Journal of Ilam University of Medical Sciences

P-ISSN: 1563-4728
E-ISSN: 2588-3135

Determining the agent dominant species of human and animal Brucellosis in endemic areas of Ilam province

Mehdi Shokri [1], Razi Naserifar [2], Shahab Flahi [2], Saeed Khoshnod [3], Ali Jalilian [4], Ebrahim Babaahmadi [5], Somayeh Chamanara [6], Mohammad Hossien Ebrahimpour [6], Heshmatola Alirahmi [6], Jalal Naseri [6], Elahe Alivaysi [7], Fariba Shokri[1,8*], Morteza Shams [2*]

[1] Dept of Internal Medicine, School of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[2] Zoonotic Diseases Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[3] Clinical Microbiolog Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[4] Dept of Vector biology and control diseases, Faculty of Health, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[5] Dept of pathobiology, Faculty of Para-Veterinary Medicine, Ilam University, Ilam, Iran
[6] Central Labotatory of Veterinary Medicine of Ilam Province, Ilam, Iran
[7] Dept of Clinical Biochemistry, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran
[8] Tuberculosis and Lung Diseases Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Article Info

Article type:
Research article

Article History:
Received: Jun. 07, 2025
Received in revised form: Jul. 13, 2025
Accepted: Jul. 20, 2025
Published Online: Sep. 27, 2025

**** Correspondence to:***
Fariba Shokri
Dept of Internal Medicine, School of Medicine, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Morteza Shams
Zoonotic Diseases Research Center, Ilam University of Medical Sciences, Ilam, Iran

Email:
elmirajoon2008@yahoo.com
Shamsimorteza55@gmail.com

A B S T R A C T

Introduction: Brucellosis is one of the most important zoonotic diseases in Iran and the world. The aim of this study was to determine the predominant species of human and animal brucellosis in Holeylan County, one of the endemic areas of the disease in Ilam Province.
Materials & Methods: In this cross-sectional study from April to September 2024, a total of 1000 samples of raw and unpasteurized bulk milk from 50 cows, 500 sheep, and 450 goats were collected from traditional domestic farming in Piaz Abad village, Holeylan county. In this research, 10 blood samples from suspected cattle, 63 blood samples from suspected sheep, 43 blood samples from suspected goats, and 23 blood samples from humans were collected. Samples were screened by slide agglutination and ring tests. The seropositive samples were examined by a collection of specific primers for Brucella abortus and Brucella melitensis using PCR tests in SPSS V.22 at a significant level of 0.01.
Results: Results showed that 140 sheep, 60 goats, and 1 cattle sample were positive in the milk ring test. A total of 23 sheep samples, 10 goats, and 8 humans were positive in the slide agglutination test. No positive samples were found in the cattle. A similar band of 905 bp was observed for all samples. 7 sheep samples (30.43%), 2 goats (20%), and 1 human (12.5%) were positive in PCR. In sequencing, the dominant animal species was Brucella melitensis.
Conclusion: The dominant animal species in endemic areas of Ilam province was Brucella melitensis. This study has health and environmental significance because the disease has an animal origin and contaminates the environment around humans.

Keywords: Malt Fever, Holeylan, Endemic, Brucella abortus, Brucella melitensis, PCR

Cite this paper: Shokri M, Naserifar R, Flahi Sh, Khoshnod S, Jalilian A, Babaahmadi E, et al. Determining the agent dominant species of human and animal Brucellosis in endemic areas of Ilam province. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2025;33(4):130-146.

Introduction

Brucellosis, also known as Maltese fever, is a highly contagious zoonotic disease caused by the bacterial genus Brucella (1). Transmission to humans occurs mainly through direct contact with carcasses, blood, feces, aborted fetuses, and uterine secretions of

© The Author(s)
Publisher: Ilam University of Medical Sciences

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

infected animals, as well as through the consumption of raw or unpasteurized animal products (2). Although brucellosis is primarily a disease of animals, humans can become accidental hosts and develop the infection (1). Human-to-human transmission is rare; however, cases through breast milk, organ transplantation, and blood transfusion have been reported (3). Maltese fever predominantly affects the hematopoietic organs such as the bone marrow, lymph nodes, liver, and spleen, and is more common in men between the ages of 20 and 60 (4). Individuals at higher risk include farmers, ranchers, butchers, veterinarians, and travelers to endemic regions (2). The incidence of human cases reflects the prevalence of infection in livestock populations, leading to increased medical costs and reduced productivity among affected occupational groups (5). In animals, the disease causes abortion, death, weight loss, and substantial economic losses in both meat and milk production (1). Among Brucella species, Brucella melitensis is the most virulent and pathogenic to humans, while Brucella canis is the least invasive (2). Given its impact on both human health and livestock productivity, prevention and control of brucellosis are critical to reducing the financial burden on governments, healthcare systems, and agricultural sectors (5). The aim of this study was to determine the predominant species of human and animal brucellosis in Holeylan County, one of the endemic areas of the disease in Ilam province.

Methods

This cross-sectional study was carried out from April to September 2024. A total of 1000 samples from raw milk and unpasteurized bulk from 50 cows, 500 sheep, and 450 goats were collected from traditional domestic farming in Piaz Abad village, Holeylan county. In this research, 10 blood samples from suspected cattle, 63 blood samples from suspected sheep, 43 blood samples from suspected goats, and 23 blood samples from humans were collected. Samples were screened by slide agglutination and ring tests. The seropositive samples were examined by a collection of specific primers for Brucella abortus and Brucella melitensis using PCR tests. A total of 17 samples of selected PCR products, including 16 animal samples and one human sample, were purified using a PCR product purification kit (GeneAll Company, South Korea) and sent to Pishgam Teb Company for sequencing along with forward and reverse primers. Statistical differences were analyzed using χ^2 tests and Spearman correlation in SPSS V.22, with a statistically significant level of 0.01.

Results

Results showed that 140 sheep, 60 goats, and 1 cattle sample were positive in the milk ring test. Out of a total of 139 human and animal blood samples, including 63 sheep, 43 goats, 10 cattle, and 23 human samples, 23 sheep, 10 goats, and 8 human samples were positive in the slide agglutination test. No positive samples were found in the cattle. Seven sheep, two goats, and one human sample with positive serology were positive in the PCR test. Out of the total of 98 negative human and animal serological samples, 5 sheep and 2 goat samples were positive in the PCR test. A similar band of 905 bp was observed for all samples in the PCR test. 7 sheep samples (30.43%), 2 goats (20%), and 1 human (12.5%) were positive in the PCR test. No PCR product was observed in any of the negative controls. Out of the 17 sequenced samples, 12 were sheep, 4 were goat samples belonging to the Brucella melitensis species, and 1 was a human sample belonging to the Brucella abortus species. The sequencing results of all sequenced samples were similar and contained the same nucleotides. In sequencing, the dominant animal species was Brucella melitensis.

Conclusion

Malta fever is considered a potential public health threat to the community. This disease continues to be an important health and economic issue. In the present study, the status of the spread of genotypes of Brucella species infecting humans and livestock at the regional level was determined, and Brucella melitensis was identified as the dominant sheep and goat species in Ilam province. Sheep were more susceptible to brucellosis than goats. The use of molecular diagnostic methods, including PCR, can be considered an efficient and appropriate policy for identifying infectious Brucella strains and avoiding the disadvantages of traditional serological methods. This study has health and environmental significance because the disease has an animal origin and contaminates the environment around humans. This information is evidence of the importance of

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

epidemiological control and prevention in the veterinary and medical sectors.

Authors' Contribution

Conceptualization, Methodology, Validation, Formal Analysis, Investigation, Software, Resources, Data Curation, writing– Original Draft Preparation, writing– Review & Editing, Visualization, Supervision, Project Administration: MS, RN, SF, SK, EB, AJ, SC, ME, HA, JN, EA, FS, MS.

Ethical Statement

This study was approved by the Ethics Committee of Ilam University of Medical Sciences Iran (IR.MEDILAM.REC.1403.117) (Iran). The authors avoided data fabrication, falsification, plagiarism, and misconduct.

Conflicts of Interest

The authors declare no conflict of interest.

Funding

This research was funded by the Ilam Province Veterinary office by grant No.2824 in the Ilam University of Medical Sciences (Iran).

