

مقایسه روش‌های تشخیصی سرولوژی در بیماران مشکوک به بروسلوز

ابوالقاسم عجمی* - محترم نصرالهی** - مهدی شریف***

*دانشیار گروه ایمنولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 **دانشیار گروه میکروبیولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران
 ***دانشیار گروه پارازیتولوژی دانشگاه علوم پزشکی مازندران

تاریخ دریافت مقاله: ۸۳/۳/۲۰

تاریخ پذیرش: ۸۴/۲/۲۵

چکیده

مقدمه: بروسلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی در ایران است. نمای بالینی بیماری غیراختصاصی بوده و روش‌های پاراکلینیکی برای تشخیص آن ضروری است. مطمئن‌ترین راه تشخیص بیماری جدا سازی باکتری از نمونه‌های بالینی است ولی موفقیت آن به عوامل زیادی بستگی دارد و در همه موارد نمی‌توان از آن استفاده کرد. روش‌های سرولوژی آگلوتیناسیون و الایزا مهم‌ترین آزمایش‌های پاراکلینیکی هستند که در حال حاضر از آنها برای تشخیص استفاده می‌شوند.

هدف: این مطالعه برای مقایسه این دو روش تشخیصی در بیماران مشکوک به بروسلوز در سال ۱۳۸۱ در ساری انجام شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق توصیفی بیماران مشکوک به بروسلوز که از تاریخ ۱۳۸۱/۲/۱ تا ۱۳۸۱/۸/۱ به درمانگاه‌های شهر ساری مراجعه کرده بودند صرف نظر از سن، جنس و وضعیت مورد مطالعه قرار گرفتند. سرم بیماران مشکوک به بیماری با روش‌های آگلوتیناسیون استاندارد (SAT)، مرکاپتو اتانول (2 ME) و الایزا (ELISA) مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش SAT و 2 ME طبق استانداردهای WHO (مورد استفاده در آزمایشگاه مرجع ایران) و با استفاده از آنتی‌ژن‌ها و بافرهای انستیتو پاستور ایران انجام شد. از کیت‌های الایزا ساخت شرکت IBL Hamburg استفاده شد. در آزمایش SAT تیتراژ $\geq 1/80$ مثبت قلمداد شد و فاصله تیتراژ آنتی بادی در SAT و 2 ME (در صورت وجود دو تیتراژ فاصله) به عنوان وجود IgM در نظر گرفته شد و برای مقایسه آزمایش‌ها نسبت شانس (Odds Ratio) محاسبه شد.

نتایج: در مجموع ۲۷۶ نفر بیمار مشکوک به بروسلوز، یعنی ۱۸۳ نفر زن و ۹۳ نفر مرد مورد بررسی قرار گرفتند. در ۱۲ مورد هم IgG و هم IgM در سرم بیماران با هر دو روش تشخیصی داده شد. در ۹۶ مورد، آزمایش الایزا برای IgG مثبت بود در حالی که آزمایش SAT در ۲۷ مورد مثبت نشد ($OD = 12.1$). روش الایزا توانست ۶ مورد IgM را به تنهایی در بیماران تشخیص دهد، در حالی که 2 ME قادر به تشخیص آنها نبود ولی ۳ مورد دیگر توسط 2 ME از نظر IgM مثبت شد ($OD = 12.9$).

نتیجه‌گیری: برای تشخیص موارد حاد بیماری (وجود IgG و IgM با هم) دو روش Elisa و SAT با یکدیگر تفاوتی ندارند ولی در تشخیص موارد تحت حاد و مزمن (وجود IgG و یا IgM به تنهایی)، دو روش اختلاف زیادی دارند.

