المجلة العراقية للعلوم البيطرية، المجلد ٢٣، عدد إضافي ١، ٢٠٠٩ (١٤٩-١٥٤)
وقائع المؤتمر العلمي الخامس، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل

تأثير لقاح البروسيلا المالطية (العترة Rev.1) في معايير الأضداد وتداخلها مع الاختبارات المصلية في النعاج

عمر خزعل الحنكاوي

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

الخلاصة

استهدفت الدراسة تقييم طريقتين لإعطاء لقاح الجراثيم المالطية العترة Rev.1 وهما الحقن تحت الجلد، والتقطير في ملتحمة العين وبكلا الجرعتين القياسية 1-2×10^9 CFU وحدة مكونة للمستعمرات والمخفضة 1×10^7 CFU من حيث مستوى الأضداد الناتجة عنهما ومدى تداخلها بنتائج الاختبارات المصلية. أجريت الدراسة على (٢٠) نعجة محليه تراوحت أعمارها بين ١,٥-٤ سنوات إذ قسمت الحيوانات إلى أربعة مجاميع متساوية وتم اخذ عينات من الدم قبل التلقيح للتأكد من خلوها من الأضداد الخاصة بمرض البروسلوسز ثم حقن اللقاح وتم جمع عينات من الدم خلال الشهر الأول والثاني والثالث والرابع والخامس والسادس بعد التلقيح. بينت النتائج إن حقن اللقاح تحت الجلد وبجرعة 1-2×10^9 CFU سببت تداخلا بنتائج الاختبارات المصلية المستخدمة (اختبار وردية البنكال، اختبار الاليزا غير المباشر,اختبار الاليزا التنافسي) حيث أظهرت الاختبارات نتائج موجبه لكافة العينات طيلة مدة الدراسة في حين انخفض التداخل بنتائج الاختبارات عند اعطاء اللقاح بالجرعة المخفضه.أظهرت نتائج اعطاء اللقاح بالتقطير في ملتحمة العين انخفاضا في التداخل مع نتائج الاختبارات المصلية خاصة عند حقنة بالجرعة المخفضة بالمقارنة عند إعطائه بالحقن تحت الجلد.كما بينت النتائج ان نوعية اختبار الاليزا التنافسي كانت ١١,١١٪ و٦٦,٦٦٪ عند اعطاء اللقاح تحت الجلد وبالجرعتين القياسية والمخفضة على التوالي في حين كانت نوعية اختبار الاليزا غير المباشر صفر.أما عند اعطاء اللقاح بالتقطير في ملتحمة العين وبالجرعتين القياسية والمخفضة كانت نوعية اختباري الاليزا التنافسي والغير المباشر ٨٧,٥٪ و٩٣,٣٣٪ وصفر و٦٠٪ على التوالي. كما لوحظ من النتائج أيضا إن اعطاء اللقاح تحت الجلد وبالجرعة القياسية كان الأفضل من حيث معيار الأضداد المتولدة ومدة بقائها بالمقارنة مع إعطائه عن طريق التقطير في ملتحمة العين وبالجرعة نفسها.

Effect of *Br. melitensis* strain vaccine (Rev.1) in titers of antibodies and interference with serological tests in ewes

O. Kh. Al-Hankawe

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

Abstract

The study was conducted for evaluation of two routes of administration of Br. melitensis strain Rev.1 vaccine include subcutaneous injection and conjunctival dropping with two doses standard dose (1-2×10^9 colony forming units CFU) and reduced dose (1×10^7 CFU), in the production of antibodies titers and its interference with serological tests. The study was included (20) of native ewes with Ages between 1.5-4 years, divided into four equal groups blood samples was collected prevaccination to ensure from Brucella antibodies free. Then vaccine administered and blood samples were collected during 1st, 2nd, 3rd, 4th, 5th and 6th months postvaccination. The results revealed that injection of vaccine via s/c route with 1-2×10^9CFU dose causing interference with serological tests used (Rose Bengal, indirect ELISA and competitive ELISA tests) they showed positive results of all samples during the period of study whereas the interference with results of serological tests reduced when the vaccine administered in reduced dose, the results of vaccine administration via conjunctival route showed reduction in interference with results of used serological tests especially when administered in reduced dose in comparison with administered via s/c route the results showed that specificity of c-ELISA test was 11,11% and 66,66% when vaccine

administered via s/c route with two doses standard and reduced respectively, while the specificity of i-ELISA was zero, whereas the administration of vaccine via conjunctival route with standard and reduced doses the specificity of c-ELISA and i-ELISA was 87.5% and 93.33%, zero, and 60% respectively. The results also showed that vaccine administered via s/c route with standard dose was the better in which the resulting antibody titers and its duration in comparison with administration via conjunctival route with same dose.