Acknowledgment

The staff of the Zoonotic diseases research center of Ilam University of Medical Sciences are gratefully acknowledged.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام

شاپای چاپی : ۱۵۶۳-۴۷۲۸

شاپای الکترونیک : ۲۵۸۸-۳۱۳۵

تعیین گونۀ غالب عامل بروسلوزیس انسانی و دامی در مناطق آندمیک استان ایلام

مهدی شکری[۱]، راضی ناصری‌فر[۲]، شهاب فلاحی[۲]، سعید خشنود[۳]، علی جلیلیان[۴]، ابراهیم بابااحمدی[۵]، سمیه چمن‌آرا[۶]، محمد حسین ابراهیم پور[۶]، حشمت‌اله علی‌رحمی[۶]، جلال ناصری[۶]، الهه علی ویسی[۷]، فریبا شکری*[۱،۸]، مرتضی شمس*[۲]

[۱] گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۲] مرکز تحقیقات بیماری های مشترک انسان و دام، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۳] مرکز تحقیقات میکروب شناسی بالینی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام،ایران

[۴] گروه بیولوژی ناقلین و کنترل بیماری‌ها، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۵] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه ایلام، ایلام، ایران

[۶] آزمایشگاه مرکزی، اداره کل دامپزشکی استان ایلام، ایلام، ایران

[۷] گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

[۸] مرکز تحقیقات سل و بیماری های ریوی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

اطلاعات مقاله

نوع مقاله: پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۳/۱۷

تاریخ ویرایش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۲

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۴/۲۹

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۰۷/۰۵

نویسنده مسئول:

فریبا شکری

گروه داخلی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

مرتضی شمس

مرکز تحقیقات بیماری های مشترک انسان و دام، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران

Email:

elmirajoon2008@yahoo.com

Shamsimorteza55@gmail.com

چکیده

مقدمه: بروسلوزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک انسان و حیوان در ایران و جهان است. هدف از انجام این مطالعه تعیین گونۀ غالب عامل بروسلوزیس انسانی و دامی در شهرستان هلیلان، از مناطق آندمیک بیماری در استان ایلام است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعۀ مقطعی_توصیفی طی ماه‌های فروردین تا شهریور ۱۴۰۳، درمجموع ۱۰۰۰ نمونۀ شیر خام غیرپاستوریزۀ ۵۰ رأس گاو، ۵۰۰ رأس گوسفند و ۴۵۰ رأس بز از دامداری‌های سنتی روستای پیازآباد شهرستان هلیلان جمع‌آوری شد. در این مطالعه، تعداد ۱۰ نمونه خون از گاو، ۶۳ نمونه از گوسفند و ۴۳ نمونه از بز مشکوک به بروسلوز و ۲۳ نفر انسان اخذ گردید؛ سپس نمونه‌ها توسط تست‌های حلقه‌ای شیر و رزبنگال از نظر وجود آنتی‌بادی ضد بروسلا غربالگری شدند. نمونه‌های سروپوزیتیو با مجموعه‌ای از پرایمرهای اختصاصی برای بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس توسط آزمون PCR آزمایش گردیدند. تعداد ۱۷ نمونه از محصولات PCR تعیین توالی شدند.

یافته‌های پژوهش: نتایج آزمایش حلقه‌ای شیر نشان داد که تعداد ۱۴۰ رأس گوسفند، ۶۰ رأس بز و یک رأس گاو مثبت هستند. ۲۳ نمونه گوسفند، ۱۰ بز و ۸ نفر انسان در رزبنگال مثبت شدند. در گاو نمونۀ مثبت یافت نگردید. میزان شیوع سرمی در تست رزبنگال گوسفند ۳۶/۵ درصد، بز ۲۳/۸ درصد و انسان ۳۴/۷۸ درصد بود. در PCR، باند مشابه bp۹۵۰ برای همۀ نمونه‌ها نمایان گردید. ۷ نمونه گوسفند (۳۰/۴۳ درصد)، ۲ بز (۲۰ درصد) و ۱ نفر انسان (۱۲/۵ درصد) در PCR مثبت شدند. در تعیین توالی، بروسلا ملی تنسیس گونۀ غالب دامی بود.

بحث و نتیجه‌گیری: بروسلا ملی‌تنسیس گونۀ غالب دامی در مناطق آندمیک استان ایلام بود. این مطالعه اهمیت بهداشتی و محیطی دارد؛ زیرا بیماری خاستگاه حیوانی دارد و محیط پیرامون انسان را آلوده می‌سازد. این اطلاعات دلیلی بر اهمیت کنترل همه‌گیرشناسانه و پیشگیری در بخش‌های دامپزشکی و پزشکی است.

واژه‌های کلیدی: تب مالت، هلیلان، آندمیک، بروسلا آبورتوس، بروسلا ملی‌تنسیس، PCR

استناد: شکری مهدی، ناصری‌فر راضی، فلاحی شهاب، خشنود سعید، جلیلیان علی، بابااحمدی ابراهیم و دیگران. تعیین گونۀ غالب عامل بروسلوزیس انسانی و دامی در مناطق آندمیک استان ایلام. *مجله دانشگاه علوم پزشکی ایلام*، مهر ۱۴۰۴؛ ۳۳(۴): ۱۴۶-۱۳۰.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

CC BY NC

مقدمه

بروسلوزیس (تب مالت) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی مشترک (زئونوز) قابل‌انتقال میان انسان و حیوان است که به‌وسیلهٔ باکتری‌هایی از جنس بروسلا ایجاد می‌شود که کوکوباسیل‌های گرم منفی، اختیاری داخل سلولی، بی‌حرکت، بدون کپسول و اسپور، هوازی مطلق و کند رشد هستند. عامل بیماری از طریق تماس مستقیم با لاشه، خون، جف، جنین و ترشحات رحمی حیوانات آلوده (گاو، گوسفند، بز، خوک، شتر و گاومیش) و نیز از طریق مصرف فراورده‌های خام آلودهٔ حیوانی (به‌ویژه شیر و فراورده‌های آن، گوشت و فراورده‌های آن و فست فودها) به‌طور مستقیم به انسان منتقل می‌شود (۱). پاسخ به بروسلوزیس به‌واسطهٔ دستگاه ایمنی سلولی انجام می‌شود و به همین علت باکتری می‌تواند از دستگاه ایمنی هومورال فرار کند. باکتری نسبت به سرما مقاومت نسبی دارد و در آب، خاک، محل تاریک و مرطوب به مدت ۲ تا ۳ ماه و در ترشحات خشک ناشی از سقط و لاشهٔ حیوانات و گوشت در یخچال زنده می‌ماند (۳، ۲). در کشورهای اروپایی، بیماری بیشتر شغلی است و در مردان شایع‌تر است. بروسلوزیس اساساً بیماری حیوانات به‌ویژه دام‌های اهلی است و انسان به‌عنوان میزبان اتفاقی می‌تواند دچار عفونت با باکتری بروسلا و مبتلا به بیماری تب مالت گردد. انتقال بیماری از انسان به انسان نادر است؛ اما انتقال از راه شیر مادر به نوزاد، پیوند اعضا و انتقال خون گزارش‌شده است. میزان بروز بیماری در انسان‌ها نشان‌دهندهٔ گسترش بیماری در حیوانات آن جامعه است؛ یعنی هرچه میزان شیوع بیماری در دام‌ها بیشتر باشد، افراد بیشتری دچار آلودگی و بیماری می‌شوند و این خود موجب افزایش هزینه‌های درمانی و ناتوان کردن افرادی مانند دام‌پروران، دامداران و دامپزشکان می‌گردد (۴). بیماری در حیوانات موجب مرگ و سقط‌جنین و کاهش وزن می‌شود و هزینه‌های اقتصادی هنگفتی در زمینهٔ تولید گوشت و شیر ایجاد می‌کند؛ همچنین نازایی در حیوانات آلوده شایع هست. تعیین میزان شیوع بروسلوزیس در نشخوارکنندگان با توجه به کاهش تولیدات دامی و خسارت‌های اقتصادی فراوان، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ بنابراین، تأثیرات منفی اقتصادی و اجتماعی ایجادشدهٔ بیماری در جمعیت‌های دامی و انسانی قابل‌توجه است (۵، ۶). در سطح جهانی، بیشتر موارد بروسلوز انسانی درنتیجهٔ بروسلا ملی تنسیس اتفاق می‌افتد که مهاجم‌ترین و بیماری‌زاترین گونه در میان گونه‌های جنس بروسلا است. معمولاً عفونت ناشی از بروسلا آبورتوس در انسان خفیف‌تر است و بروسلا کنیس کمترین تهاجم را برای انسان دارد. سازمان دامپزشکی کشور به‌عنوان متولی اصلی، طی سالیان متمادی برنامهٔ مبارزه با بروسلوز را در قالب طرح‌های ملی مبارزه با بروسلوز در دستور کار داشته است. با نظر به اهمیت دامپزشکی و پزشکی بیماری، پیشگیری و کنترل آن بسیار مهم است. با وجود معیارهای بهداشتی انجام‌شده در سال‌های اخیر، میزان بروز بیماری تب مالت همچنان رو به افزایش است و ۶۸۴۹۳ مورد تنها در طول دورهٔ مطالعاتی (۱۳۹۴-۱۳۹۰) در ایران گزارش‌شده است. بااین‌حال، به علت تغییرات در سطح تشخیص بالینی به‌عنوان نتیجهٔ بازدید نکردن پزشک (برای اشکال خفیف بیماری) تشخیص نادرست یا موفق نبودن در نگهداری سوابق دقیق گزارش موارد، تعداد موارد بروسلوزیس ممکن است درواقع چهار برابر بیشتر از نرخ به‌روز آن باشد (۷). این بیماری به علت عوارض طولانی‌مدتی که دارد، به بیماری هزارچهره معروف است. این وضعیت باعث شده است که پزشکان در تشخیص صحیح و به‌موقع آن دچار مشکل شوند و بیماران نیز دچار ناتوانایی‌های جسمی و روحی مزمن و عودکننده گردند. از یک‌سو، هزینه‌های تشخیص و درمان این بیماری بار مالی فراوانی را بر نهادهای دولتی و درمانی کشور تحمیل کرده است و از سوی دیگر، ضرر و زیان اقتصادی ناشی از معدوم کردن دام‌های آلوده نیز از پیامدهای نامطلوب این بیماری محسوب می‌شود (۸). بر اساس گزارش سازمان جهانی بهداشت، علی‌رغم اینکه سالانه حدود ۵۰۰۰۰۰ مورد بیمار مبتلا به تب مالت به این سازمان گزارش می‌گردد؛ اما تعداد بیماران شناخته‌شدهٔ تب مالت ۱۰ الی ۲۵ برابر کمتر از آمار واقعی این بیماری در جامعه است (۹). سلامت انسان‌ها توسط عوامل مختلف محیطی و ازجمله مکان زندگی آنان تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به‌گونه‌ای که