کلید واژه‌ها: آگلوتیناسیون / الایزا / تب مالت

مقدمه

مغز استخوان و بافت)، زمان نمونه‌گیری (مرحله بیماری) و روش جدا سازی، میزان موفقیت روش کشت را تحت تاثیر قرار می‌دهند(۴). تنها در ۱۵-۳۵ درصد از موارد بیماری، موفق به جداسازی باکتری از نمونه‌ها شده‌اند(۵). علاوه بر آن کشت و جداسازی باکتری فرصت زیادی لازم دارد و می‌تواند درمان را به تاخیر اندازد(۴). لذا آزمایش‌های سرولوژی که مهم‌ترین آنها آزمایش استاندارد آگلوتیناسیون (SAT) است، در تشخیص بیماری کمک

بروسلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی ایران است. سالانه نزدیک به ۶۰۰۰۰ مورد بروسلوز به مرکز بیماری‌های واگیر وزارت بهداشت، درمان و آموزش پزشکی گزارش می‌شود(۱و۲). نمای بالینی بیماری غیراختصاصی است و برای تشخیص از روش‌های پاراکلینیکی استفاده می‌شود. مطمئن‌ترین راه تشخیص بیماری جداسازی باکتری از خون، مغز استخوان یا بافت‌های آلوده است(۳). عواملی چون نوع نمونه (خون،

مرجع ایران که طبق استانداردهای WHO (۱۷) است، انجام شد. آنتی‌ژن‌ها و بافرهای 2 ME مورد استفاده، ساخت انستیتو پاستور ایران بودند. آزمایش SAT با تیتراژ $\geq 1/80$ مثبت قلمداد شد و در صورتی که فاصله بین تیتراژ SAT 2 ME یک بیمار بیشتر از دو رقت بود (2 ME دو تیتراژ کمتر از رایت) وجود IgM در سرم بیمار مثبت در نظر گرفته می‌شد. در صورتی که آزمایش رایت و 2 ME هر دو یک تیتراژ را نشان می‌دادند، آزمایش 2 ME منفی در نظر گرفته می‌شد (وجود IgM در سرم بیمار منفی تلقی می‌شد). تمام سرم‌ها برای بررسی وجود پادتن‌های IgM و IgG با روش الایزا هم مورد بررسی قرار گرفتند. کیت مورد استفاده برای این آزمایش ساخت شرکت IBL Hamburg بود. دستگاه الایزا Reader از نوع (Biotek -ELEX 800) و Cut Off برای مثبت یا منفی قلمداد کردن نتیجه آزمایش بر اساس استانداردهای موجود در کیت تعیین شد. جذب نوری در 450 nm اندازه‌گیری شد و برای مقایسه نتایج دو روش آزمایش با یکدیگر، از نسبت شانسی (Odds Ratio) استفاده شد.

نتایج

از مجموع ۲۷۶ بیمار مشکوک به بروسلوز، ۱۸۳ نفر زن (۶۶٪) و ۹۳ نفر مرد (۳۳٪) بودند. آزمایش آگلوتیناسیون لوله (SAT) در ۳۹ نفر (۱۴٪)، آزمایش 2 ME در ۱۲ نفر (۴٪)، الایزا IgG در ۱۰۸ نفر (۳۹٪) و الایزا IgM در ۱۵ نفر (۵٪) مثبت بود. جدول شماره ۱ موارد مثبت و منفی هر آزمایش را در دو جنس به تفکیک نشان می‌دهد.

جدول ۱: موارد مثبت آزمایشات انجام شده بر روی سرم ۲۷۶

بیمار مشکوک به بروسلوز به تفکیک جنس، ساری ۱۳۸۱

جمع	Ig M Eliza	Ig G Eliza	2 ME	رایت لوله ای	نوع آزمایش	جنس
۱۱۴	۱۲ (٪۸۰)	۷۲ (٪۶۶)	۶ (٪۵۰)	۲۴ (٪۶۱/۵)		زن
۶۰	۳ (٪۲۰)	۳۶ (٪۳۴)	۶ (٪۵۰)	۱۵ (٪۳۸/۵)		مرد
۱۷۴	۱۵	۱۰۸	۱۲	۳۹		جمع

