

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

Mehdi Shokri¹ , Razi Naserifar² , Shahab Flahi² , Saeed Khoshnod³ , Ali Jalilian⁴ ,
Ebrahim Babaahmadi⁵ , Somayeh Chamanara⁶ , Mohammad Hossien Ebrahimpour⁶ ,
Heshmatola Alirahmi⁶ , Jalal Naseri⁶ , Elahe Alivaysi⁷ , 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

ABSTRACT

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

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 Piazh 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

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.

تعیین گونه غالب عامل بروسلوژیس انسانی و دامی در مناطق آندمیک استان ایلام

مهدی شکری^۱ ID، راضی ناصری فر^۲ ID، شهاب فلاحی^۲ ID، سعید خشنود^۳ ID، علی جلیلیان^۴ ID، ابراهیم بابااحمدی^۵ ID، سمیه چمن آرا^۶ ID، محمد حسین ابراهیم پور^۶ ID، حشمت اله علی رحیمی^۶ ID، جلال ناصری^۶ ID، الهه علی ویسی^۷ ID، فریبا شکری^{۸*} ID، مرتضی شمس^{۲*} ID

^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 بیماری ها، دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ایلام، ایران
^۵ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرامپزشکی، دانشگاه علوم پزشکی 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

چکیده

اطلاعات مقاله

مقدمه: بروسلوژیس یکی از مهم ترین بیماری های مشترک انسان و حیوان در ایران و جهان است. هدف از انجام این مطالعه تعیین گونه غالب عامل بروسلوژیس انسانی و دامی در شهرستان هلیلان، از مناطق آندمیک بیماری در استان ایلام است.

نوع مقاله: پژوهشی

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی-توصیفی طی ماه های فروردین تا شهریور ۱۴۰۳، در مجموع ۱۰۰۰ نمونه شیر خام غیرپاستوریزه ۵۰ رأس گاو، ۵۰۰ رأس گوسفند و ۴۵۰ رأس بز از دامداری های سنتی روستای پیازآباد شهرستان هلیلان جمع آوری شد. در این مطالعه، تعداد ۱۰ نمونه خون از گاو، ۶۳ نمونه از گوسفند و ۴۳ نمونه از بز مشکوک به بروسلوژی ۲۳ نفر انسان اخذ گردید؛ سپس نمونه ها توسط تست های حلقه ای شیر و رزبنگال از نظر وجود آنتی بادی ضد بروسلا غربالگری شدند. نمونه های سروپوزیتو با مجموعه ای از پرایمرهای اختصاصی برای بروسلا آبتورتوس و بروسلا ملی تنسیس توسط آزمون PCR آزمایش گردیدند. تعداد ۱۷ نمونه از محصولات PCR تعیین توالی شدند.

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

یافته های پژوهش: نتایج آزمایش حلقه ای 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 نمونه 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 همه نمونه ها 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 گونه غالب دامی بود.

بحث و نتیجه گیری: بروسلا ملی تنسیس گونه 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 می سازد. این اطلاعات دلیلی بر اهمیت کنترل همه گیرشناسانه و پیشگیری در بخش های دام پزشکی و پزشکی است.

واژه های کلیدی: تب مالت، هلیلان، آندمیک، بروسلا آبتورتوس، بروسلا ملی تنسیس، PCR

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

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

مقدمه

بروسلوزیس (تب مالت) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های عفونی مشترک (زئونوز) قابل انتقال میان انسان و حیوان است که به وسیله باکتری‌هایی از جنس بروسلا ایجاد می‌شود که کوکوباسیل‌های گرم منفی، اختیاری داخل سلولی، بی حرکت، 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 آلوده حیوانی (به ویژه شیر و فراورده‌های آن، گوشت و فراورده‌های آن و فست فودها) به طور مستقیم به انسان منتقل می‌شود (۱). پاسخ به بروسلوزیس به واسطه 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 لاشه 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 به ویژه دام‌های اهلی است و انسان به عنوان 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 گزارش شده است. میزان بروز بیماری در انسان‌ها نشان‌دهنده 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 سقط جنین و کاهش وزن می‌شود و هزینه‌های اقتصادی هنگفتی در زمینه 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 ایجادشده بیماری در جمعیت‌های دامی و انسانی قابل توجه است (۵، ۶). در سطح جهانی، بیشتر موارد بروسلوز انسانی در نتیجه 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 کیس کمترین تهاجم را برای انسان دارد. سازمان دامپزشکی کشور به عنوان متولی اصلی، طی سالیان متمادی برنامه 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 دوره مطالعاتی (۱۳۹۴-۱۳۹۰) در ایران گزارش شده است. با این حال، به علت تغییرات در سطح تشخیص بالینی به عنوان نتیجه بازدید نکردن پزشک (برای اشکال خفیف بیماری) تشخیص نادرست یا موفق نبودن در نگهداری سوابق دقیق گزارش موارد، تعداد موارد بروسلوزیس ممکن است در واقع چهار برابر بیشتر از نرخ به روز آن باشد (۷). این بیماری به علت عوارض طولانی مدتی که دارد، به بیماری هزارچهره معروف است. این وضعیت باعث شده است که پزشکان در تشخیص صحیح و به موقع آن دچار مشکل شوند و بیماران نیز دچار ناتوانایی‌های جسمی و روحی مزمن و عودکننده گردند. از یک سو، 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 شناخته‌شده تب مالت ۱۰ الی ۲۵ برابر کمتر از آمار واقعی این بیماری در جامعه است (۹). سلامت انسان‌ها توسط عوامل مختلف محیطی و از جمله مکان زندگی آنان تحت تأثیر قرار می‌گیرد، به گونه‌ای که