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

می‌توان گفت، مسائل مربوط به سلامت تقریباً همیشه ابعاد مکانی دارند. بررسی خصوصیات این مکان‌ها (ازجمله خصوصیات مردم‌شناختی و وجود عوامل خطر محیطی)، به‌منظور انجام مطالعات اپیدمیولوژیک بسیار حائز اهمیت است. در مطالعهٔ برخی محققان در ایران که به‌منظور کاوش قوانین وابستگی وقوع تب مالت در انسان با استفاده از داده‌کاوی ویژگی‌های مکانی پرداختند، نتایج مطالعه بیان‌کنندهٔ این واقعیت است که عوامل مکانی و غیرمکانی ازجمله دما، ارتفاع منطقه، رطوبت، سابقهٔ استفاده از لبنیات غیرپاستوریزه، سابقهٔ تماس افراد بیمار با دام‌های آلوده، شغل افراد مبتلاشده و پوشش منطقه‌ای که افراد مبتلاشده در آن زندگی می‌کنند، می‌توانند در شیوع بیماری تب مالت مؤثر باشند و افراد دارای شغل کشاورزی و دامداری در قوانین کشف‌شده، بیشترین آمار مبتلایان را به خود اختصاص داده‌اند (۱۰).

مواد و روش‌ها

این طرح تحقیقاتی از طرح‌های اولویت‌دار و اثرگذار استانی ادارهٔ کل دامپزشکی استان ایلام در سال ۱۴۰۲ است که مصوبهٔ اخلاق از کمیتهٔ تخصصی اخلاق در پژوهش‌های زیست‌پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایلام با شناسهٔ IR.MEDILAM.REC.1403.117 را دارد. این مطالعهٔ مقطعی از اسفند ۱۴۰۲ تا پایان شهریور ۱۴۰۳، با همکاری ادارهٔ کل دامپزشکی استان ایلام و کارشناسان فنی و آزمایشگاهی آن ادارهٔ کل، به‌عنوان کارفرما، کارشناسان و ناظران فنی و بهداشتی شبکهٔ دامپزشکی و شبکهٔ بهداشت و درمان شهرستان هلیلان، به‌عنوان کانون آندمیک بیماری بروسلوزیس (تب مالت انسانی) در استان ایلام، معاونت تحقیقات و فناوری و مرکز تحقیقات بیماری‌های مشترک انسان و دام دانشگاه علوم پزشکی ایلام اجرا شد.

مناطق مطالعه و نمونه‌گیری:

در این مطالعه، نمونه‌های شیر به‌صورت تصادفی از تعداد ۱۰۰۰ رأس دام شامل ۵۰ رأس گاو، ۵۰۰ رأس گوسفند و ۴۵۰ رأس بز، از دامداری‌های سنتی روستای پیازآباد شهرستان هلیلان که از کانون‌های آندمیک بیماری بروسلوز در استان ایلام است، در هر وعدهٔ شیردوشی (صبح و عصر) به‌صورت جداگانه با برچسب مشخص که حاوی مشخصات دام، دامدار و منطقهٔ نمونه‌برداری بود، جمع‌آوری گردید (جدول شمارهٔ ۱).

جدول شمارهٔ ۱. توزیع تعداد نمونه‌های جمع‌آوری‌شدهٔ شیر و نمونهٔ مثبت بروسلا در آزمایش حلقه‌ای شیر (MRT) و میزان شیوع برحسب نوع میزبان و درصد آلودگی در شهرستان هلیلان

شهرستان	نوع میزبان/ تعداد (بز)	نوع میزبان/ تعداد (گوسفند)	نمونهٔ مثبت تقریبی گوسفند و بز (درصد)	نوع میزبان/ تعداد (گاو)	تعداد نمونهٔ گاو مثبت / (درصد)
هلیلان (آندمیک)	بز/ ۴۵۰	گوسفند/ ۵۰۰	۲۰ درصد	گاو/ ۲۰	۲/۱ درصد

موقعیت جغرافیایی شهرستان هلیلان:

شهرستان هلیلان یکی از شهرستان‌های استان ایلام ایران است. مرکز این شهرستان شهر توحید است. شهرستان هلیلان از شمال با شهرستان کرمانشاه و از شمال‌غربی با شهرستان اسلام‌آباد غرب استان کرمانشاه، از شرق تا جنوب با شهرستان کوهدشت استان لرستان و از جنوب‌غربی با شهرستان چرداول همسایه است (شکل شمارهٔ ۱).

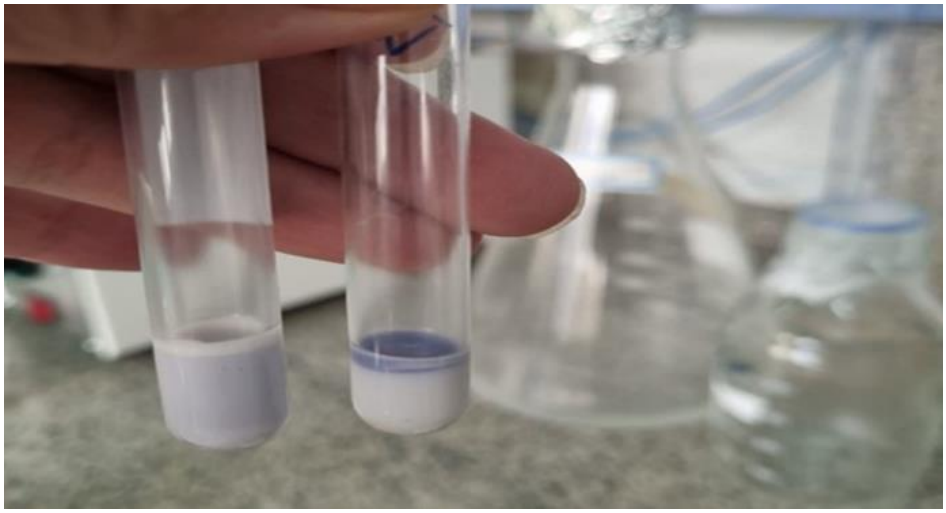
[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

شکل شمارهٔ ۱. موقعیت جغرافیایی شهرستان هلیلان، منطقهٔ آندمیک بیماری بروسلوز در استان ایلام

آزمایش حلقهٔ شیر (Milk Ring Test):