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

المقدمة

يعد مرض البروسلوسز من الأمراض المهمة الذي لايمكن السيطرة عليه بسهولة لاسيما في المناطق الموبؤة بالمرض كدول البحر المتوسط والشرق الأوسط وأفريقيا وأمريكا اللاتينية وجزء من أسيا (١) و تعد جراثيم *Brucella melitensis* المسبب الرئيسي للمرض في الضأن (٣،٢) تتخذ طرق عديدة للسيطرة على المرض ومنها التمنيع حيث يستخدم لاختزال نسبة الإصابة في القطيع فضلا عن زيادة مقاومة الحيوان للإصابة وتقليل التلوث البيئي بالمسبب المرضي (٤) ويعد لقاح Rev.1 من أكثر اللقاحات استخداما في السيطرة على المرض في الضأن والمعز(٥) ويحضر هذا اللقاح من جراثيم البروسيلا نوع *Br.melitensis* النمط الأول ويعطى اللقاح بطريقتين الأولى تحت الجلد حيث تولد أضداد طويلة الأمد والتي يمكن إن تتداخل مع الاختبارات المصلية ولاسيما أثناء حملات السيطرة والثانية عن طريق ملتحمة العين إذ تولد أضداد مماثلة لما يولدها اللقاح عند اعطائه تحت الجلد فضلا عن إن هذة الطريقة لاتتدتخل مع الاختبارات المصلية أثناء حملات السيطرة ومن ثم تسهل إجراء التلقيح مع إجراء برامج السيطرة على المرض معا (٧،٦) تختلف الاختبارات المصلية فيما بينها من حيث كفاءتها في التمييز بين الأضداد الناتجة عن الإصابة الطبيعية عن تلك الناتجة من اللقاح ومن هذه الاختبارات اختبار الاليزا الذي طور لحل كثير من مشاكل الاختبارات المصلية التقليدية كاختبار وردية البنكال واختبار التلازن الأنبوبي واختبار تثبيت المتمم (٩،٨) حيث يمتلك اختبار الاليزا غير المباشر (الذي يستخدم مستخلص متعدد السكريد الشحمي الأملس Smooth Lipopoly saccharideكمستضد لتشخيص الأجسام المضادة) كفاءة عالية فضلا عن إمكانيته في التفريق بين الحيوانات الملقحة بلقاح Rev.1 عن المصابة طبيعيا (١٠-١٢) في حين أشار (١٣) الى أن اختبار الاليزا التنافسي والذي يستخدم أضداد خاصة أحادية النسل specific monoclonal antibodies الى امتلاكة دقة عالية فضلاعن امكانيتة في تميز التفاعل المصلي الموجب الناتج من اللقاح عن الحالات الموجبة الناجمة من جراء الإصابة الطبيعية كما انه من الاختبارات التأكيدية للمرض لما يمتلكه من دقة وكفاءة عاليتين (١٤) وبناءا على ماذكر في أعلاه وضعت هذه الدراسة لتحقيق الأهداف الآتية. إيجاد مدى الاختلاف بمعايير الأضداد المتولدة ومدى تداخلها بنتائج الاختبارات المصلية عند حقن لقاح Rev.1 في النعاج بطريقتين وجرعتين مختلفتين مع المقارنة بين اختباري الاليزا غير المباشر والتنافسي من حيث النوعيةSpecificity(بأنها نسبة الحيوانات الملقحة والتي تعطي نتائج سالبة للاختبار المصلي).

