بالمرض وأخرى سليمة كذلك حرية انتقال الحيوانات المصابة والحاملة للمرض دون سيطرة ورقابة أدت إلى انتشار المرض في المناطق وبنسب متفاوتة وهذا يتفق مع ماذكر من قبل (23-25) بأن مرض البروسلوسز من الأمراض المنتشرة في الضأن في المنطقة الشمالية وباقي مناطق العراق. استخدم اختبار وردية البنكال في هذه الدراسة كاختبار مسحي وتشخيصي كونه اختباراً سهلاً وسريعاً (26،27) إذ بينت نتائجه أن نسبة الإصابة في الضأن كانت (11.8%) وهذا يختلف عما توصل إليه (28) الذين وجدوا بأن نسبة الإصابة في شمال العراق في الضأن كانت (1.1%) وكذلك تختلف مع نتائج (29) الذين ذكروا بأن نسبة الإصابة في الضأن كانت (0.93%) وهذا الاختلاف في النتائج كان يعود الى إن الدراستين السابقتين أجريتا قبل مدة طويلة قاربت 32 عاما مما يشير إلى الارتفاع الحاصل في نسبة انتشار المرض بين القطعان في المدة الممتدة بين (1974 -2005) بسبب العوامل التي ذكرت سلفا فضلا عن جهل المربيين بخطورة وسرعة انتشار المرض وعدم إتباع الطرائق الصحية في التخلص من الأجنة المجهضة والملوثات الأخرى وسهولة تنقل الحيوانات من منطقة إلى أخرى دون مراقبة وسوء التغذية وطريقة التربية وإدارة حقول الضأن وكذلك دَور الحيوانات غير المستأنسة التي تعد خزائن مهمة للمرض والتي تقوم بحمل المرض ونشره إلى مناطق عديدة إذ سهلت هذه العوامل من انتشار المرض بين تلك القطعان (30-33) كذلك تختلف عن (34) وجاء الاختلاف لكون الفرق بين الدراستين من حيث العامل الزمني كبيراً فضلاً عن استخدام الدراسة السابقة لمصول دم حيوانات ذبحت في المجزرة. ويعزى سبب اختلاف نتائج هذه الدراسة عن الدراسات السابقة إلى نوع الاختبارات المستخدمة وكذلك إلى عدد العينات المأخوذة.كما لوحظ من النتائج بان هناك فروقات معنوية في نسب الإصابة طبقا لنوع الاختبار المستخدم وأن هذا الاختلاف بين الاختبارات يعزى الى مستوى دقة وكفاءة الاختبار في الكشف عن المرض (19) كون إن هناك اختبارات بإمكانها تشخيص الطور الحاد والمزمن من المرض على حد سواء كاختبار الإليزا في حين يفشل اختبار المركبتوايثانول في تشخيص الطور الحاد من المرض، أو قد تتثبط الكلوبيولينات المناعية عند استخدام المضادات الحيوية ومن ثَمَّ تظهر نتائج سلبية كاذبة كما إن وجود تفاعلات تصالبية نتيجة الإصابة بجراثيم أخرى أو نتيجة وجود ملزنات جرثومية غير نوعية إذ يؤدي الى ظهور نتائج ايجابية كاذبة (35) وتعد جرثومة *Yersinia enterocolitica* O:9 المسبب الرئيس لظهور حالات موجبة كاذبة لنتائج الاختبارات المصلية (36). كما بينت النتائج أن نسبة انتشار المرض في الإناث هي الأعلى بالمقارنة مع الذكور وهذا يعود الى أن نظام تربية الضأن المتبعة والمتمثلة في تحديد نسبة معيّنة للذكور إلى الإناث والتي دائما تكون الإناث هي الأكثر فضلا عن أن مستوى سكر الاريثريتول في الرحم (لاسيما الرحم الحامل) الذي يلعب دوراً مهماً كعامل مؤهب لتكاثر جراثيم البروسيلا وحدوث الإجهاض يكون أعلى في الإناث مقارنة مع ما موجود في الجهاز التناسلي الذكري (37). وعند مقارنة نتائج الاختبارات المستخدمة في الدراسة (اختبار وردية البنكال واختبار وردية البنكال المحور واختبار التلازن الأنبوبي واختبار المركبتوايثانول) مع نتائج اختبار الإليزا نلاحظ أن اختبار الإليزا قد تفوق على الاختبارات سالفة الذكر في التشخيص مع وجود فرق معنوي بين اختبار الإليزا وهذه الاختبارات، وأن هذا الاختلاف في النتائج يعزى إلى ما يتميز به اختبار الإليزا من دقة وكفاءة عاليتين فضلا عن إمكانيته في تشخيص أنواع الكلوبيولينات المناعية جميعاً في المصل (38،39) إذ أشار (4) إلى أن اختبار الإليزا من الاختبارات التي يعتمد عليها في تشخيص مرض البروسلوسز وهو من الاختبارات التأكيدية وأضاف بأن اختبار وردية البنكال هو من الاختبارات النوعية فقط ولهذا فالنتائج الموجبة في هذا الاختبار يجب أن تؤكد باختبار تثبيت المتمم أو اختبار الإليزا.كما لوحظ بأن هناك اختلاف بنسب التوافق بين اختبار الإليزا والاختبارات المصلية الأخرى بسبب دقة وكفاءة الاختبارات تجاه الكلوبيولينات المناعية المسؤولة عن المناعة في جسم الحيوان وأن مستوى ظهور الكلوبيولينات المناعية يتباين اعتماداً على مدة الإصابة أو شكل المرض كونه