زیست پزشکی دانشگاه علوم پزشکی ایلام با شناسه IR.MEDILAM.REC.1403.117 را دارد. این مطالعه ۱۴۰۲ تا پایان شهریور ۱۴۰۳، با همکاری اداره کل دامپزشکی استان ایلام و کارشناسان فنی و آزمایشگاهی آن اداره کل، به عنوان کارفرما، کارشناسان و ناظران فنی و بهداشتی شبکه دامپزشکی و شبکه بهداشت و درمان شهرستان هلیلان، به عنوان کانون آندمیک بیماری بروسولوزیس (تب مالت انسانی) در استان ایلام، معاونت تحقیقات و فناوری و مرکز تحقیقات بیماری های مشترک انسان و دام دانشگاه علوم پزشکی ایلام اجرا شد.

مناطق مطالعه و نمونه گیری:

در این مطالعه، نمونه های شیر به صورت تصادفی از تعداد ۱۰۰۰ رأس دام شامل ۵۰ رأس گاو، ۵۰۰ رأس گوسفند و ۴۵۰ رأس بز، از دامداری های سنتی روستای پیازآباد شهرستان هلیلان که از کانون های آندمیک بیماری بروسولوز در استان ایلام است، در هر وعده شیردوشی (صبح و عصر) به صورت جداگانه با برچسب مشخص که حاوی مشخصات دام، دامدار و منطقه نمونه برداری بود، جمع آوری گردید (جدول شماره ۱).

می توان گفت، مسائل مربوط به سلامت تقریباً همیشه ابعاد مکانی دارند. بررسی خصوصیات این مکان ها (از جمله خصوصیات مردم شناختی و وجود عوامل خطر محیطی)، به منظور انجام مطالعات اپیدمیولوژیک بسیار حائز اهمیت است. در مطالعه برخی محققان در ایران که به منظور کاوش قوانین وابستگی وقوع تب مالت در انسان با استفاده از داده کاوی ویژگی های مکانی پرداختند، نتایج مطالعه بیان کننده این واقعیت است که عوامل مکانی و غیر مکانی از جمله دما، ارتفاع منطقه، رطوبت، سابقه استفاده از لبنیات غیر پاستوریزه، سابقه تماس افراد بیمار با دام های آلوده، شغل افراد مبتلا شده و پوشش منطقه ای که افراد مبتلا شده در آن زندگی می کنند، می توانند در شیوع بیماری تب مالت مؤثر باشند و افراد دارای شغل کشاورزی و دامداری در قوانین کشف شده، بیشترین آمار مبتلایان را به خود اختصاص داده اند (۱۰).

مواد و روش ها

این طرح تحقیقاتی از طرح های اولویت دار و اثر گذار استانی اداره کل دامپزشکی استان ایلام در سال ۱۴۰۲ است که مصوبه اخلاق از کمیته تخصصی اخلاق در پژوهش های

جدول شماره ۱. توزیع تعداد نمونه های جمع آوری شده شیر و نمونه مثبت بروسلا در آزمایش حلقه ای شیر (MRT) و میزان شیوع بر حسب نوع میزان و درصد آلودگی در شهرستان هلیلان

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

هلیلان از شمال با شهرستان کرمانشاه و از شمال غربی با شهرستان اسلام آباد غرب استان کرمانشاه، از شرق تا جنوب با شهرستان کوهدشت استان لرستان و از جنوب غربی با شهرستان چرداول همسایه است (شکل شماره ۱).

موقعیت جغرافیایی شهرستان هلیلان:

شهرستان هلیلان یکی از شهرستان های استان ایلام ایران است. مرکز این شهرستان شهر توحید است. شهرستان