المواد وطرائق العمل

استخدمت (٢٠) نعجة محلية في حقل كلية الزراعة والغابات/قسم الثروة الحيوانية تراوحت أعمارها ١،٥-٤ سنوات إذ قسمت الحيوانات الى أربعة مجاميع متساوية وتم اخذ عينات من الدم لغرض إجراء الاختبارات المصلية عليها (اختبار وردية البنكال والذي تم اجراءة حسب تعليمات الشركة المنتجة GOKHAN-تركيا، واختباري الاليزا غير المباشر والاليزا التنافسي والذي تم إجراءهما حسب تعليمات الشركة المنتجة SVANOVA-السويد) للتأكد من خلوها من الأضداد الخاصة بمرض البروسلوسز بعد ذلك خفف اللقاح حسب تعليمات الشركة المجهزة (شركة CZveterinaria الاسبانية) للحصول على الجرعة القياسية الكاملة $10^9\times2$-1 CFU كما تم تحضير الجرعة المخفضة من اللقاح $10^7\times1$ CFU بوضع ١مليلتر ذو التخفيف $10^9\times2$-1 CFU في ٩٩ مليلتر من محلول الملح الفسلجي. كما استخدمت في الدراسة طريقتين لإعطاء اللقاح وهما الحقن تحت الجلد وبحجم ١مليلتر وبجرعتين $10^9\times2$-1 CFU للمجموعة الأولى و $10^7\times1$ CFU للمجموعة الثانية حسب طريقتي (١٧،١٦) على التوالي.والطريقة الأخرى التقطير في ملتحمة العين بقطرة واحدة بحجم ٣٣ مايكروليتر وبجرعتين $10^9\times2$-1 CFU للمجموعة الثالثة $10^7\times1$ CFU للمجموعة الرابعة حسب طريقتي (١٩،١٨) على التوالي، بعد ذلك جمعت عينات الدم من الحيوانات الملقحة من المجاميع كافة خلال الأشهر١ و ٢ و ٣ و ٤ و ٥ و ٦ بعد التلقيح وذلك لإجراء الاختبارات المصلية عليها فضلا عن إيجاد معيار الأضداد المتكونة باستخدام اختبار التلازن الأنبوبي والذي تم اجراءة طبقا لطريقة (١٥).

النتائج

أظهرت نتائج الدراسة إن هناك اختلاف ما بين الاختبارات المصلية المستخدمة في مدى قابليتها في الكشف عن الأضداد الناتجة عن اللقاح عند إعطاءه في الحقن بطريقة تحت الجلد

وبجرعة ١×10^9 CFU حيث اعطي اختباري وردية البنكال والاليزا التنافسي خلال الخمسة الأشهر الأولى بعد اللقاح نتائج موجبة لحيوانات المجموعة كافة في حين كانت ثلاث حيوانات موجبة فقط في الشهر السادس من الدراسة لاختبار وردية البنكال وحالتين موجبة فقط لاختبار الاليزا التنافسي في الشهر نفسه في حين أعطى اختبار الاليزا غير المباشر نتائج موجبة لكافة الحيوانات الملقحة طيلة مدة الدراسة (الجدول ١).

أظهر اختبار الاليزا التنافسي ثلاث عينات موجبة وعينتين سالبتين في الحيوانات الملقحة بالجرعة المخفضة ١ × 10^7 CFU عن طريق الحقن تحت الجلد، في حين اظهر اختباري الاليزا غير المباشر ووردية البنكال نتائج موجبة للعينات كافة طيلة فترة الدراسة ماعدا الشهر السادس حيث كانت أربعة عينات موجبة وأخرى سالبة باختبار وردية البنكال (الجدول ٢).