به‌منظور تشخیص اولیهٔ بیماری بروسلوز در دام و تعیین میزان شیوع و شدت آلودگی، آزمایش حلقهٔ شیر انجام شد. آنتی‌ژن بروسلا در این آزمایش، یک سوسپانسیون از ارگانیزم کشته‌شدهٔ بروسلا آبورتوس رنگ‌آمیزی‌شده با هماتوکسیلین است که حاوی ۰/۵ درصد فنل به‌عنوان نگه‌دارنده است. این آنتی‌ژن برای تشخیص وجود آنتی‌بادی علیه بروسلا در شیر استفاده می‌شود. یک میلی‌لیتر از شیر به یک لولهٔ آگلوتیناسیون به نحوی اضافه شد که ستونی از شیر به ارتفاع تقریبی ۲ سانتی‌متر ایجاد گردد. با افزودن یک قطره (۰/۰۳ میلی‌لیتر) از آنتی‌ژن MRT، محتویات لوله به مدت یک دقیقه به‌آرامی مخلوط شد؛ سپس درون انکوباتور به مدت یک تا سه ساعت در دمای ۳۷ درجهٔ سانتی‌گراد انکوبه گردید. نتایج آزمایش با تشکیل حلقهٔ رنگی سفید (منفی) و آبی (مثبت) ثبت شدند (شکل شمارهٔ ۲).

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]



شکل شمارهٔ ۲. اطلاعات توصیفی متغیرهای پژوهش

آزمایش سرولوژی رزبنگال:

از دامداری‌هایی که آزمایش حلقهٔ شیر آن‌ها مثبت شده بود، از دام‌های علامت‌دار، مشکوک، صاحبان دام‌ها و همچنین برخی از افراد بدون گله در مناطق آندمیک خون‌گیری به عمل آمد، نمونه سرم آنان جدا و آزمایش سرولوژی رزبنگال انجام گردید (شکل شمارهٔ ۳).

شکل شمارهٔ ۳. نتایج آزمایش سرمی مثبت باکتری بروسلا در تست رزبنگال با تشکیل آگلوتیناسیون

مطالعات ژنتیکی:

مطالعات ژنتیکی شامل مراحل استخراج DNA، واکنش PCR و تعیین توالی است.

استخراج DNA:

برای استخراج ژنوم به‌منظور آزمایش PCR، از نمونه‌های خون دامی و انسانی رزبنگال مثبت و تعدادی از نمونه‌های سرمی رزبنگال منفی با استفاده از کیت تخلیص DNA ژنومی (ROJE, ؛ LOT. 5037230920100440 Iran)، بر اساس دستورالعمل کیت استخراج شد. غلظت و خلوص DNA با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و غلظت آن در طول‌موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر، با استفاده از نانودراپ (Wilmington, DE, USA) ارزیابی گردید. به میکروتیوب‌های حاصل، ۱۵ میکرولیتر پروتئیناز K افزوده شد و چند ثانیه عمل ورتکس انجام گردید تا کاملاً مخلوط شدند؛ سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای C°37 انکوبه گردیدند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، ۳۰۰ میکرولیتر از ایزوپروپانول و ورتکس شد؛ سپس به مدت ۲۰ دقیقه در C°20- قرار گرفت. در ادامه، به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (۱۲۰۰۰ rpm) انجام گردید و مایع رویی دور ریخته شد. با افزودن ۳۰۰ میکرولیتر الکل ۷۰ درصد به‌آرامی و بدون ورتکس مخلوط گردید و ۱۰ دقیقه سانتریفوژ (۱۲۰۰۰ rpm) انجام و مایع رویی دور ریخته شد. پس از خشک کردن کامل میکروتیوب حاوی رسوب DNA در محیط آزمایشگاه و یا

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

در دمای C°37، به رسوب حاصله ۱۰۰- ۵۰ میکرولیتر بافر TE یا آب مقطر استریل دیونیز اضافه گردید و ورتکس کوتاهی انجام شد. نمونه‌های DNA استخراج‌شده تا زمان انجام آزمایش PCR در C°20- نگهداری گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR):

به‌منظور بررسی ژنتیکی و تعیین گونه‌های احتمالی جنس بروسلا، آزمایش مولکولی PCR با استفاده از سه جفت پرایمر اختصاصی و مشترک گونه‌های بروسلا با استفاده از ژن هدف srRNA۱۶ که در مطالعات مشابه دیگری طراحی‌شده بود، برای تکثیر قطعه‌ای از آن ژن با توالی الیگو نوکلئوتیدهای مشخص و طول قطعهٔ تکثیریافته به طول p۹۰۵ استفاده گردید (۱۱-۱۳). پرایمر ژن استفاده‌شده از شرکت ویراژن (Cat. No: 241106j2C01.Iran) تهیه شد و بر اساس دستورالعمل مربوطه، آب مقطر تزریقی به ویال آن اضافه گردید و محلول استوک با غلظت µM۱۰۰ به‌دست آمد (جدول شمارهٔ ۲). در این مطالعه، پرایمر با غلظت µM۱۰ استفاده شد. با تقسیم غلظت پرایمر برحسب گرم در لیتر بر وزن مولکولی پرایمر، غلظت آن برحسب میکرو مولار به‌دست آمد. برای انجام PCR و تکثیر قطعهٔ ژن مدنظر از DNA استخراج‌شده، پیش از شروع هر PCR، سمپلرها و تیوب‌های اپندورف مورد نیاز در دستگاه مخصوص به مدت ۵ دقیقه تحت اشعه UV قرار گرفتند و آماده‌سازی مواد PCR همواره روی یخ انجام گردید. پس از برقراری برنامهٔ PCR مناسب، روی همهٔ DNAهای استخراج‌شدهٔ مختلف (گوسفند، بز، گاو و انسان) با مخلوط مسترمیکس آمپلیکون (Vieragen, Iran; ID: 5200350-1250)، بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. تفاوت در اندازهٔ ایجادشده با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی و مقایسه با مارکر bp۱۰۰ تعیین گردید (۱۴، ۱۲). نمونه‌های مثبت گونه‌های بروسلا آبورتوس و برسلا ملی‌تنسیس از مرکز تحقیقاتی بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شد؛ همچنین نمونه‌های کنترل‌های منفی از DNAهای استخراج‌شده از نمونه‌های خون انسان، گاو، گوسفند، بز و دام‌هایی تهیه گردید که هرگز واکسینه نشده بودند و در معرض گونه‌های بروسلا قرار نگرفته بودند و بر اساس معاینات بالینی و آزمایش‌ها سرولوژیکی عاری از عفونت بروسلا بودند. تعدادی از محصولات PCR نمونه‌های دامی و انسانی برای تعیین توالی به شرکت پیشگام طب ارسال شدند. توالی‌های به‌دست‌آمده با توالی‌های ثبت‌شده در سایت NCBI بعد از BLAST مقایسه گردیدند و توسط نرم‌افزارهای مولکولی علاوه بر تعیین نوع گونهٔ عامل بیماری، ژنوتایپ غالب باکتری در دام در مناطق آندمیک بیماری (شهرستان هلیلان) و درصد مشابهت گونه‌ها (شکل شمارهٔ ۶) نیز مشخص شد.

جدول شمارهٔ ۲. مشخصات الیگونوکلئوتیدهای پرایمرهای استفاده‌شده برای انجام آزمایش PCR

پرایمر	ژن هدف	توالی پرایمر (5'->3')	اندازه باند (bp)
Brucella spp.	16SrRNA	F: CTCGGTTGCCAATATCAATGC R: GGGTAAAGCGTCGCCAGAAG	905bp
B. abortus	16SrRNA	F: GCGGCTTTTCTATCACGGTATTC R:CATGCGCTATGATCTGGTTACG	۹۰۵bp
B. melitensis	16SrRNA	F: AACAAGCGGCACCCCTAAAA R:CATGCGCTATGATCTGGTTACG	۹۰۵bp

مراحل PCR:

مقادیر مصرفی برای انجام یک آزمایش PCR از مخلوط مسترمیکس آمپلیکون با غلظت ۱/۵ میلی‌مولار کلرید منیزیم، با تنظیم برنامهٔ دمایی دستگاه ترموسایکلر برای ۳۵ سیکل انجام شد. تکثیر DNA به‌ترتیب در جداول شمارهٔ ۳ و ۴ نشان داده‌شده است. محصول PCR با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز ۱ درصد و با مارکر با وزن مولکولی bp100 ارزیابی گردید.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