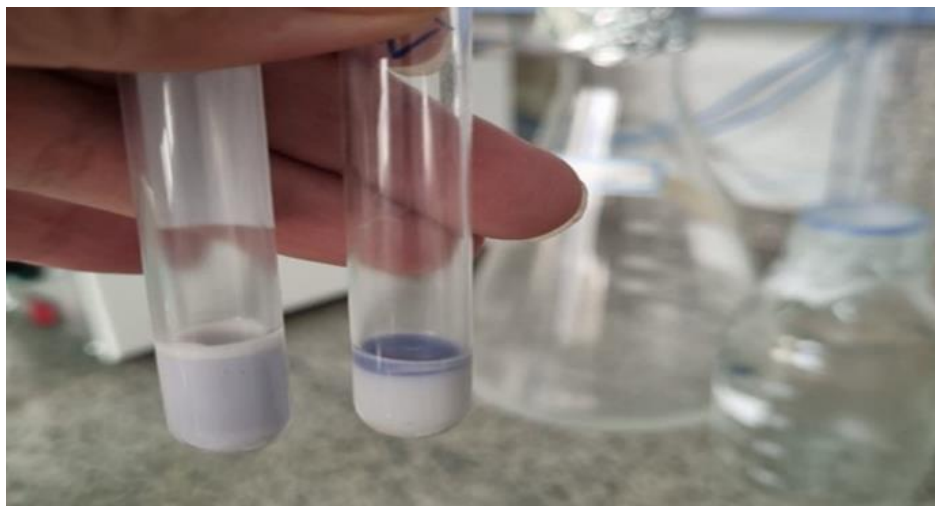


شکل شماره ۱. موقعیت جغرافیایی شهرستان هلیلان، منطقه آندمیک بیماری بروسلوز در استان ایلام

علیه بروسلا در شیر استفاده می‌شود. یک میلی‌لیتر از شیر به یک لوله 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 به آرامی مخلوط شد؛ سپس درون انکوباتور به مدت یک تا سه ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. نتایج آزمایش با تشکیل حلقه رنگی سفید (منفی) و آبی (مثبت) ثبت شدند (شکل شماره ۲).

آزمایش حلقه شیر (Milk Ring Test):

به منظور تشخیص اولیه بیماری بروسلوز در دام و تعیین میزان شیوع و شدت آلودگی، آزمایش حلقه شیر انجام شد. آنتی‌ژن بروسلا در این آزمایش، یک سوسپانسیون از ارگانیزم کشته شده بروسلا آبورتوس رنگ آمیزی شده با همتوکسیلین است که حاوی ۰/۵ درصد فنل به عنوان نگه‌دارنده است. این آنتی‌ژن برای تشخیص وجود آنتی‌بادی



شکل شماره ۲. اطلاعات توصیفی متغیرهای پژوهش

همچنین برخی از افراد بدون گله در مناطق آندمیک خون‌گیری به عمل آمد، نمونه سرم آنان جدا و آزمایش سرولوژی رزبنگال انجام گردید (شکل شماره ۳).

آزمایش سرولوژی رزبنگال:

از دامداری‌هایی که آزمایش حلقه شیر آن‌ها مثبت شده بود، از دام‌های علامت‌دار، مشکوک، صاحبان دام‌ها و



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

(Wilmington, DE, USA) ارزیابی گردید. به میکروتیوب‌های حاصل، ۱۵ میکرولیتر پروتیناز K افزوده شد و چند ثانیه عمل ورتکس انجام گردید تا کاملاً مخلوط شدند؛ سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای 37°C انکوبه گردیدند. پس از سپری شدن زمان انکوباسیون، ۳۰۰ میکرولیتر از ایزوپروپانول و ورتکس شد؛ سپس به مدت ۲۰ دقیقه در 20°C 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 به آرامی 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

مطالعات ژنتیکی:

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

استخراج DNA:

برای استخراج ژنوم به منظور 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)، بر اساس دستورالعمل کیت استخراج شد. غلظت و خلوص DNA با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد و غلظت آن در طول موج ۲۶۰/۲۸۰ نانومتر، با استفاده از نانودراپ

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

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR):

به منظور 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 16srRNA که در مطالعات مشابه دیگری طراحی شده بود، برای تکثیر قطعه‌ای از آن ژن با توالی الیگونیوکلوئیدهای مشخص و طول قطعه تکثیر یافته به طول 905p استفاده گردید (۱۱-۱۳). پرایمر ژن استفاده شده از شرکت ویراژن (Cat. Iran. No: 241106j2C01) تهیه شد و بر اساس دستورالعمل مربوطه، آب مقطر تزریقی به ویال آن اضافه گردید و محلول استوک با غلظت 100 μM به دست آمد (جدول شماره ۲). در این مطالعه، پرایمر با غلظت 10 μM استفاده شد. با تقسیم غلظت پرایمر بر حسب گرم در لیتر بر وزن مولکولی پرایمر، غلظت آن بر حسب میکرو مولار به دست آمد. برای انجام PCR و تکثیر قطعه ژن مدنظر از DNA استخراج شده، 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 برنامه PCR مناسب، روی همه DNAهای استخراج شده مختلف (گوسفند، بز، گاو و انسان) با مخلوط مسترمیکس آمپلیکون (Vieragen, Iran; ID: 5200350-1250)، بر اساس دستورالعمل کیت استفاده شد. تفاوت در اندازه ایجاد شده با انجام الکتروفورز روی ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی و مقایسه با مارکر 100bp تعیین گردید (۱۴، ۱۲). نمونه‌های مثبت گونه‌های بروسلا آبورئوس و بروسلا ملی تنسیس از مرکز تحقیقاتی بیماری‌های عفونی دانشگاه علوم پزشکی همدان تهیه شد؛ همچنین نمونه‌های کنترل‌های منفی از DNAهای استخراج شده 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 به دست آمده با توالی‌های ثبت شده در سایت NCBI بعد از BLAST مقایسه گردیدند و توسط نرم‌افزارهای مولکولی علاوه بر تعیین نوع گونه عامل بیماری، ژنوتایپ غالب باکتری در دام در مناطق آندمیک بیماری (شهرستان هلیلان) و درصد مشابهت گونه‌ها (شکل شماره ۶) نیز مشخص شد.