بينت نتائج الدراسة وجود تباين واضح في نتائج الاختبارات المستخدمة في الكشف عن الأضداد المتولدة نتيجة التلقيح بالتقطير في ملتحمة العين إذ اظهر اختبار الاليزا التنافسي عينتين موجبتين وثلاث عينات سالبة في الشهر الأول بعد التلقيح بالجرعة ١ × 10^7 CFU في حين لم يكشف هذا الاختبار عن أي عينة موجبة بعد الشهر الثاني الى الشهر السادس (جدول ٣). في حين اظهر هذا الاختبار في الحيوانات المحقونة بالجرعة ١ × 10^9 CFU وبنفس طريقة التلقيح خمسة عينات موجبة في الشهر الأول وثلاثة في الشهر الثاني واثنتين في الأشهر الثالث والرابع والخامس والسادس (الجدول ٣) أما اختبار الاليزا غير المباشر اظهر خمس عينات موجبة في الحيوانات الملقحة بالجرعة ١ × 10^9 CFU وابتداء من الشهر الأول وحتى الشهر السادس بينما كانت عينتين موجبة وثلاث عينات سالبة بالحيوانات المحقونة بالجرعة ١ × 10^7 CFU وطيلة مدة الدراسة. بينما أعطي اختبار وردية البنكال خمس عينات موجبة عند تلقيح الحيوانات بالجرعة ١× 10^9 CFU وثلاث عينات موجبة في الحيوانات بالجرعة ١ × 10^7 CFU في الشهر الأول والثاني وأربع عينات موجبة للحيوانات الملقحة بالجرعة ١ × 10^9 CFU وثلاث عينات موجبة للحيوانات الملقحة بالجرعة ١× 10^7 CFU في الشهر الثالث في حين اعطي أربع عينات موجبة للحيوانات الملقحة بالجرعة ١ × 10^9 CFU وعينتين موجبة للحيوانات الملقحة بالجرعة ١ × 10^7 CFU في الشهر الرابع وعينتين موجبة للحيوانات الملقحة بالجرعة ١ × 10^9 CFU بينما لم تظهر أي حالة موجبة بجرعة ١ × 10^7 CFU في الشهر الخامس في حين لم يعطي الاختبار أي نتيجة موجبة في الشهر السادس وبالجرعتين ١× 10^9 و ١×10^7 CFU على التوالي (الجدول ٣).

كما لوحظ إن الاختلاف بنتائج اختباري الاليزا التنافسي والاليزا غير المباشر المستخدمان في مجموعات الضأن الممنعة بلقاح Rev.1 تبعا لجرعة وطريقة حقن اللقاح انعكس هذا على نوعية الاختبارين في نهاية التجربة حيت اظهر اختبار الاليزا التنافسي نوعية عالية خاصة في المجموعة الرابعة لتصل الى ٩٣,٣٣٪ في حين كانت ١١,١١٪ في المجموعة الأولى أما اختبار الاليزا غير المباشر فكانت نوعيته صفر في المجموعات الأولى والثانية والثالثة في حين كانت ٦٠٪ في المجموعة الرابعة (الجدول ٤).

الجدول (١): الاختلاف مابين الاختبارات المصلية في الكشف عن أضداد اللقاح عند اعطاءة بالجرعة القياسية ١ × 10^9 CFU عن طريق الحقن تحت الجلد.

المدة بعد اللقاح	اختبار وردية البنكال		اختبار الاليزا غير المباشر		اختبار الاليزا التنافسي	
(الأشهر)	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات الموجبة	العينات السالبة
١	٥	-	٥	-	٥	-
٢	٥	-	٥	-	٥	-
٣	٥	-	٥	-	٥	-
٤	٥	-	٥	-	٥	-
٥	٥	-	٥	-	٥	-
٦	٣	٢	٥	-	٢	٣

الجدول (٢): الاختلاف مابين الاختبارات المصلية في الكشف عن أضداد اللقاح عند إعطاءه بجرعة ١ × 10^7 CFU عن طريق الحقن تحت الجلد.

المدة بعد اللقاح (الأشهر)	اختبار وردية البنكال		اختبار الاليزا غير المباشر		اختبار الاليزا التنافسي	
	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات الموجبة	العينات السالبة	العينات الموجبة	العينات السالبة
١	٥	-	٥	-	٣	٢
٢	٥	-	٥	-	٣	٢
٣	٥	-	٥	-	٣	٢
٤	٥	-	٥	-	٣	٢
٥	٥	-	٥	-	٣	٢
٦	٤	١	٥	-	٣	٢