جدول شمارهٔ ۳. ترکیبات واکنش PCR برای ژن SrRNA۱۶

ترکیب	حجم واکنش	غلظت نهایی
مسترمیکس	۱۲ µ	1X
پرایمر Forward (۱۰۰ pmole)	۱ µl	۱۰ µM
پرایمر Reverse (۱۰۰ pmole)	۲ µl	۱۰ µM
DNA الگو	۲ µl	۸۰ ng
DMSO	۱ µl	–
H2O دو بار تقطیر	۲ µl	–
حجم نهایی واکنش	۲۰µl	–

جدول شمارهٔ ٤. الگوی دمایی استفاده‌شده برای تکثیر ژن SrRNA۱۶ با ۳۵ سیکل تکرار

مرحله	دناتوراسیون اولیه	دناتوراسیون	اتصال	امتداد	تعداد سیکل‌ها	امتداد نهایی
دما	۷۲°C	۷۲°C	۵۶°C	۹۵°C	۳۵	۹۵°C
زمان	۵ دقیقه	۱ دقیقه	۳۰ ثانیه	۱ دقیقه		

تعیین توالی و آنالیز:

تعداد ۱۷ نمونه از محصولات PCR منتخب شامل ۱۶ نمونهٔ دامی و یک نمونهٔ انسانی با استفاده از کیت خالص‌سازی محصول PCR (شرکت GeneAll، کره جنوبی) خالص‌سازی شدند و برای تعیین توالی به همراه پرایمرهای رفت‌وبرگشت به شرکت پیشگام طب ارسال گردیدند. این شرکت با استفاده از روش Dideoxy Chain Terminators، تعیین توالی را انجام داد. پس از دریافت فایل‌های مربوط به تعیین توالی، با استفاده از نرم‌افزار Sequencher به استخراج اطلاعات به‌صورت فایل‌هایی با پسوند Fasta اقدام شد. در مرحلهٔ بعد، با استفاده از ابزار جستجوی هم‌ترازی پایه (Blast در سایت NCBI)، میزان مشابهت داده‌های به‌دست‌آمده با موارد ثبت‌شده در بانک ژن انجام گردید (۱۵). آنالیز مشابهت سکانس پروفایل‌های مربوط به ژن SrRNA۱۶ به‌دست‌آمده از میزبان‌های مطالعه‌شده با توالی ژن‌های مرجع گونه‌های بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی‌تنسیس با استفاده از برنامهٔ Multialignment (http://www.multalin.toulouse.inra.fr/multalin/cgi-bin/multalin.pl) صورت گرفت. به‌منظور هم‌ترازی پیشرفته، از (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2) MEGA vol.6 استفاده گردید.

هم‌ترازی پیشرفته:

پس از هم‌ترازی پایه، به‌منظور شناسایی نواحی متغیر و نواحی حاوی اطلاعات توالی‌های موجود، هم‌ترازی پیشرفته انجام شد. هم‌ترازی توالی جدایه‌های باکتری (گوسفند، بز و انسان) به‌وسیلهٔ نرم‌افزار هم‌ترازی پیشرفته ClustalW2 سایت EBI (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/) انجام گردید (۱۴).

مقایسهٔ سکانس‌ها با یکدیگر و با سکانس‌های مرجع:

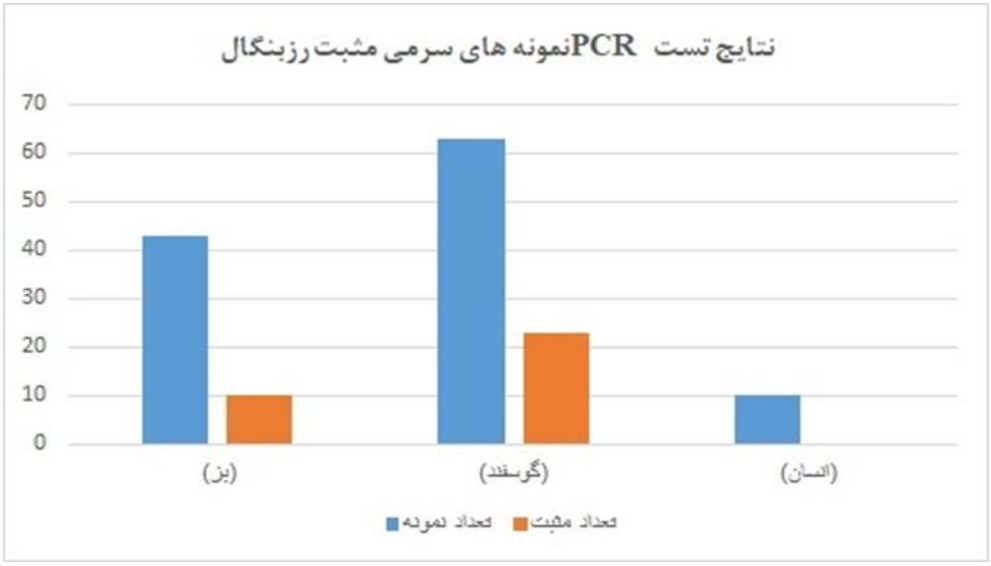
میزان شباهت سکانس‌های میزبان‌های این مطالعه با یکدیگر و همچنین با توالی‌های مرجع با استفاده از نرم‌افزار EMBOSS Matcher (http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2) مقایسه شد و تعداد نوکلئوتیدهای مشترک و متفاوت مشخص گردید (۱۵).

یافته‌های پژوهش

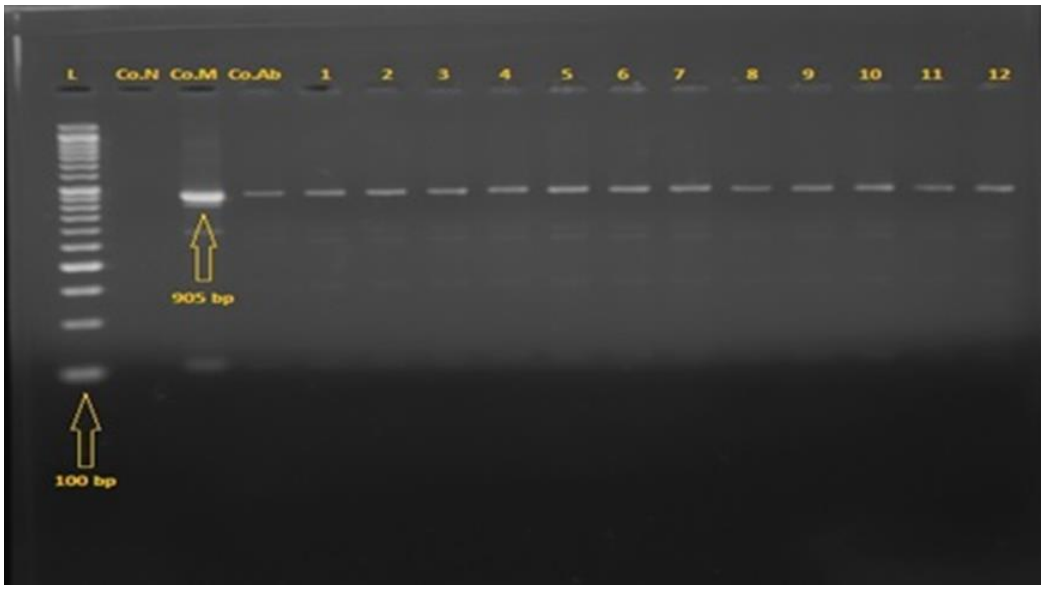
در این مطالعهٔ مقطعی، از مجموع ۹۵۰ نمونهٔ شیر دام سبک، تعداد ۱۴۰ رأس گوسفند (۲۸ درصد)، ۶۰ رأس بز (۱۳/۳ درصد) و از مجموع ۵۰ نمونهٔ گاو، یک رأس (۲ درصد) در آزمایش حلقه‌ای شیر (رینگ تست) از نظر

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

آلودگی به باکتری بروسلا مثبت تشخیص داده شدند. از جمع تعداد ۱۳۹ نمونهٔ خون شامل ۱۰ رأس گاو، ۶۳ رأس گوسفند، ۴۳ رأس بز و ۲۳ نفر انسان، تعداد ۲۳ رأس گوسفند (۳۶/۵ درصد)، ۱۰ رأس بز (۲۳/۸ درصد) و ۸ نفر انسان (۳۴/۷۸ درصد) در آزمایش غربالگری سرولوژی رزبنگال مثبت شناسایی گردیدند. هیچ‌کدام از نمونه‌های گاوی در آزمایش سرمی رزبنگال مثبت ارزیابی نشد. میزان شیوع سرمی آلودگی درمجموع گوسفند و بز (۳۸/۱درصد) برآورد گردید. از تعداد ۲۳ رأس گوسفند، ۱۰ رأس بز و ۸ نفر انسان سرولوژی مثبت، به‌ترتیب در آزمایش PCR، ۷ رأس گوسفند (۳۰/۴۳ درصد)، ۲ رأس بز (۲۰ درصد) و ۱ نفر انسان (۱۲/۵ درصد) به‌عنوان نمونهٔ مثبت تشخیص داده شدند (شکل شمارهٔ ۴). تعداد ۵ نمونهٔ گوسفند و ۲ نمونهٔ بز سرولوژی منفی در آزمایش PCR نیز مثبت گردیدند. اندازهٔ قطعات تکثیریافته همهٔ ایزوله‌های انسانی و دامی در PCR برای ژن SrRNA۱۶ دارای باندهای مشابه و برابر bp905 بود (شکل شمارهٔ ۵).