جدول شماره ۲. مشخصات الیگونیوکلوئیدهای پرایمرهای استفاده شده برای انجام آزمایش PCR

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

سیکل انجام شد. تکثیر DNA به ترتیب در جداول شماره ۳ و ۴ نشان داده شده است. محصول PCR با استفاده از آگارز ژل الکتروفورز ۱ درصد و با مارکر با وزن مولکولی 100bp ارزیابی گردید.

مراحل PCR:

مقادیر مصرفی برای انجام یک آزمایش PCR از مخلوط مسترمیکس آمپلیکون با غلظت ۱/۵ میلی مولار کلرید منیزیم، با تنظیم برنامه دمایی دستگاه ترموسایکلر برای ۳۵

جدول شماره ۳. ترکیبات واکنش PCR برای ژن SrRNA۱۶

غلظت نهایی	حجم واکنش	ترکیب
IX	۱۲ μ	مسترمیکس
۱۰ μ M	۱ μ l	پرایمر Forward (۱۰۰ pmole)
۱۰ μ M	۲ μ l	پرایمر Reverse (۱۰۰ pmole)
۸۰ ng	۲ μ l	DNA الگو
-	۱ μ l	DMSO
-	۲ μ l	H ₂ O دو بار تقطیر
-	۲۰ μ l	حجم نهایی واکنش

جدول شماره ۴. الگوی دمایی استفاده شده برای تکثیر ژن SrRNA۱۶ با ۳۵ سیکل تکرار

مرحله	دنا تورا سیون اولیه	دنا تورا سیون	اتصال	امتداد	تعداد سیکل ها	امتداد نهایی
دما	۷۲°C	۷۲°C	۵۶°C	۹۵°C	۳۵	۹۵°C
زمان	۵ دقیقه	۱ دقیقه	۳۰ ثانیه	۱ دقیقه		

MEGA vol.6 استفاده گردید.

تعیین توالی و آنالیز:

تعداد ۱۷ نمونه از محصولات PCR منتخب شامل ۱۶ نمونه دامی و یک نمونه انسانی با استفاده از کیت خالص سازی محصول PCR (شرکت GeneAII، کره جنوبی) خالص سازی شدند و برای تعیین توالی به همراه پرایمرهای رفت و برگشت به شرکت پیشگام طب ارسال گردیدند. این شرکت با استفاده از روش Dideoxy Chain Terminators، تعیین توالی را انجام داد. پس از دریافت فایل های مربوط به تعیین توالی، با استفاده از نرم افزار Sequencher به استخراج اطلاعات به صورت فایل هایی با پسوند Fasta اقدام شد. در مرحله بعد، با استفاده از ابزار جستجوی هم ترازی پایه (Blast در سایت NCBI)، میزان مشابهت داده های به دست آمده با موارد ثبت شده در بانک ژن انجام گردید (۱۵). آنالیز مشابهت سکانس پرو فایل های مربوط به ژن SrRNA۱۶ به دست آمده از میزبان های مطالعه شده با توالی ژن های مرجع گونه های بروسلا آبروتوس و بروسلا ملی تنسیس با استفاده از برنامه Multialignment (<http://www.multalin.toulouse.inra.fr/multalin/cgi-bin/multalin.pl>) صورت گرفت. به منظور هم ترازی پیشرفته، از (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>)

هم ترازی پیشرفته:

پس از هم ترازی پایه، به منظور شناسایی نواحی متغیر و نواحی حاوی اطلاعات توالی های موجود، هم ترازی پیشرفته انجام شد. هم ترازی توالی جدایه های باکتری (گوسفند، بز و انسان) به وسیله نرم افزار هم ترازی پیشرفته ClustalW2 سایت EBI (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2/>) انجام گردید (۱۴).