حاداً أو مزمناً ومن ثَمَّ يؤدي إلى تباين في نتائج الاختبارات المصلية التي تعتمد على مستوى الكلوبيونيات المناعية في جسم الحيوان (40) وهذا يتفق مع ما ذكره (42،41) من أن الاختبارات المعتمدة على مركب متعدد السكريد الشحمي S-Lps أو ما يعرف بسلسلة - O (O-chain) كمستضد في تشخيص الأجسام المضادة كاختبار الإليزا تمتلك كفاءة أكبر في التشخيص.كما تتفق نتائج هذة الدراسة مع الدراستين (44،43) واللتان أظهرا بان اختبار الإليزا كان من أفضل الاختبارات المصلية المستخدمة في بحوثهم بالمقارنة مع بعض الاختبارات المصلية.

شكر وتقدير

يشكر الباحثان عمادة كلية الطب البيطري لما قدمته من تسهيلات ودعم لانجاز البحث.

المصادر

1. Refai M. Incidence and control of brucellosis in the Mear East region.Vet Microbiol 2002; 20: 81-110.
2. Ficht TA.Intracellular survival of brucella defining the link with persistence. Vet Microbiol 2003; 92: 213-223.
3. Gorvel J P, and Moreno E. Brucella intracellular life from invasion to Intracellular replication. Vet Microbiol 2002; 90: 281-97.
4. Quinn P J, Markey B K, Carter M E, Donnelly WJC , and Leonard FC. Veterinary Microbiology and Microbial Disease. 1st ed.Blackwell Science Ltd., London.2002; p. 163-167.
5. Adams LG. The pathology of brucellosis reflects the outcome of the battle Between the host genome and the brucella genome. Vet Microbiol 2002; 90(1-4): 553-561.
6. Young E J. An overview of human brucellosis. Clin Infect Dis 1995; 21: 283-289.
7. Garrido F, Duran M, Macmillan A, Minas A, Nicoletti P, and Vecchi G. Brucellosis in sheep and goats (Br. melitensis). European commission, Report of Scientific committee on animal health and animal welfare 2001.
8. Yagupsky P. Detection of Brucellae in blood culture. J Clin Microbiol 1999; 37: 3437-3442.
9. Ariza J. Brucellosis. Curr Opin Infect Dis 1996; 9: 126-131.
10. Mccullough. The application of biotechnology to the diagnosis and control of animal diseases. Rev Sci Tech Off Int Epiz 1993;12: 325-353.
11. Wright PF, Nielsen E, Vanroij E M A, Lelenta M, and Jeggo M H. Standardization and validation of enzyme-linked immunosorbent assay techniques for the detection of antibody in infectious disease diagnosis. Rev Sci Tech Off Int Epiz 1993; 12: 435-450.
12. Garin-Bastuji B, Blasco J M, Grayon M, and Verger JM. Brucella melitensis infection in sheep present and future. Vet Res 1998; 29: 255-274.
13. Samartino L,Gall D, Gregoret R, and Nielsen K.Validation of enzyme-linked immuno-sorbent assays for the diagnosis of bovine brucellosis. Vet Microbiol 1999; 70: 193-200.
14. Lucero NE, Escobar G L, Ayala S M, and Lopez G. Sensitivity and specificity of an indirect enzyme-linked immunoassay for the diagnosis of Brucella canis infection in dogs. J Med Microbiol 2002; 51: 656-660.
15. Cloeckaert A, Baucheron S, Vizcaino N, and Zybmunt MS. Use of recombinant BP26 protein in serological diagnosis of Brucella melitensis infection in sheep. Clin Diag Lab Immunol 2001; 8: 772-775.
16. Diaz-Aparicio E, Marin C, Alonso B, Aragon V, Perez S, Pardo M, Blasco J M, Diaz R, and Moriyon I.. Evaluation of serological tests for diagnosis of Br. melitensis infection of goats. J Clin Microbiol 1994;32: 1159-1165.
17. Blasco J M, Marin C M, Jimenez de Bagues M P, Barberan M, Hernandez A, Molina L, Velasco J, Diaz R, and Moriyon I..Evaluation of allergic and serological tests for diagnosis of Brucella melitensis in sheep. J Clin Microbiol 1994b; 32: 1835-1840.
18. Jimenes De Bagues M P, Marin C, Blasco J M, Moriyon I., Gamazo C. An ELISA with Brucella lipopolysaccharide antigen for the diagnosis of Br. melitensis infection in sheep and for the evaluation of serological responses following subcutaneous or conjuntival Br. melitensis strain. Rev. 1 vaccination. Vet Microbiol 1992; 30: 233-241.
19. Alton GG, Jones LM, Angus RD, and Verger JM. Techniques for the brucellosis laboratory 1988; INRA, Paris.