فراوانی می‌کند (خصوصاً تیتراژهای بالا رونده پادتن). آزمایش‌های 2ME و کومبس رایت برای تشخیص موارد حاد و مزمن و منفی کاذب مورد استفاده قرار می‌گیرند (۴). قدرت تشخیص این روش‌ها مورد سؤال بوده و موارد مثبت و منفی کاذب گزارش شده‌اند (۶، ۷، ۸، ۹). در مناطق مختلف دنیا، روش‌های جدید تشخیصی مانند PCR و الایزا در حال جایگزین شدن روش‌های کشت و آگلوتیناسیون هستند (۴). میزان حساسیت و ویژگی روش الایزا بیش از روش‌های آگلوتیناسیون گزارش شده است (۴، ۱۱، ۱۲، ۱۰، ۱۳ و ۱۵). ولی اخیراً با مشاهده موارد مثبت کاذب و بروز مشکلات تشخیصی به روش الایزا، برخی از محققان روش آگلوتیناسیون را حساس‌تر و با ویژگی بیشتر گزارش کرده‌اند (۱۶). از جمله در مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۲ در عربستان سعودی حساسیت و ویژگی SAT به ترتیب ۹۵/۶ و ۱۰۰ درصد بوده است، در حالی که در مورد الایزا IgG ۴۵/۶ و ۹۷/۱ درصد و الایزا IgM ۷۹ درصد و ۱۰۰ درصد بوده است و مجموعه IgM و IgG با روش الایزا از حساسیت و ویژگی ۹۴/۱ و ۹۷/۱ درصد برخوردار بوده است (۱۶).

با توجه به شیوع بالای بروسلوز در ایران و استفاده از هر دو روش الایزا و آگلوتیناسیون برای تشخیص این بیماری، مقایسه موارد مثبت و منفی دو روش الایزا و آگلوتیناسیون در بیماران مشکوک به بروسلوز انجام شد تا در صورتی که تفاوت واضحی در میزان موارد مثبت و منفی وجود داشته باشد، در یک مطالعه دیگر حساسیت و ویژگی این دو روش مقایسه شوند.

مواد و روش‌ها

در یک تحقیق توصیفی، بیماران مشکوک به بروسلوز مراجعه کننده به درمانگاه‌های شهرساری از ۱۳۸۱/۲/۱ تا ۱۳۸۱/۸/۱ صرف‌نظر از سن، جنس و وضعیت بیماری، مورد مطالعه قرار گرفتند. سرم تمام بیماران مشکوک به بروسلوز با روش‌های SAT و 2 ME مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش‌ها با استفاده از دستورالعمل آزمایشگاه

		آگلوتیناسیون لوله‌ای (SAT)
-	+	Ig G ELISA
۶	۳۳	+
۱۶۲	۷۵	-

مقایسه بین نتایج رایت 2ME (تشخیص IgM توسط روش آگلوتیناسیون) و الایزا IgM نشان می‌دهد که در ۶ بیماری که الایزا توانسته است IgM را تشخیص دهد 2ME قادر به تشخیص نبوده است (جدول شماره ۴) و در ۳ مورد هم 2ME قادر به تشخیص IgM بوده و الایزا منفی بوده است (OD=129).

جدول شماره ۴: مقایسه نتایج 2 ME و الایزا Ig M در ۲۷۶ بیمار مشکوک به بروسلوز

		Ig M ELISA
-	+	2 ME
۳	۹	+
۲۵۸	۶	-

در مجموع، مواردی که در سرم بیمار IgG و IgM هر دو وجود دارند، (بیماری حاد) هر دو روش یکسان عمل کردند (۱۲ مورد در هر دو روش الایزا و SAT) ولی در مواردی که بیمار فقط IgG در سرم داشت (بیماری تحت حاد) موارد مثبت الایزا ۹۶ مورد و SAT ۲۷ مورد بوده است (D=12.1) و روش الایزا توانست ۶ مورد IgM را تشخیص دهد که 2ME قادر به تشخیص آن نبوده است (OD=129).

بحث و نتیجه‌گیری

از مجموع ۲۷۶ نفر بیمار مشکوک به بروسلوز، در سرم ۱۲ مورد با هر دو روش SAT و الایزا هر دو پادتن IgG و IgM تشخیص داده شد. ولی روش الایزا در ۹۶ مورد قادر به تشخیص IgG بود، در حالی که SAT فقط در ۲۷ مورد برای وجود IgG مثبت بود. در مورد وجود IgM به تنهایی نیز روش الایزا در ۶ مورد و SAT ۳ مورد مثبت بود.

تشخیص بروسلوز با استفاده از روش‌های متفاوت آگلوتیناسیون از قبیل رز بنگال، 2 ME، SAT و کومبس، برای غلبه بر مشکلات تشخیصی مانند پدیده منطقه‌ای

سن بیماران مشکوک به بروسلوز بین ۴ تا ۷۵ سال متغیر بود. بیشترین موارد مثبت آزمایش در گروه سنی ۱۰-۱۹ ساله دیده شد.