مقایسه سکانس ها با یکدیگر و با سکانس های مرجع:

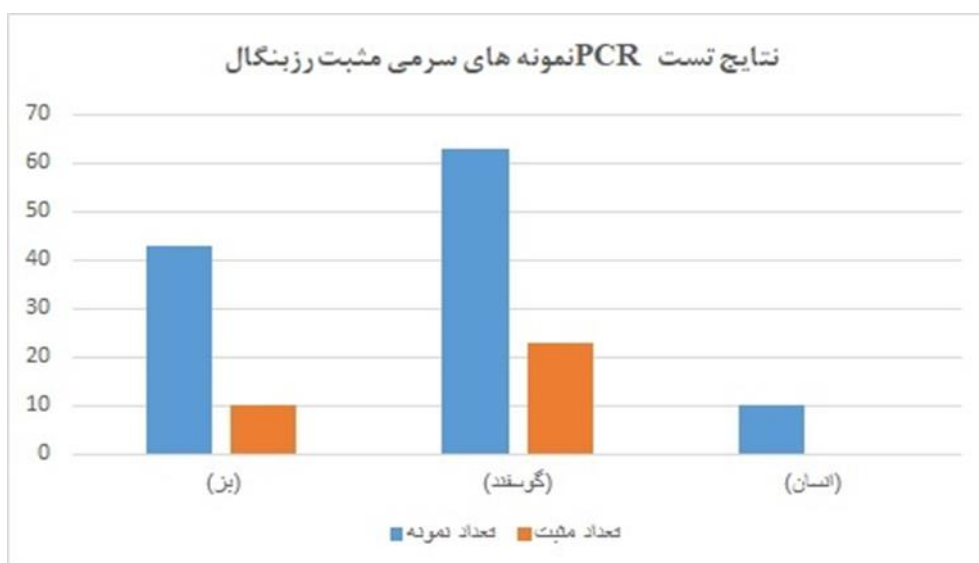
میزان شباهت سکانس های میزبان های این مطالعه با یکدیگر و همچنین با توالی های مرجع با استفاده از نرم افزار EMBOS Matcher (<http://www.ebi.ac.uk/Tools/msa/clustalw2>) مقایسه شد و تعداد نوکلئوتیدهای مشترک و متفاوت مشخص گردید (۱۵).

یافته های پژوهش

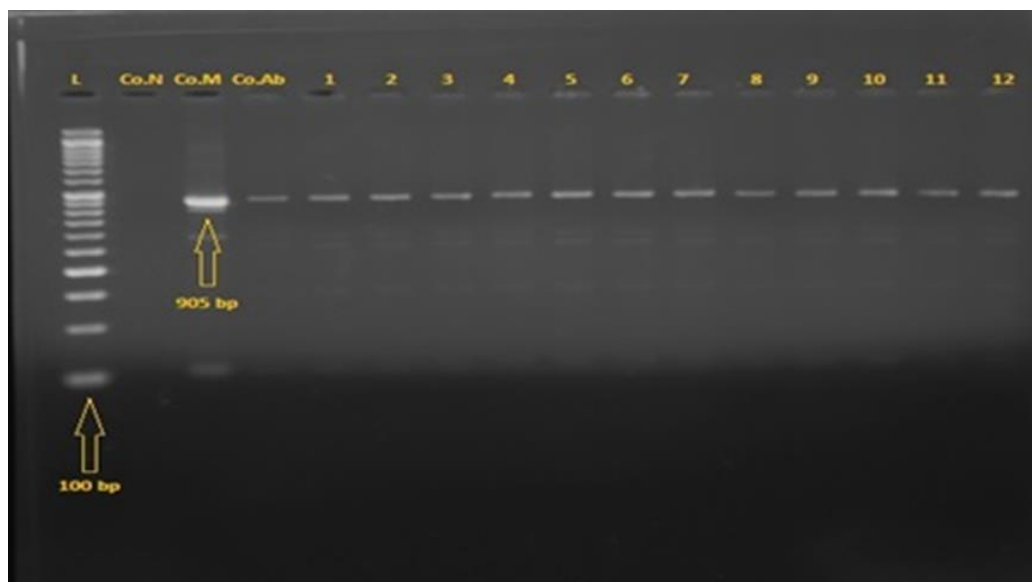
در این مطالعه مقطعی، از مجموع ۹۵۰ نمونه شیر دام سبک، تعداد ۱۴۰ رأس گوسفند (۲۸ درصد)، ۶۰ رأس بز (۱۳/۳ درصد) و از مجموع ۵۰ نمونه گاو، یک رأس (۲ درصد) در آزمایش حلقه ای شیر (رینگ تست) از نظر

آلودگی به باکتری بروسلا مثبت تشخیص داده شدند. از جمع تعداد ۱۳۹ نمونه 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 رزینگال مثبت شناسایی گردیدند. هیچ کدام از نمونه‌های گاوی در آزمایش سرمی رزینگال مثبت ارزیابی نشد. میزان شیوع سرمی آلودگی در مجموع گوسفند و بز (۳۸/۱ درصد) برآورد گردید. از

تعداد ۲۳ رأس گوسفند، ۱۰ رأس بز و ۸ نفر انسان سرولوژی مثبت، به ترتیب در آزمایش PCR، ۷ رأس گوسفند (۳۰/۴۳ درصد)، ۲ رأس بز (۲۰ درصد) و ۱ نفر انسان (۱۲/۵ درصد) به عنوان نمونه مثبت تشخیص داده شدند (شکل شماره ۴). تعداد ۵ نمونه گوسفند و ۲ نمونه بز سرولوژی منفی در آزمایش PCR نیز مثبت گردیدند. اندازه قطعات تکثیر یافته همه ایزوله‌های انسانی و دامی در PCR برای ژن ۱۶SrRNA دارای باندهای مشابه و برابر ۹۰۵bp بود (شکل شماره ۵).