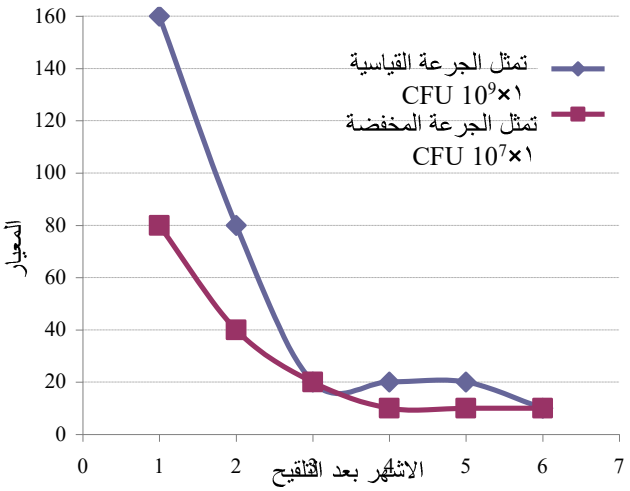
الجدول (٣): الاختلاف في نتائج الاختبارات المصلية في الكشف عن الأضداد المتولدة عند التلقيح بطريقة التقطير في ملتحمة العين وبكلا الجرعتين ١× 10^9 و ١×10^7 CFU.

المدة الأشهر		اختبار وردية البنكال		اختبار الاليزا غير المباشر		اختبار الاليزا التنافسي	
		١×10^9 CFU	١×10^7 CFU	١×10^9 CFU	١×10^7 CFU	١×10^9 CFU	١×10^7 CFU
١	عدد العينات الموجبة	٥	٣	٥	٢	٥	٢
	عدد العينات السالبة	-	٢	-	٣	-	٣
٢	عدد العينات الموجبة	٥	٣	٥	٢	٣	-
	عدد العينات السالبة	-	٢	-	٣	٢	٥
٣	عدد العينات الموجبة	٤	٣	٥	٢	٢	-
	عدد العينات السالبة	١	٢	-	٣	٣	٥
٤	عدد العينات الموجبة	٤	٢	٥	٢	٢	-
	عدد العينات السالبة	١	٣	-	٣	٣	٥
٥	عدد العينات الموجبة	٢	-	٥	٢	٢	-
	عدد العينات السالبة	٣	٥	-	٣	٣	٥
٦	عدد العينات الموجبة	-	-	٥	٢	٢	-
	عدد العينات السالبة	٥	٥	-	٣	٣	٥

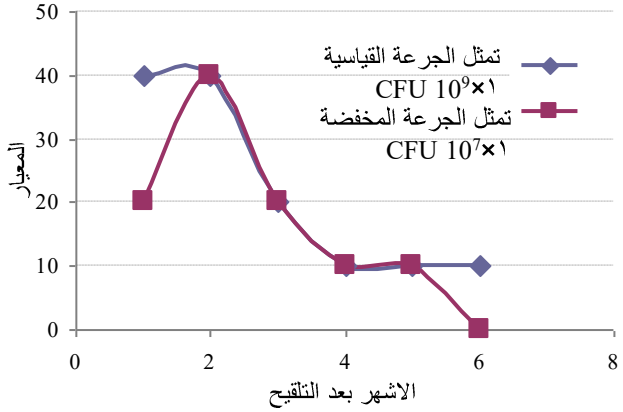
الجدول (٤): النسب المئوية لنوعية اختباري الاليزا غير المباشر والاليزا التنافسي لمجاميع الدراسة بعد ستة أشهر من إعطاء اللقاح.

المجموعة	اختبار الاليزا غير المباشر	اختبار الاليزا التنافسي
الأولى (الملقحة بالجرعة ١× 10^9 CFU تحت الجلد)	صفر	٪١١,١١
الثانية (الملقحة بالجرعة ١ × 10^7 CFU تحت الجلد)	صفر	٪٦٦,٦٦
الثالثة (الملقحة بالجرعة١ × 10^9 CFU بالتقطير في ملتحمة العين)	صفر	٪٨٧,٥
الرابعة (الملقحة بالجرعة ١ × 10^7 CFU بالتقطير في ملتحمة العين)	٪٦٠	٪٩٣,٣٣

كما لوحظ من النتائج أيضا إن جرعة اللقاح وطريقة إعطاءه انعكست على معيار الأضداد حيث كان المعيار ١٦٠/١ الأعلى والذي ظهر في الشهر الأول من اعطاء اللقاح عن طريق الحقن تحت الجلد وبجرعة ١×10^9 CFU بالمقارنة مع نفس الجرعة والجرعة المخفضة منه عند إعطاءه بالحقن تحت الجلد والتقطير في ملتحمة العين وان هذا المعيار والمعايير الأخرى التي أظهرتها حيوانات الدراسة بدأت بالانخفاض لتصل الى ١٠/١ في نهاية التجربة وفي كافة مجاميع الدراسة (الشكلان ١ و ٢).