از مجموع ۳۹ بیمار که آزمایش آگلوتیناسیون لوله‌ای آنها مثبت بود، فقط ۱۲ نفر با انجام آزمایش 2 ME، IgM به همراه IgG داشتند (بیماری حاد) و هیچ موردی وجود نداشت که با آزمایش 2ME سرم فقط Ig M داشته باشد (بیماری مزمن غیرفعال). نتایج آزمایش الایزا بر سرم بیماران نشان داد که موارد مثبت هم در مورد IgG و هم در مورد IgM در مقایسه با آزمایش‌های آگلوتیناسیون افزایش نشان می‌دهد. با مقایسه نتایج نشان داده شد که در این آزمایش هم ۱۲ بیمار، هم IgM و هم IgG در سرم داشته‌اند (بیماری حاد) ولی ۳ مورد فقط IgM داشته‌اند (بیماری مزمن غیرفعال) و ۹۶ مورد فقط از نظر IgG سرم مثبت بود. (بیماری تحت حاد) که در مقایسه با روش آگلوتیناسیون که ۲۷ نفر بودند افزایش قابل ملاحظه‌ای نشان می‌دهد (مقایسه نتایج الایزا و SAT در جدول شماره ۲ آمده است).

جدول ۲: نتایج موارد مثبت ELISA و SAT در ۲۷۶ بیمار مشکوک به بروسلوز

جمع	منفی	Ig M	Ig G	Ig M+IgG	نوع آنتی بادی تشخیص داده شده
					نوع آزمایش
۲۷۶	۱۶۵	۳	۹۶	۱۲	ELISA
۲۷۶	۲۳۷	۰	۲۷	۱۲	SAT

مقایسه بین نتایج رایت لوله‌ای (SAT) و IgG الایزا (جدول ۳) نشان می‌دهد که ۷۵ مورد از بیمارانی که در روش رایت لوله‌ای منفی تشخیص داده شدند در روش الایزا دارای آنتی بادی بوده‌اند و فقط در شش مورد که رایت لوله‌ای مثبت بوده است آزمایش IgG الایزا منفی بوده است (OD = 12.1).

جدول ۳: مقایسه نتایج رایت لوله‌ای و Ig G الایزا در ۲۷۶ بیمار مشکوک به تب مالت

(prozone)، آنتی بادی بلوکان (blocking AB)، واکنش متقاطع و نوع آنتی بادی تا اندازه‌ای موفق بوده است، ولی ظهور روش‌های دقیق‌تر تشخیصی الایزا موجب شد که این روش‌ها (دوباره) مورد ارزیابی قرار گیرند.

در مطالعه دکتر مرشدی، میزان موارد مثبت الایزا در مقابل آگلوتیناسیون منفی، ۲۲/۲ درصد بدست آمد و در همه شکل‌های بیماری (حاد، مزمن، تحت حاد) این اختلاف وجود داشت (۱۸). در این مطالعه در موارد حاد بیماری اختلافی بین دو روش وجود نداشت. ولی در وجود IgG (تحت حاد و مزمن) الایزا، ۳۹/۱ درصد از افراد مشکوک و آگلوتیناسیون، ۱۴ درصد از این موارد را مثبت تشخیص داد. در مطالعه دکتر برادران و همکاران، آزمایش‌های آگلوتیناسیون توان تشخیص همه موارد تحت حاد بیماری را نداشتند گفته می‌شود که ۱۰۰ درصد موارد بروسلوز تحت حاد با روش الایزا قابل تشخیص است (۱۱) و این در حالی است که مطالعه بالا آزمایش تشخیص gold standard نداشت و مانند مطالعه ما نتوانست تا حساسیت و ویژگی آزمایش الایزا را ارزیابی کند. در مطالعه Gad در عربستان از ۱۳۵ بیمار مشکوک، ۲۵ مورد آگلوتیناسیون منفی، ولی با روش الایزا مثبت بود (۱۳). این میزان در مطالعه ما ۶۳ مورد بود. ممکن است این افزایش به دلیل استفاده از کیت‌های جدید باشد که از حساسیت بیشتری برخوردارند. در مطالعه‌ای دیگر هم، روش الایزا برای تشخیص بروسلوز نسبت به روش SAT ارجح شناخته شده است (۱۲، ۱۳، ۱۴، ۱۹، ۲۰).