20. Alton GG, Jones L M, and Pietz DE. Laboratory techniques in 2nd ed. World Health Organization 1975; Geneva.
21. Blasco JM,Garin-Bastuji B, Marin CM,Gerbier G, Fanlo J, Jimenez de Nagues MP, and Cau C. Efficacy of different rose bengal and complement of fixation antigens for the diagnosis of Brucella melitensis in sheep and goats. Vet Rec 1994a; 134: 415-420.
٢٢. الراوي ,خاشع محمود. المدخل إلى الإحصاء, دار الكتب للطباعة والنشر, جامعة الموصل, الموصل, العراق, (1984)..
23. Al-Izzi SA, and Barhoom S S. Prevalence of brucellosis among sheep and goat in Baghdad, Iraq. Iraqi J Vet Sci 1988; 1(1-2): 108-115.
24. Al-Izzi SA, and Al-Bassam LS, and Al-Delaimi A K A. study on ovine brucellosis in Baghdad. Iraqi J Vet Med 1985; 9: 19-27.
25. Salem A A, Al-Khayyat A A, and Aziz T. Studies on brucellosis of goats in Baghdad, Iraq. Iraqi J Vet Med 1977; 1: 73-87.
26. Garin-Bastuji B, Blasco J M. Caprine and ovine brucellosis (excluding Br. ovis infection). In: Manual of standards for diagnostic tests and vaccines. 3rd ed. 1996, OIE, Paris 1997; 350-368.
27. Hadad J J, and Al-azawy Z S. Incidence of brucellosis in sheep and goats in Ninevah Province. Iraqi J Vet Sci 1990; 4(1): 27-33.
28. Mathur PB, El-Dessouky E I., Karim MA, Mohamed A K, and Ayoud M A. Preliminary survey of brucellosis in cattle, sheep and goat in Northern Iraq. Technical report 1974; No (6). UNDP/FAO.
29. Karim M A, Penjouian E K, and Dessouky F I. The prevalence of brucellosis among sheep and goat in northern Iraq. Anim Health Prod 1979; 11: 186-188.
30. Godfroid J. Brucellosis in Wildlife. Rev Sci Tech 2002; 21: 277-286.
31. Kabagambe E K, Elzer PH, Geaghan JP, Opuda-Asibo J, Scholl DT, and Miller JE. Risk factor for brucella seropositivity in goat herds in Eastern and Western Uganda. Pre Vet Med 2001; 52: 91-108.
32. Omer MK, Skjerva E, Woldehiwet Z, and Holstad G. Risk factors for Brucella spp. infection in dairy cattle farms in Asmara State of Eritrea. Prev Vet Med 2000; 46: 257-265.
33. Kadohira M, McDermott J J, Shouki M M, and Kyule MN. Variations. in the prevalence of antibody to brucella infection in cattle by farm area and district in Kenya. Epidemiol Infect 1997;118: 35-41.
34. Al-Dahash S Y, Hadad J J, and Azawi A I. Incidence of brucellosis in sheep in Ninevah. Iraqi J Vet Sci 1989 ;1: 75-82.
35. Thrusfield M. Veterinary epidemiology. Butterworths. London. 1986; pp. 179-184.
36. Gerbier G, Garin-Bastuji B, Pouillot R, Very P, Cau C, Berr V, Dufour B, and 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.
37. Charanjeet M S, Katoch R C, Prasenjeet D, and Rajinder K. Application of RBPT, AST 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.
38. Quinn P J, Carter M E, Markey B, and Carter GR. Clinical Veterinary Microbiology. 1st ed. Elservier Ltd. London 1999; pp: 78-79.

39. Nielsen K H, Wright PF, Kelly WA, and Cherwonogrodzky J H.A review of enzyme immunoassay for detection of antibody to Brucella abortus in cattle. Vet Immunol Immunopath 1988; 18: 331-347.
40. Wilson J D, and Braunwald E, Harrisons principles of international medicine Vol 1 12th ed. Mc Graw Hill Inc 1991; pp: 625- 626.
41. Nielsen K. Diagnosis of Brucellosis by Serology. Vet Microbiol 2002; 90: 447-459.
42. Abalos P, Daffner J, and Pinochet L. Evaluation of three Brucella soluble antigens used in an indirect ELISA to discriminate S19 vaccinated from naturally infected cattle. Vet Microbiol 2000; 71 (1-2): 161-167.
43. Abuharfeil N, and Abo-Shehada M N. A comparison between three serological tests for Brucella melitensis infection in sheep. Tr J Vet Anim Sci 1998; 22: 119-122.
44. Hornitzky M, and Searson J. The relationship between the isolation of Brucella abortus and serological status of infected non- vaccinated cattle. Aust Vet J 1986; 63: 172-174.