الشكل (١): معايير أضداد لقاح *Br.melitensis* Rev.1 عند حقنة تحت الجلد وبكلا الجرعتين القياسية والمخفضة.



الشكل (٢): معايير أضداد اللقاح عند إعطاءه بالتقطير في ملتحمة العين وبالجرعتين القياسية والمخفضة.

المناقشة

استهدفت الدراسة تقييم طريقتين لإعطاء لقاح Rev.1 وهما الحقن تحت الجلد والتقطير في ملتحمة العين وبالجرعتين القياسية 10^9×2-1 CFU والمخفضة 10^7×1 CFU من حيث مستوى الأضداد المتولدة عنهما ومدى تداخلها بنتائج الاختبارات المصلية المستخدمة ومدة بقائها في الجسم كما أوضحت الدراسة مقارنة اختباري الاليزا التنافسي والغير المباشر من حيث النوعية مع إيجاد مدى الاختلاف بمعاير الأضداد المتولدة من اللقاح عند اعطاءة بطريقتين وجرعتين مختلفتين. أظهرت النتائج عند اعطاء اللقاح تحت الجلد وبالجرعتين القياسية والمخفضة سبب تداخلا واضحا بنتائج الاختبارات المصلية (اختبار وردية البنكال واختبار الاليزا غير المباشر واختبار الاليزا التنافسي) حيث أظهرت الاختبارات نتائج موجبة لكافة العينات طيلة فترة الدراسة في حين انخفض هذا التداخل بنتائج الاختبارات المصلية عند اعطاء اللقاح بالتقطير في ملتحمة العين وخاصة عند استخدام الجرعة المخفضة حيث اظهر اختبار الاليزا التنافسي نتائج سالبة للحيوانات الملقحة بعد الشهر الأول والى نهاية التجربة وهذا يتفق مع ماتوصل إلية (٢٠) في دراسته التي أجراها في الضأن حيث لاحظ إن اختبار وردية البنكال قد اظهر نتائج موجبة للحيوانات الملقحة بطريقة الحقن تحت الجلد وبالجرعتين القياسية والمخفضة خلال الخمسة الأشهر الأولى بعد اللقاح في حين انخفضت نسبة النتائج الموجبة باختباري وردية البنكال والاليزا التنافسي في الحيوانات الملقحة بطريقة التقطير في ملتحمة العين وبالجرعتين المستخدمتين.كما لوحظ من النتائج إن اختبار الاليزا غير المباشر اظهر نتائج موجبة لكافة الحيوانات الملقحة بطريقتين وجرعتين مختلفتين طيلة فترة الدراسة وهذا يتفق مع ما ذكره (١٨) بدراسته التي أجراها في الضأن والحملان الملقحة بلقاح Rev.1 حيث أصبحت موجبة لاختباري وردية البنكال والاليزا التنافسي خلال الشهرالاول بعد التلقيح عن طريق ملتحمة العين وبالجرعة القياسية في حين اختلفت الدراسة مع ما ذكره (١٨) بأن الحيوانات لم تظهر النتيجة الموجبة لاختبار الاليزا غير المباشر إلا بعد ٤٢ يوما من التلقيح إذ بينت نتائج الدراسة إن اختبار الاليزا غير المباشر اظهر نتائج موجبة بعد ١٤ يوما من التلقيح.كما لوحظ من النتائج إن معظم الحيوانات الملقحة موجبة باختبار وردية البنكال بعد مرور ٤-٦ أشهر من التلقيح وبطريقتين وبجرعتين مختلفتين وهذا يختلف عما توصل إلية (١٩,٢١) إن معظم الحيوانات الملقحة بلقاح Rev.1 تصبح سالبة لاختبار وردية البنكال بعد مرور ٤-٦ أشهر من التلقيح بطريقتين وجرعتين مختلفتين وقد يعود سبب النتائج الموجبة التي أظهرها اختبار وردية البنكال كون إن لقاح Rev.1 يحفز على إنتاج الأضداد الخاصة لسلسلة O-لمتعدد السكريد الشحمي والتي تماثل الأضداد الناتجة عن الإصابة بجراثيم البروسيلا مما يزيد من مشكلة التداخل مع نتائج الاختبارات المصلية المستخدمة في تشخيص مرض البروسلوسز كاختبار وردية البنكال (٢٣,٢٢). وقد أظهرت النتائج وجود تباين مابين اختباري الاليزا غير المباشر والتنافسي مما انعكس على نوعية الاختبارين حيث اظهر اختبار الاليزا التنافسي نوعية عالية بالمقارنة مع الاليزا غير المباشر التي كانت صفر في المجموعة الملقحة تحت الجلد وبالجرعتين وبالجرعة القياسية عند اعطاءة في ملتحمة العين وقد يعود السبب في قلة نوعية اختبار الاليزا غير المباشر نتيجة لتداخل الأضداد الناتجة من اللقاح بنتائجه مما يجعله ذو حساسية عالية ولكن فاقد للنوعية (١٣) وان النوعية العالية لاختبار الاليزا التنافسي قد تعزى الى ما ذكره (٢٤) إن النوعية العالية لاختبار الاليزا التنافسي كونه يستخدم أضداد أحادية النسل مقارنة بالاختبارات المصلية