شکل شماره ۴. نتایج تست PCR نمونه‌های سرمی رزینگال مثبت انسان و دام



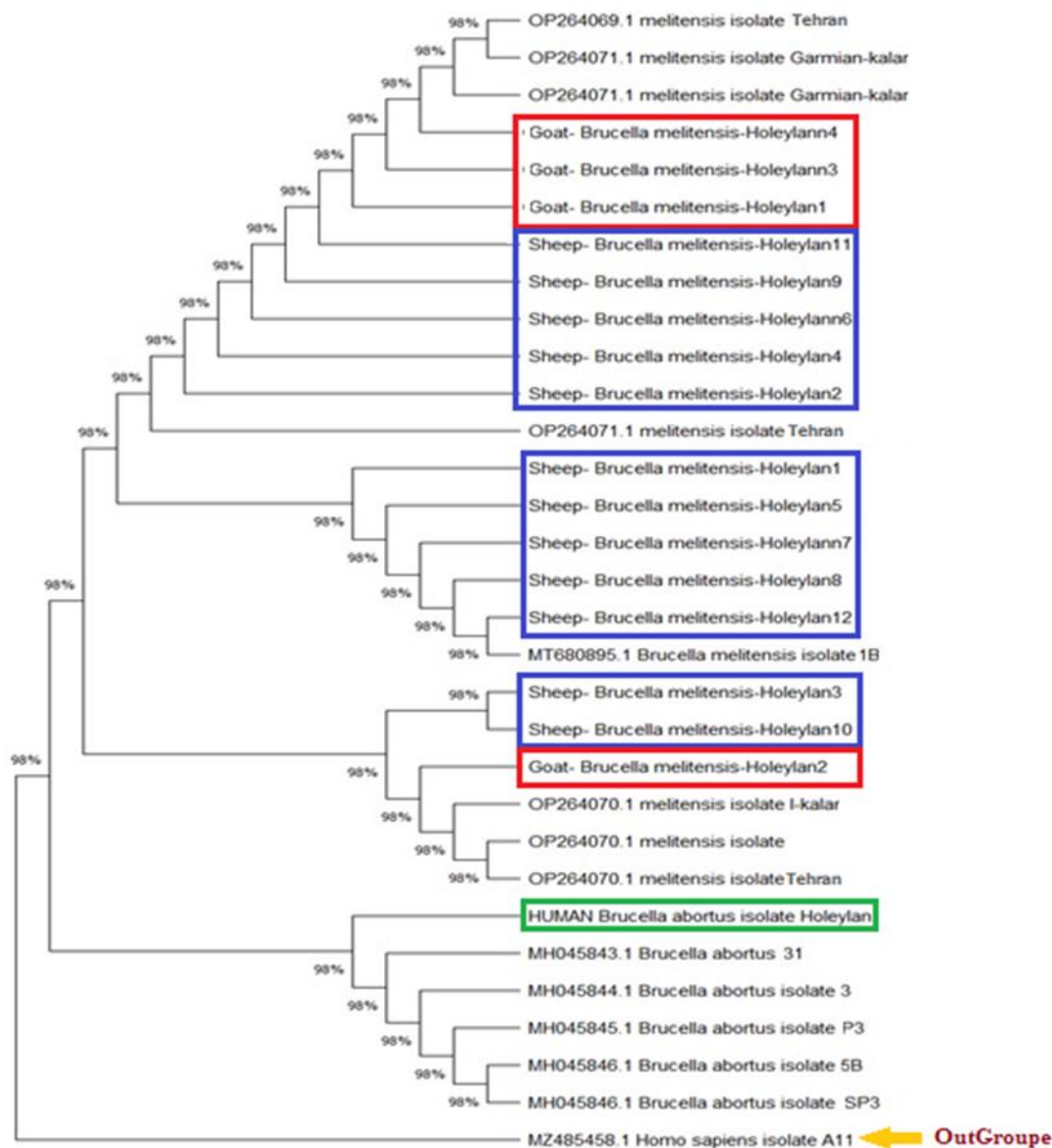
شکل شماره ۵. نتایج PCR ژن ۱۶SrRNA باکتری بروسلا روی ژل آگارز ۱ درصد. ستون L. مارکر ۱۰۰bp؛ Co.N. کنترل منفی؛ Co.M. کنترل مثبت بروسلا ملی تنسیس؛ Co.Ab. کنترل مثبت بروسلا آبوروس؛ ستون‌های شماره ۱-۶. نمونه‌های گوسفند؛ ۷-۱۱. نمونه‌های بز و شماره ۱۲. نمونه انسانی از شهرستان هلیلان

مصور کردن هم‌ترازی پیشرفته ایزوله‌های گوسفند، بز و انسان

نتایج تعیین توالی و ترسیم درخت فیلوژنی: نتایج

ملی تنسیس ژنوتایپ غالب دامی در شهرستان هلیلان است. (شکل شماره ۶).