شکل شمارهٔ ٤. نتایج تست PCR نمونه‌های سرمی رزبنگال مثبت انسان و دام

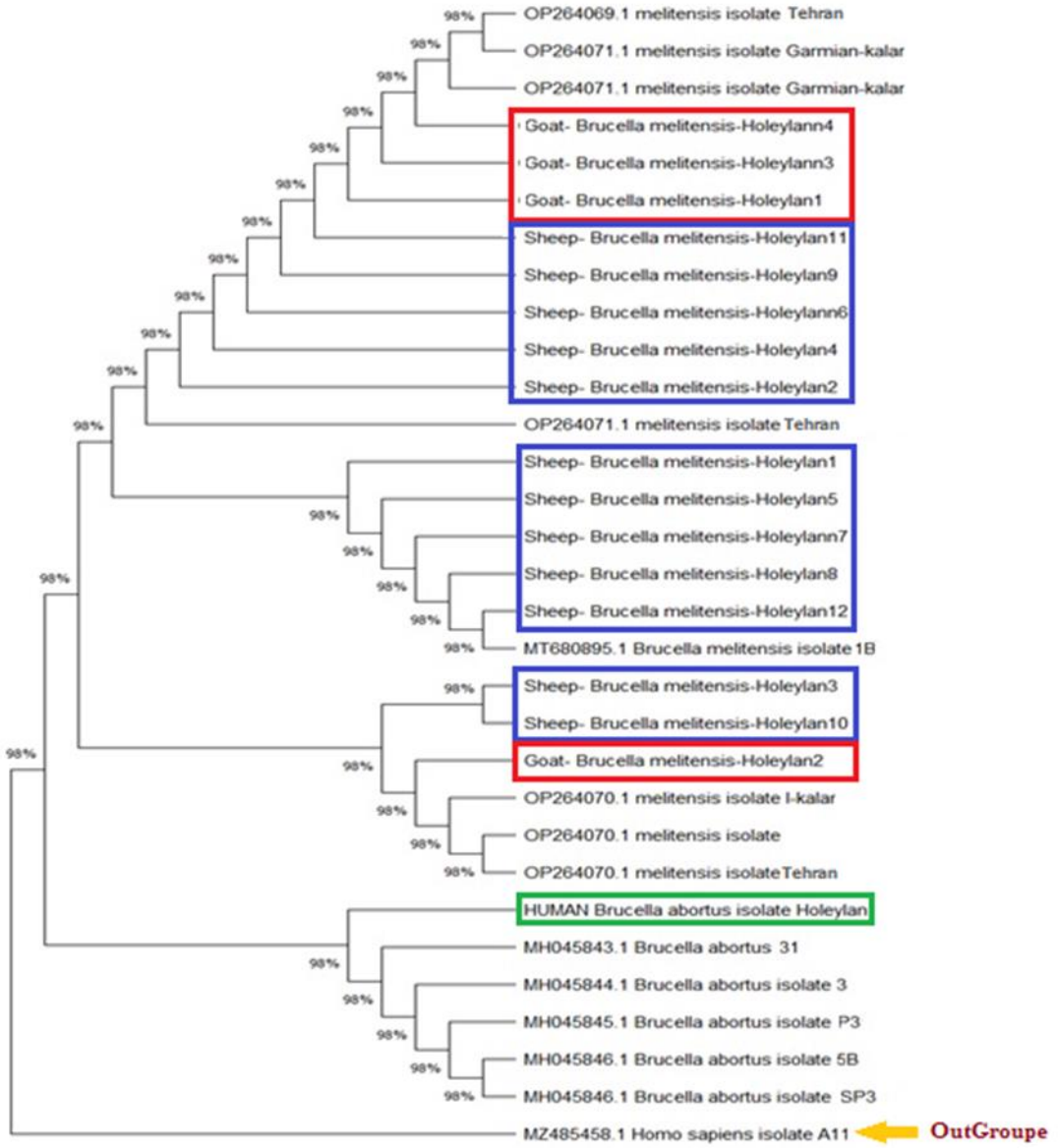


شکل شمارهٔ ۵. نتایج PCR ژن SrRNA۱۶ باکتری بروسلا روی ژل آگارز ۱ درصد. ستون L . مارکر bp100؛ Co.N. کنترل منفی؛ Co.M. کنترل مثبت بروسلا ملی‌تنسیس؛ Co.Ab. کنترل مثبت بروسلا آبورتوس؛ ستون‌های شمارهٔ ۶-۱. نمونه‌های گوسفند؛ ۱۱-۷. نمونه‌های بز و شمارهٔ ۱۲. نمونهٔ انسانی از شهرستان هلیلان

نتایج تعیین توالی و ترسیم درخت فیلوژنی: نتایج مصور کردن هم‌ترازی پیشرفتهٔ ایزوله‌های گوسفند، بز و انسان

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

و ترسیم درخت فیلوژنی حاکی از هم‌پوشانی، یکسان بودن و میزان مشابهت ۹۸ درصدی ژنوتیپ‌های نمونه‌های بروسلا آبورتوس و بروسلا ملی‌تنسیس در مطالعهٔ حاضر بود. بروسلا ملی‌تنسیس ژنوتایپ غالب دامی در شهرستان هلیلان است. (شکل شمارهٔ ۶).



شکل شمارهٔ ٦. درخت فیلوژنی گونه‌های بروسلا در ایزوله‌های مطالعه‌شدهٔ انسانی و دامی بر اساس ژن ۱۶SrRNA با استفاده از روش Neighbor-Joining با ۱۰۰۰ تکرار

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعهٔ حاضر با عنوان تعیین گونهٔ غالب عامل بیماری بروسلوز انسانی و دامی به روش مولکولار در شهرستان هلیلان، از مناطق آندمیک بیماری از توابع استان ایلام انجام شد. با توجه به این موضوع که تعداد نمونه‌های مثبت انسانی به‌دست‌آمده در این مطالعه اندک بود؛ بنابراین نمی‌توان به‌درستی دربارهٔ ژنوتایپ غالب انسانی اظهارنظر کرد و نیازمند مطالعات بیشتر در آینده است؛ اما بروسلا ملی‌تنسیس ژنوتایپ غالب دامی در شهرستان هلیلان است. بیماری تب مالت به‌عنوان تهدید بالقوهٔ بهداشت عمومی شهروندان محسوب می‌گردد. این بیماری همچنان به‌عنوان یک مسئلهٔ مهم بهداشتی و اقتصادی مطرح است. با توجه به میزان شیوع متفاوت بیماری در مناطق مختلف استان ایلام که قطعاً برآورد آن آمار احتمالی از دسترس این مطالعه خارج بود و