الأخرى وتتفق نتائج هذة الدراسة مع ماتوصل إلية (٢٤) حيث ذكر بأن على الرغم من إن اختبار الاليزا التنافسي يفتقد للحساسية العالية مقارنة مع اختبار الاليزا غير المباشر ولكن هو الأكثر نوعية. كما لوحظ من النتائج أيضا إن اعطاء اللقاح تحت الجلد وبالجرعة القياسية كان الأفضل من حيث معيار الأضداد المتولدة ومدة بقائها بالمقارنة مع اعطائه عن طريق ملتحمة العين وبالجرعة نفسها وهذا يتفق مع ماتوصل إلية (٢٠) في دراسته بأن أعلى معيار كان في المجموعة الملقحة تحت الجلد وبالجرعة القياسية مقارنة مع باقي المجاميع التي شملتها دراسته.كما تتفق هذة الدراسة مع ماذكرة (٢٥-٢٧) بأن معيار الأضداد يكون قليل في الضأن الملقحة بالتقطير في ملتحمة العين مقارنة مع تلقيحها بالحقن تحت الجلد وبالجرعة القياسية وان التلقيح بالطريقتين وبالجرعة المخفضة يعطي معيار للأضداد اقل ويبقى لمدة زمنية قليلة من ذلك المتكون من الجرعة القياسية.