و ترسیم درخت فیلوژنی حاکی از هم‌پوشانی، یکسان بودن و میزان مشابهت ۹۸ درصدی ژنوتایپ‌های نمونه‌های بروسلا آورتوس و بروسلا ملی تنسیس در مطالعه حاضر بود. بروسلا



شکل شماره ۶. درخت فیلوژنی گونه‌های بروسلا در ایزوله‌های مطالعه‌شده انسانی و دامی بر اساس ژن ۱۶SrRNA با استفاده از روش Neighbor-Joining با ۱۰۰۰ تکرار

بحث و نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر با عنوان تعیین گونه غالب عامل بیماری بروسوزیس 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 درباره ژنوتایپ غالب انسانی اظهار نظر کرد و نیازمند

مطالعات بیشتر در آینده است؛ اما بروسلا ملی تنسیس ژنوتایپ غالب دامی در شهرستان هلیلان است. بیماری تب مالت به‌عنوان تهدید بالقوه بهداشت عمومی شهروندان محسوب می‌گردد. این بیماری همچنان به‌عنوان یک مسئله 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

زیان‌های اقتصادی و مشکلات بهداشتی قابل توجه ناشی از آن و عوامل مختلف تأثیرگذار بر میزان شیوع بیماری و نحوه توزیع فضایی آن، مطالعه و بررسی بیشتر درباره این بیماری برای کنترل آن ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به اهمیت موضوع و اینکه این مطالعه مولکولی برای اولین بار در استان ایلام هم در دام و هم صاحب دام در مناطق شایع به صورت یکجا توسط این تحقیق انجام شد، اگرچه مطالعات مولکولی بسیار محدودی در بیمارستان‌های انسانی در شهر ایلام نیز انجام گردیده است (۱۶). در مطالعه حاضر، وضعیت گسترش ژنوتیپ‌های گونه‌های بروسلا آلوده‌کننده انسان و دام در سطح منطقه مشخص شد و گونه بروسلا ملی تنسیس به عنوان گونه غالب دامی استان ایلام شناسایی گردید و حساسیت گوسفند نسبت به بز برای ابتلای به بیماری بروسلاز بیشتر بود. در حال حاضر، تشخیص بروسلاز بر اساس جداسازی بروسلا یا کشف پاسخ ایمنی به وسیله روش‌های سرولوژیک کلاسیک یا حضور یافته‌های بالینی شاخص قرار دارد (۱۶). شناسایی گونه‌ها و زیرگونه‌ها بر اساس تجزیه و تحلیل انواع فراوانی از صفات متشکل از سرولوژی، نیازهای رشد و فنوتیپ بیوشیمیایی و مولکولی انجام می‌شود. در مطالعه انجام شده 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 مطالعه حاضر نیز همخوانی دارد (۱۶). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۳ به منظور تشخیص بروسلاز با روش‌های مولکولی PCR و سرولوژی انجام شد، مشخص گردید که روش تشخیصی PCR حساسیت و اختصاصیت ۱۰۰ درصد دارد، در حالی که روش‌های سرولوژی حدود ۹۸ درصد حساسیتی نشان دادند که با نتایج مطالعه حاضر همخوانی ندارد (۱۷). علت عمده ناهمخوانی نتایج مطالعه حاضر با مطالعه دیگر محققان در مقایسه حساسیت بالای تست PCR در تشخیص بروسلاز، شاید به این سبب است که بیماران بررسی شده در مطالعات آنان در فاز حاد بیماری بوده‌اند و تعداد باکتری‌های در هر میلی-لیتر بیش از 715 CUF داشتند. علت عمده دیگری که نتایج تست