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

زیان‌های اقتصادی و مشکلات بهداشتی قابل‌توجه ناشی از آن و عوامل مختلف تأثیرگذار بر میزان شیوع بیماری و نحوهٔ توزیع فضایی آن، مطالعه و بررسی بیشتر دربارهٔ این بیماری برای کنترل آن ضروری به‌نظر می‌رسد. با توجه به اهمیت موضوع و اینکه این مطالعهٔ مولکولی برای اولین بار در استان ایلام هم در دام و هم صاحب دام در مناطق شایع به‌صورت یکجا توسط این تحقیق انجام شد، اگرچه مطالعات مولکولی بسیار محدودی در بیمارستان‌های انسانی در شهر ایلام نیز انجام گردیده است (۱۶). در مطالعهٔ حاضر، وضعیت گسترش ژنوتیپ‌های گونه‌های بروسلای آلوده‌کنندهٔ انسان و دام در سطح منطقه مشخص شد و گونهٔ بروسلا ملی‌تنسیس به‌عنوان گونهٔ غالب دامی استان ایلام شناسایی گردید و حساسیت گوسفند نسبت به بز برای ابتلای به بیماری بروسلوز بیشتر بود. در حال حاضر، تشخیص بروسلوز بر اساس جداسازی بروسلا یا کشف پاسخ ایمنی به‌وسیلهٔ روش‌های سرولوژیک کلاسیک یا حضور یافته‌های بالینی شاخص قرار دارد (۱۶). شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌ها بر اساس تجزیه‌وتحلیل انواع فراوانی از صفات متشکل از سرولوژی، نیازهای رشد و فنوتیپ بیوشیمیایی و مولکولی انجام می‌شود. در مطالعهٔ انجام‌شده در ایلام، با انجام آزمایش سرولوژی و PCR با دو ژن متفاوت I6SrRNA و L12/L7 مشخص گردید که حساسیت تست PCR در مقایسه با رزبنگال ۱۰۰ درصد است که با یافته‌های مطالعهٔ حاضر نیز همخوانی دارد (۱۶). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ به‌منظور تشخیص بروسلوز با روش‌های مولکولی PCR و سرولوژی انجام شد، مشخص گردید که روش تشخیصی PCR حساسیت و اختصاصیت ۱۰۰ درصد دارد، درحالی‌که روش‌های سرولوژی حدود ۹۸ درصد حساسیتی نشان دادند که با نتایج مطالعهٔ حاضر همخوانی ندارد (۱۷). علت عمدهٔ ناهمخوانی نتایج مطالعهٔ حاضر با مطالعهٔ دیگر محققان در مقایسهٔ حساسیت بالای تست PCR در تشخیص بروسلوز، شاید به این سبب است که بیماران بررسی‌شده در مطالعات آنان در فاز حاد بیماری بوده‌اند و تعداد باکتری‌های در هر میلی-لیتر بیش از 715 CUF داشتند. علت عمدهٔ دیگری که نتایج تست غربالگری رزبنگال در مطالعهٔ حاضر برای تعدادی از نمونه‌های انسانی و دامی مثبت گزارش گردید؛ اما در آزمایش PCR منفی شدند، به‌سبب واکنش متقاطعی است که بروسلوز با دیگر بیماری‌های عفونی دارد که نشان از حساسیت بالای آزمایش PCR در مقایسه با دیگر تست‌های سرولوژی در تشخیص بروسلوز (تب مالت) دارد. نتیجهٔ تعیین توالی مطالعهٔ حاضر نشان داد که گونه غالب بروسلا در شهرستان هلیلان گونهٔ بروسلا ملی‌تنسیس است که با مطالعات قبلی انجام‌شده (۱۸، ۱۶) به‌ترتیب در ایلام و اصفهان، با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم‌های اختصاصی انجام‌شده بود، میزان شیوع بروسلا ملی‌تنسیس نسبت به بروسلا آبورتوس بیشتر بود. تمایز باکتری‌های مرتبط نزدیک به هم با مشابهت بالا در ژنوم توسط ژن‌های SrRNA۱۶ و bscp31 اثبات‌شده است (۱۹). نتایج تجزیه‌وتحلیل فیلوژنی مطالعهٔ حاضر بر اساس ژن SrRNA۱۶، علاوه بر مشخص کردن میزان همولوژی ۹۸ درصدی DNA بروسلا برای همهٔ ایزوله‌های انسانی و دامی، قابلیت آن را نیز برای تشخیص و تمایز گونه‌های بروسلا از باکتری‌های دیگر نشان داد که با نتایج مطالعهٔ دیگر محققان همخوانی دارد (۱۴). مطالعهٔ شفیعی و همکاران در سال ۲۰۱۲ در استان کردستان با ۶۰ نمونه شیر گاو مشکوک به بروسلوز، میزان آلودگی را ۳۳/۴ درصد با روش PCR مثبت گزارش کرد که با مطالعهٔ حاضر تا حدودی همخوانی دارد (۲۰). در مطالعهٔ مولکولی انجام‌شدهٔ شمس و همکاران در شهرستان خرم‌آباد در سال ۲۰۱۷، به روش PCR از مجموع ۱۲۰ نمونهٔ شیر خام غیرپاستوریزهٔ مورد آزمایش، ۱۰ درصد نمونه‌ها آلوده به بروسلا آبورتوس گزارش شدند (۲۱). علت تفاوت در میزان شیوع و آلودگی به بروسلا در این مطالعه با مطالعات دیگری می‌تواند در روش‌های جداسازی و تشخیصی (کشت و سرولوژی با روش‌های مولکولی)، موقعیت جغرافیایی و گسترش بیوواراها در دام‌ها و ناقلان گوناگون باشد که به‌عنوان میزبانان این میکروارگانیسم‌ها هستند. ظهور کلنی‌های مقاوم باکتریایی و مولد بتالاکتامازهای گسترده در دام‌های یک ناحیه و استفادهٔ بی‌رویهٔ مدیریت نشدهٔ آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های گوناگون عفونی در

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

دام‌های بررسی‌شده می‌تواند از دیگر عوامل تأثیرگذار در نتایج مطالعات ازجمله مطالعهٔ حاضر باشد؛ همچنین باید در نظر داشت که حضور سویه‌های متفاوت و جدید به‌عنوان عوامل عفونی می‌تواند به‌احتمال فراوان با قدرت بیماری‌زایی سویه‌ها در ارتباط باشد که این امر کنترل بروسلوزیس در کشور را پیچیده‌تر می‌کند؛ بنابراین، استفاده از روش‌های تشخیص مولکولی ازجمله PCR می‌توان یک سیاست کارآمد و مناسب برای شناسایی سویه‌های بروسلا مولد عفونت و اجتناب از معایب روش‌های سرولوژی سنتی دانست (۲۳، ۲۲).

پیشنهادهای راهبردی برای تحقق ظرفیت‌ها و بهره‌مندی از مزایای طرح یادشده به‌منظور پیاده‌سازی برنامه‌های کنترلی و پیشگیری از بیماری در نظام جامع سلامت کشور: با توجه به اینکه خطر انتقال عفونت به انسان تهدیدی برای بهداشت عمومی محسوب می‌شود؛ بنابراین، تعیین میزان شیوع آلودگی در نشخوارکنندگان از اهمیت بسیاری برخوردار است؛ زیرا موجب کاهش تولید در دام و خسارت‌های اقتصادی می‌گردد. علاوه بر این، با مشخص شدن گونهٔ غالب بیماری، علاوه بر تکمیل نقشهٔ ژنی و ایجاد بانک اطلاعات بیماری می‌توان سیاست‌های درست پیشگیری و ریشه‌کنی در منطقه اتخاذ کرد. با توجه به مجاورت این شهرستان با استان‌های کرمانشاه و لرستان، به‌عنوان کانون‌های جغرافیایی آلوده و داشتن چراگاه‌های مشترک دامی با این استان‌ها، همچنین نقل‌وانتقال دام و فرآورده‌های دامی میان ساکنان مجاور در این استان‌ها، مصرف مواد لبنی و محصولات دامی که بیشتر به‌صورت غیربهداشتی در کنار تماس افراد با دام از نزدیک، به علت زندگی عشایری و دام‌پروری سنتی در این ناحیه می‌تواند شیوع بروسلوز را در این منطقه بیش‌ازپیش تشدید کند. با توجه به اهمیت باکتری عامل بیماری از نظر پزشکی و دامپزشکی و ژئونوتیک بودن آن، پیشگیری و کنترل دارای اهمیت فراوانی دارد. برای تدوین برنامهٔ کنترل و پیشگیری از این انگل در نقاط مختلف کشور، موارد زیر پیشنهاد می‌گردد:

انجام اقدامات بهداشتی و دامپزشکی و برقراری پست‌های قرنطینه و کنترل ورود و خروج دام؛

انجام مطالعات سرولوژیک اختصاصی در حیوانات علفخوار به‌منظور تعیین میزان آلودگی؛

• انجام واکسیناسیون با استفاده از واکسن تخفیف حدت‌یافته؛

• جابه‌جا کردن حیوانات زمانی که بیماری مشاهده‌شده است در برخی گروه‌های حیوانات، برای پیشگیری از بیماری در گروه دیگر؛