به دنبال این‌گونه مطالعه‌ها و بکارگیری روش الایزا در سال‌های اخیر برای تشخیص بیماری، متخصصان عفونی

منابع

۱- صائبی، اسماعیل: بیماری‌های عفونی در ایران: بیماری‌های باکتریال. تهران: علمی و فرهنگی، ۱۳۷۲.

با آزمایش‌های مثبت کاذب زیادی مواجه شده‌اند، در نتیجه بررسی‌های جدیدی برای روشن کردن ارزش تشخیصی روش‌های سرولوژی شروع شده است.

در یک مطالعه یک ساله Memish در عربستان، سرم ۶۸ بیمار مبتلا به بروسلوز را که همگی کشت خون مثبت داشتند، با هر دو روش بررسی کرد و نتایج آن را با ۷ نفر از افراد سالم اهدا کننده خون مقایسه کرد که حساسیت و ویژگی SAT را به ترتیب ۹۵/۶٪ و ۱۰۰٪ گزارش کرد در حالی که برای الایزا (IgG) این مقادیر ۴۵/۶٪ و ۹۷/۱٪ بوده (۱۶).

در این مطالعه به علت دسترسی نداشتن به یک روش gold standard تشخیصی، نتوانستیم حساسیت و ویژگی دو روش را در تشخیص موارد حاد و مزمن بیماری محاسبه کنیم، ولی نتایج نشان می‌دهد که وجود هم‌زمان IgG و IgM در سرم بیماران (بیماری حاد) با هر دو روش قابل تشخیص است ولی برای تشخیص مواردی که فقط یکی از دو پادتن IgG (تحت حاد و مزمن) یا IgM (شروع بیماری یا بهبود یافته) در سرم وجود دارد، موارد مثبت ELISA خیلی بیشتر از SAT بود که ممکن است این تفاوت ناشی از موارد مثبت کاذب (حساسیت بالا و ویژگی پایین) آزمایش الایزا باشد. لذا پیشنهاد می‌شود که با کمک PCR - به عنوان gold standard - مطالعه کاملی در مورد ارزش تشخیصی الایزا و SAT در شکل مختلف بیماری انجام شود.

۲- عزیزی، فریدون: اپیدمیولوژی بیماری‌های شایع در ایران. نوبت و سال اول: زمستان ۱۳۷۰.

3. Yagupsky P. Detection of Brucellae in Blood Cultures. J Clin Microbiol 1999; 37: 337-344.

4- Mandell GL, Douglas RG, Bennett TE, Dolin R. Mandell, Douglas and Bennett's Principles and