غربالگری رزبنگال در مطالعه حاضر برای تعدادی از نمونه‌های انسانی و دامی مثبت گزارش گردید؛ اما در آزمایش PCR منفی شدند، به سبب واکنش متقاطع است که بروسلاز با دیگر بیماری‌های عفونی دارد که نشان از حساسیت بالای آزمایش PCR در مقایسه با دیگر تست‌های سرولوژی در تشخیص بروسلاز (تب مالت) دارد. نتیجه تعیین توالی مطالعه حاضر نشان داد که گونه غالب بروسلا در شهرستان هلیلان گونه بروسلا ملی تنسیس است که با مطالعات قبلی انجام شده (۱۸، ۱۶) به ترتیب در ایلام و اصفهان، با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی و آگلوتیناسیون با آنتی‌سرم‌های اختصاصی انجام شده بود، میزان شیوع بروسلا ملی تنسیس نسبت به بروسلا آبوروس بیشتر بود. تمایز باکتری‌های مرتبط نزدیک به هم با مشابهت بالا در ژنوم توسط ژن‌های 16SrRNA و bscp31 اثبات شده است (۱۹). نتایج تجزیه و تحلیل فیلوژنی مطالعه حاضر بر اساس ژن 16SrRNA، علاوه بر مشخص کردن میزان همولوژی ۹۸ درصدی DNA بروسلا برای همه ایزوله‌های انسانی و دامی، قابلیت آن را نیز برای تشخیص و تمایز گونه‌های بروسلا از باکتری‌های دیگر نشان داد که با نتایج مطالعه دیگر محققان همخوانی دارد (۱۴). مطالعه شفیع و همکاران در سال ۲۰۱۲ در استان کردستان با ۶۰ نمونه شیر گاو مشکوک به بروسلاز، میزان آلودگی را ۳۳/۴ درصد با روش PCR مثبت گزارش کرد که با مطالعه حاضر تا حدودی همخوانی دارد (۲۰). در مطالعه مولکولی انجام شده شمس و همکاران در شهرستان خرم‌آباد در سال ۲۰۱۷، به روش PCR از مجموع ۱۲۰ نمونه شیر خام غیرپاستوریزه مورد آزمایش، ۱۰ درصد نمونه‌ها آلوده به بروسلا آبوروس 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 بیورها در دام‌ها و ناقلان گوناگون باشد که به عنوان میزبانان این میکروارگانیسم‌ها هستند. ظهور کلنی‌های مقاوم باکتریایی و مولد بتا-کتانازهای گسترده در دام‌های یک ناحیه و استفاده بی‌رویه مدیریت نشده آنتی‌بیوتیک‌ها در درمان بیماری‌های گوناگون عفونی در

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

پیشنهاد‌های راهبردی برای تحقق ظرفیت‌ها و بهره‌مندی از مزایای طرح یادشده به منظور 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 گونه غالب بیماری، علاوه بر تکمیل نقشه 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، به عنوان کانون‌های جغرافیایی آلوده و داشتن چراگاه‌های مشترک دامی با این استان‌ها، همچنین نقل و انتقال دام و فرآورده‌های دامی میان ساکنان مجاور در این استان‌ها، مصرف مواد لبنی و محصولات دامی که بیشتر به صورت 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 بیش از پیش تشدید کند. با توجه به اهمیت باکتری عامل بیماری از نظر پزشکی و دامپزشکی و زئونوتیک بودن آن، پیشگیری و کنترل دارای اهمیت فراوانی دارد. برای تدوین برنامه 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 به منظور تعیین میزان آلودگی؛

• انجام واکسیناسیون با استفاده از واکسن تخفیف
حدت یافته؛

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

• محدود کردن جابه‌جایی حیوانات وقتی که 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، به ویژه جمعیت روستائین
از طریق اجرای برنامه‌های آموزشی و رسانه‌های جمعی
به منظور ارتقای سطح اطلاعات و عملکرد مناسب افراد درباره
مصرف شیر و فرآورده‌های لبنی پاستوریزه، گوشت و
فرآورده‌های گوشتی تحت نظارت کارشناسان و بازرسان
دامپزشکی به منظور پیشگیری از ابتلای به بیماری؛

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

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

• حیات وحش به عنوان مخزن بیماری، نقش اساسی
در انتقال و انتشار بیماری دارد؛ بنابراین، سازمان حفاظت و
محیط‌زیست می‌تواند نقش کلیدی و بارز در کنترل
بیماری داشته باشد؛

• تأسیس بانک ژن اطلاعاتی باکتری در ایلام
به منظور تکمیل نقشه ژن.

سپاس‌گزاری

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

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که تضاد منافی 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 (گرت)
استانی اداره کل دامپزشکی استان ایلام در سال ۱۴۰۳ تأمین
گردید.

مشارکت نویسندگان

تمامی نویسندگان در جمع‌آوری نمونه‌ها، انجام
آزمایشات، تجزیه و تحلیل داده‌ها، نوشتار و تایید نهایی نقش
داشته‌اند.

References

- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Corbel MJ. Brucellosis: an overview. *Emerg Infect Dis*. 1977; 3:213-21. doi: 10.3201/eid0302.970219.33.
- 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.
- Hatami H. Epidemiology of Brucellosis. 2th Iranian National Brucellosis Con. Shahid Beheshti Uni Med Sci. 2009; 31-6. (Persian).
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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.
- Gholipur A, Abtehaj P, Tamiziefar H, Salehi M. Determination of common *B. melitensis* biotypes in Isfahan city by biochemical and PCR-RFLP methods. *Tesis. Isfahan Med Sci*, 2008. (Persian).
- 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.
- 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.
- 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).
- Alizadehmofrad F, Parvini M. Evaluation and Diagnosis of Species and Biovars of *Brucella* among cattles by Multiplex Polymerase Chain Reaction. *Iranian J Med Microbiol*. 2017; 11:107-14.
- Armanfar H, Tukmechi A. Serum prevalence of brucellosis based on history of abortion in

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