• محدود کردن جابه‌جایی حیوانات وقتی‌که بیماری رخ داده است؛

• ضدعفونی و رعایت اصول احتیاطی، بهبود محیط، مدیریت و تغذیه؛

• اصلاح نژاد ژنتیکی و گزینش نژادهای مقاوم؛

• افزایش سطح آگاهی و دانش مردم از میزان بروز و شیوع باکتری در مناطق مختلف، به‌ویژه جمعیت روستانشین از طریق اجرای برنامه‌های آموزشی و رسانه‌های جمعی به‌منظور ارتقای سطح اطلاعات و عملکرد مناسب افراد دربارهٔ مصرف شیر و فراورده‌های لبنی پاستوریزه، گوشت و فرآورده‌های گوشتی تحت نظارت کارشناسان و بازرسان دامپزشکی به‌منظور پیشگیری از ابتلای به بیماری؛

• برگزاری کارگاه‌ها، دوره‌های آموزشی و برنامه‌های توجیهی به‌منظور آشناسازی روستاییان و خانواده‌های عشایری با مخاطرات ایجادشده در جمعیت‌های دامی و انسانی؛

• بیماری رابطهٔ نزدیک با صنعت دام‌پروری دارد و بسته به عوامل مختلف، کنترل و یا ریشه‌کنی بیماری مشکل اما امکان‌پذیر است. برای پیشگیری و مبارزهٔ موفق، مشارکت، همکاری و همیاری شبکه‌های بهداشت دانشگاه علوم پزشکی، سازمان حفاظت و محیط‌زیست با شبکه‌های دام‌پزشکی در شهرستان‌ها و استان بسیار ضروری است؛

• حیات‌وحش به‌عنوان مخزن بیماری، نقش اساسی در انتقال و انتشار بیماری دارد؛ بنابراین، سازمان حفاظت و محیط‌زیست می‌تواند نقش کلیدی و باارزش در کنترل بیماری داشته باشد؛

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

• تأسیس بانک ژن اطلاعاتی باکتری در ایلام به‌منظور تکمیل نقشهٔ ژن.

سپاس‌گزاری

از همه همکاران محترم و همچنین مرکز تحقیقات بیماری های مشترک انسان و دام (زئونوز) دانشگاه علوم پزشکی ایلام که در اجرای این طرح، مساعدت داشتند کمال تشکر و امتنان دارد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافعی در این مقاله وجود ندارد.

کد اخلاق

این مقاله با تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی ایلام با کد اخلاق IR.MEDILAM.REC.1403.117 انجام شده است.

حمایت مالی

هزینه اجرای این طرح از محل اعتبارات (گرنت) استانی اداره کل دامپزشکی استان ایلام در سال ۱۴۰۳ تأمین گردید.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در جمع آوری نمونه ها، انجام آزمایشات، تجزیه و تحلیل داده ها،نوشتار و تایید نهایی نقش داشته اند.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

References

1. Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sánchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with Brucella melitensis infection a study of 530 cases. Medicine. 1996; 75:195-211. doi: 10.1097/00005792-199607000-00003.
2. Archambaud C, Salcedo SP, Lelouard H, Devilard E, de Bovis B, Van Rooijen N, et al. Contrasting roles of macrophages and dendritic cells in controlling initial pulmonary Brucella infection. Eur J Immunol. 2010; 40:3458-71. doi: 10.1002/eji.201040497.
3. Arenas GN, Staskevich AS, Aballay A, Mayorga LS. Intracellular trafficking of Brucella abortus in J774 macrophages. Infect Immun. 2006; 68:4255-63. doi: 10.1128/iai.68.7.4255-4263.2000.
4. Barquero-Calvo E, Chaves-Olarte E, Weiss DS, Guzmán-Verri C, Chacón-Díaz C, Rucavado A, et al. Brucella abortus uses a stealthy strategy to avoid activation of the innate immune system during the onset of infection. PLoS One. 2007;2: e631. doi: 10.1371/journal.pone.0000631.
5. Colmenero JD, Reguera JM, Martos F, Sánchez-De-Mora D, Delgado M, Causse M, et al. Complications associated with B. melitensis infection a study of 530 cases. Medicine. 1996; 75:195-211. doi: 10.1097/00005792-199607000-00003.
6. Corbel MJ. Brucellosis: an overview. Emerg Infect Dis.1977; 3:213-21. doi: 10.3201/eid0302.970219.33.
7. Moosazadeh M, Nikaeen R, Abedi G, Kheradmand M, Safiri S. Epidemiological and clinical features of people with Malta fever in Iran: A systematic review and meta-analysis. Osong Public Health Res Perspect. 2016; 7:157-67. doi: 10.1016/j.phrp.2016.04.009.
8. Hatami H. Epidemiology of Brucellosis. 2th Iranian National Brucellosis Con. Shahid Beheshti Uni Med Sci. 2009; 31-6. (Persian).
9. Babaei V, Garmarodi GH, Batebi A, Alipour D. The effectiveness of an educational intervention based on the health belief model in the empowerment of stockbreeders against high-risk behaviors asso-ciated with brucellosis. Commun Edu Health. 2014; 1:12-19. doi:10.20286/jech-010370.
10. Abbasi M, Karimipur F, Gholipur S. Detection of the Association Rules of the Occurrence of Brucellosis in Humans Using Spatial Data Mining. Depiction Health. 2020; 11:20-30.
11. Probert WS, Schrader KN, Khuong NY, Bystrom SL, Graves MH. Real-Time Multiplex PCR assay for detection of Brucella spp., B. abortus and B. melitensis. J Clin Microbiol. 2004;42: 1290-3. doi: 10.1128/JCM.42.3.1290–1293.2004.
12. Kim HN, Hur M, Moon HW, Shim HS, Kim H, Ji M, et al. First case of human brucellosis caused by Brucella melitensis in Korea. Ann Lab Med. 2016; 36:390-2. doi: 10.3343/alm.2016.36.4.390.
13. Yu WL, Nielsen K. Review of detection of Brucella spp. by polymerase chain reaction. Croat Med J. 2010; 51:306-13. doi:10.3343/alm.2016.36.4.390.
14. Bazrgari N, Garoosi GH, Dadar M. Genetic diversity and phylogenetic relationship of clinical isolates of B. melitensis based on gene polymorphism of β subunit of RNA polymerase (rpoB) gene in Iran. Iran J Med Microbiol. 2020;14: 425-440. doi:10.30699/ijmm.14.5.425.
15. Tamura K, Stecher G, Peterson D, Filipski A, Kumar S. MEGA6: molecular evolutionary genetics analysis version 6.0. Mol Biol Evol. 2013; 30:2725-9. doi:10.1093/molbev/mst197.
16. Pakzad I. Comparison of diagnosis of brucellosis in humans by PCR using L7/L12, 16srRNA genes and serological methods. Arack J Med Sci. 2012; 14:31-9.
17. Nimri L. Diagnosis of recent and relapsed cases of human brucellosis by PCR assay. BMC Infect Dis. 2003; 3:5. doi: 10.1186/1471-2334-3-5.
18. Gholipur A, Abtehaj P, Tamiziefar H, Salehi M. Determination of common B. melitenensis biotypes in Isfahan city by biochemical and PCR-RFLP methods. Tesis. Isfahan Med Sci,2008. (Persian).
19. Shijun Li, Ying Liu, Yue Wang, Ming Wang, et al. Rapid Detection of Brucella spp. and Elimination of carryover using multiple cross displacement amplification coupled with nanoparticles-based lateral flow biosensor. Front Cell Infect Microbiol. 2019; 9:1-11. doi: 10.3389/fcimb.2019.00078.
20. Shafeie B, Ahmadi M, Dastmalchi Saei H. Diagnosis of B. abortus and B. melitensis in the milk of cattle and Sheep in Kordestan province by polymerase chain reaction. J Vet Microbiol. 2012; 8:127-35.
21. Shams N, Jaidari A, Etemadfar L. Molecular detection of B. abortus and B. melitensis in raw and unpasteurized bulk Cow milk tanks of traditional domestic dairy sale centres in Khorramabad. Iran J Med Microbiol. 2017;11: 13-20. (Persian).
22. Alizadehmofrad F, Parvini M. Evaluation and Diagnosis of Speciesand Biovars of Brucella among cattles by Multiplex Polymerase Chain Reaction. Iranian J Med Microbiol. 2017; 11:107-14.
23. Armanfar H, Tukmechi A. Serum prevalence of brucellosis based on history of abortion in

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]

sheep and goeat using serological tests in Piranshahr. J Anim Health Infect Dis. 2024; 1:51-6. doi:10.22034/jahid.2024.711202.

[Downloaded from sjimu.medilam.ac.ir on 2025-10-05]