13. Gad El, Rab MO, Kambal A M. Evaluation of a Brucella Enzyme Immunoassay Test (ELIZA) in Comparison with Bacteriological Culture and Agglutination. *J Infect* 1998; 36 (2): 197-201.
14. Sipple JE, EL Masry, NKAL, Farid Z. Diagnosis of human Brucellosis with ELISA. *The Lancet*; 3: 19-21.
15. Osoba AO, Balkhy H, Memish z, Khan M Y, et al . Diagnostic Value of Brucella Elisa Ig G and Ig M in Bacteremic and Non Bacteremic `Atients with brucellosis . *J Chemother* 2001; (Supple 1): 54-59
16. Memish ZA, Almune M, Mah M.W, Qassem LA, Osoba AO. Comparison of the Brucella Standard Agglutination Test with the ELISA Ig G and Ig M in Patients with Brucella Bacteremia *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 4(2):129-32.
17. Alton C GJ, Jones L. *Laboratory Techniques in Brucellosis*. 2nd edition. Geneva; WHO.
- ۱۸- مرشدی، احمد: مقایسه آزمون الایزا با آزمونهای سرولوژیک استاندارد در تشخیص بروسلوز در انسان. اولین کنگره سراسری بروسلوز در ایران. شهرکرد: دانشگاه علوم پزشکی شهر کرد، ۱۳۷۱، صص: ۳۳۳.
19. Carlsson HE, Hurvell B, Lindberg AA, Enzyme Immunosorbent Assay for Titration of Antibodies Against Brucella Abortus and Yersinia Enterocolitica. *Actapath Microbiol Scand Sect*. 1976 ; 84 : 168-176.
20. Colak H, et al. Comparison of the Wright, Indirect Coombs and Enzyme Immunoassay Ig G Methods for Diagnosis of Chronic Brucellosis. *Microbiol Bul* 1992; 2(1): 56-60.
- Practice of Infectious Disease. 5th edition. Philadelphia ; Churchill Livingstone, 2000.
5. Memish Z, Mah MW, Mahmoud SA, Shaalan MM, Khan Y. Brucella Bacteremia: Clinical and Laboratory Observations in 160 Patients. *J Infect* 2000; 40 : 59 63 .
- ۶- جورابچی، علی؛ مومنی، علی اکبر؛ محمدی، محمد: آگلوتیناسیون لوله ای رایت با روش استاندارد قادر به ارزیابی صحیح موارد بروسلوز نمی باشد. ره آورد دانش، ۱۳۷۶، شماره سوم، صص: ۱۹-۲۳.
7. Corbel MJ. The Relationship Between the Protective and Cross Recting Antigens of Brucella spp. *Ersinia Enterocolitica* 0:9 and *Salmonella* Serotypes of Kauffmann -White Group N. *Contributions to Microbiology and Immunology* 1979; 5 : 50-63
8. Cobel Mj. Recent Advances in the Study of Brucella Antigens and Their Serological Cross-Reactions *Veterinary Bulletin* 1985; 55: 927-942.
9. Corbel MJ. Microbiological Aspects of Brucellosis . *Saudi Medical Journal* 1993; 14 (6): 489-92.
10. John L, Carpenter MD, Edmund C, Tramont MD, William B. Failure of Routine Methods in the Diagnosis of Cronic Brucellosis. *Southern Medical Journal* 1979; 27:90-91.
- ۱۱- برادران، حسن؛ مسعود، ثقفی؛ پناهی، محمود: ارزشیابی آزمون الایزا در تشخیص بروسلوز حاد و تحت حاد. دارو و درمان، سال دهم شماره ۱۱۱، صص: ۱۸.
12. Magee JT. An Enzyme-Labelled Immunosorbent Assay for Brucella Abortus' Antibodies. *J Med Microbiol* 1980; 12 (1): 167-172.

Comparison of Serological Methods for Diagnosis of Brucellosis

Ajami A(Ph.D)., Nasrolahi M(Ph.D)., Sharif M(Ph.D)

Abstract

Introduction: Brucellosis is one of the most prevalent infectious diseases in Iran. Clinical signs are not specific and laboratory methods are necessary for definite diagnosis. Isolation of microorganism from clinical samples is the most definitive methods, but its succession depends on many factors that can not be used in all cases. Standard agglutination test (SAT) and recently Enzyme Linked Immunosorbant Assay (ELISA) are the most important serological tests for diagnosis of brucellosis.

Objective: In this study we compared these two diaghostic methods in patients suspected of brucellosis in Sari in 1381.

Materials and Methods: In this descriptive study, all patients suspected of brucellosis who referred to health centers of Sari city from 1381/2/1 to 1381/8/1 were chosen regardless of age, sex and condition. Their sera were collected and tested by SAT, 2ME (according to WHO standard methods with Pasteur institute antigen) and Elisa (IBL Hamborg). 1/80 titer in SAT consider as positive and 2 dilution difference between 2ME and SAT consider as positive IgM.

Results: Overall the sera of 276 patients (183 female and 93 male) were tested for IgG and IgM antibodies against brucella. 12 samples were positive for IgG + IgM with both SAT and Elisa methods. IgG detected in 98 samples by Elisa method while 27 samples were positive for IgG by SAT. Elisa detected IgM in 6 samples while SAT and 2ME were negative and SAT and 2ME detected IgM in 3 samples while Elisa was negative.

Conclusion: In diagnosis of acute brucellosis (IgM + IgG) both technique were the same but in diagnosis of subacute and chronic disease (IgG without IgM or visevera) two methods were very different.

Key Words: Agglutination/ Brucellosis/ Enzyme Linked Immunosorben.