شكر وتقدير

يشكر الباحث 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. Zowghi E, Ebadi A. Abortion due to *Brucella abortus* in sheep in Iran. Rev Sci Tech Off Int Epiz. 1988;7:379-382
3. Aldomy F M, Jahans K L, Altarazi Y H, Isolation of *Brucella melitensis* from aborting ruminants in Jordon. J Comp Pathol. 1992;107:239-242.
4. Nicoletti P. The eradication of brucellosis in Animals. Saudi Med J.1993;14:288-292
5. Minas A. Control and eradication of brucellosis in small ruminants. Small Rum Res. 2006;62:101-107.
6. Diaz-Aparicio E, Marin C, Alonso B, Aragon V, Perez S, Pardo M, BlascoJM, Diaz R. Moriyon I. Evaluation of serological tests for diagnosis of *Br. melitensis* infection of goats. J Clinic Microbiol. 1994;32:1159-1165.
7. Marin C M, Moreno E, Moriyon I, Diaz R, Blasco J M. Performance of competitive and indirect enzyme-linked immunosorbent assays gel immuno precipitation with native hapten polysaccharide and standard serological tests in diagnosis sheep brucellosis. Clinic Diag Lab Immunol. 1999;6:269-272
8. Nielsen K H, WrightP 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
9. Wright P F, Nielsen E, Vanroij E M A. Lelenta M, 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.
10. Debbarh H S, Zygmunt M S, Dubray G, Cloeckaert A. Competitive enzyme-linked immunosorbent assay using monoclonal antibodies to the *Brucella melitensis* BP26 protein to evaluate antibody responses in infected and *Br. melitensis* Rev. 1 vaccinated sheep. Vet Microbiol. 1996;53:325-337
11. Cloeckaert A., Baucheron S, Vizcaino N, Zybmunt M S. Use of recombinant BP26 protein in serological diagnosis of *Brucella melitensis* infection in sheep. Clin Diag Lab Immunol. 2001;8:772-775
12. Nielsen K. Diagnosis of Brucellosis by Serology. Vet Microbiol.2002;90: 447-459
13. Nielsen K H, Cherwonogrodzky J, Duncan JR, 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
14. Nielsen KH, Kelly L, Gall D, Balsevicius S, Bosse J, Nicoletti P, Kelly W. Comparison of enzyme immunoassays for the diagnosis of bovine brucellosis. Prevent Vet Med. 1996;26:17-32.
15. Alton G G, Jones L M, Angus RD, Verger JM. Techniques for the brucellosis laboratory. INRA, Paris.1988.sss
16. Alton G G. *Brucella melitensis*. In :Nielsen K, Duncan (editors), Animal Brucellosis. CRC Press, Boston, 1990 pp 383-409
17. Sales-Henriques H L R, Hueston W D, Hoblet K H, Shulaw WP.Field trials evaluating the safety and serologic reactions of reduced dose *Brucella melitensis* Rev.1 vaccination in adult sheep. Prev Vet Med 1992;13:205- 215.
18. Stournara A, Minas A, Bourtzi-Chatzopoulou E., Stack J, Koptopoulos G, Petridou E. Sarris K, Assessment of serological response of young and adult sheep to conjunctival vaccination with Rev.1 vaccine by fluorescence polarization assay (FPA) and other serological tests for *B. melitensis*. Vet Microbiol. 2007;119:53-64.
19. Fensterbank ,Verger J M, Maggy G. Conjunctival vaccination of young goats with *Brucella melitensis* strain Rev.1. Ann RechVet. 1987;18:397-403.
٢٠. الخفاجي، وسام سالم حسن.تشخيص مرض الإجهاض الساري(البروسللوسز) في الضأن باستخدام الاختبارات المصلية مع تقيم كفاءة لقاح Rev.1، رسالة ماجستير، كلية الطب البيطري، جامعة الموصل. ٢٠٠٨
21. Fensterbank R, Pardon P, Marly J. Vaccination of ewes by a single conjunctival administration of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine Ann Rech Vet. 1985;16:351-356
22. Banai M. Control of small ruminant brucellosis by use of *Brucella melitensis* Rev.1 vaccine :laboratory aspects and field observations. Vet Microbiol. 2002;90:497-519.
23. Hamdy M E R, El-Gibaly S M, Montasser A M. Comparison between immune responses and resistance induced in BALB/c mice vaccinated with RB51 and Rev.1 vaccines and challenged with *Brucella melitensis* bv. 3. Vet Microbiol. 2002;88:85-94.
24. Nielsen K., Gall D, Smith P, Balsevicins S, Garrido F, Ferrer M D, Biancifiori F, Dajer A, Luna E, Samartino L, Bermudez R, Moreno F, Renteria T, Corral A. Comparison of serological tests for the detection of ovine and caprine antibody to *Brucella melitensis.* Rev Sci Tech Off. Int Epiz.2004;23:979- 987.
25. Jimenez 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.
26. Delgado S, Carmenes P, Fernandez M. Seroprevalences and lack of abortions after vaccination of Churra sheep with reduced doses of Rev.1 *Brucella melitensis* vaccine by subcutaneous or conjunctival routes. Prev Vet Med 1995;23:153-161.
27. Delgado S, Fernandez M, Carmenes P. Influence of age and stage of gestation on serological response to subcutaneous or conjunctival *Brucella melitensis* strain Rev.1 vaccination in ewes. Small Rum Res.1996; 19: 63-68.