



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



مقاله پژوهشی

بررسی سرولوژی و مولکولی بروسلوز در بین افراد با مخاطره بالا در شهرستان شهرکرد در

سال ۱۴۰۰

مجتبی بنیادیان^{۱*}، سمیرا کریمی^۲

۱. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲. گروه میکروبی شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران.



* نویسنده مسئول: Boniadian@sku.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۲۵

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵

چکیده

بروسلوز یکی از پنج بیماری عفونی مشترک بین انسان و دام است که در اثر آلودگی با باکتری‌های جنس بروسلا به وجود می‌آید. از آن جایی که دامداران، پرسنل و دانشجویان دامپزشکی و پرسنل کشتارگاه در معرض خطر آلودگی با این باکتری محسوب می‌شوند، برآورد میزان شیوع بیماری در این گروه از افراد ضروری به نظر می‌رسد. این مطالعه بر روی ۳۰۰ نفر از افراد با خطر شغلی بالا (دامداران، پرسنل شبکه دامپزشکی، دانشجویان دامپزشکی، پرسنل کشتارگاه) در شهرستان شهرکرد در سال ۱۴۰۰ انجام شد. نمونه‌های سرمی خون افراد تهیه و آزمایش‌های رزینگال، رایت و PCR بر روی نمونه‌ها انجام شد. مشخصات شغلی افراد توسط پرسشنامه ثبت گردید. داده‌ها با استفاده از نرم افزار آماری Sigmastat و آزمون آماری McNemar تجزیه و تحلیل شدند. نتایج آزمون رزینگال نشان داد که از ۳۰۰ نمونه تعداد ۴۶ (۱۵/۳ درصد) نمونه واکنش مثبت داشتند، ولی در آزمون رایت ۲۴ (هشت درصد) نمونه واکنش مثبت با تیتراژ ۱/۸۰ یا بالاتر نشان دادند. آزمون رایت مشخص نمود که ۱۲/۵ درصد دامداران، ۱۰ درصد کارکنان کشتارگاه، ۵/۷ درصد کارکنان دامپزشکی و دو درصد دانشجویان دامپزشکی دارای تیتراژ مثبت بر علیه بروسلا داشتند. در آزمون 2ME میزان موارد مثبت (۴۰:۱ و بیشتر) در بین دامداران ۸/۸ درصد، کارکنان کشتارگاه ۷/۵ درصد، کارکنان دامپزشکی پنج درصد و دانشجویان و اساتید دامپزشکی دو درصد بود. استخراج DNA و آزمون PCR روی نمونه‌های سرمی نشان داد که ۷/۵ درصد دامداران، ۶/۳ درصد کارکنان کشتارگاه، ۵ درصد کارکنان دامپزشکی و دو درصد دانشجویان و اساتید دامپزشکی دارای ژنوم باکتری بروسلا در سرم خون بودند. نتایج آزمون آماری نشان داد که توافق معنی داری بین نتایج آزمون 2ME و PCR وجود دارد. بر اساس نتایج مطالعه حاضر شیوع بیماری بروسلوز در میان دامداران و کارکنان کشتارگاه و قصابان بیشتر از سایر گروه‌های در معرض خطر بود. هم‌چنین با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان به هم‌سویی و توافق نتایج آزمون 2ME و PCR اشاره داشت. بنابراین می‌توان از PCR به عنوان یک آزمون معتبر برای تشخیص بروسلوز استفاده کرد.

کلمات کلیدی: بروسلوز، سرولوژی، PCR، افراد در معرض خطر



مقدمه

بروسلوز^۱ یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام است که توسط گونه‌های مختلف باکتری جنس *بروسلا*^۲ ایجاد می‌شود (۱). این بیماری سلامت عمومی و بهداشت دامی در بسیاری از کشورها از جمله ایران را به خطر انداخته است (۲) و در انسان به بیماری ناتوان کننده شهرت یافته است و سبب تلف شدن منابع عظیم مادی و نیروی انسانی می‌شود. در گله‌های مبتلا به این بیماری، ارزش اقتصادی گله به دلیل سقط جنین، کاهش تولید شیر، تولد گوساله‌های ضعیف و غیره به شدت کاهش می‌یابد (۳). افراد در معرض خطر همچون دامداران، قصاب‌ها، کارکنان آزمایشگاه، واکسیناتورها، دامپزشکان و کارگران کشتارگاه از راه‌های مختلفی مانند تنفس آئروسول‌ها و تماس مخاطات با مواد آلوده، ورود باکتری از طریق خراش‌های پوستی و نیز تماس با حیوانات آلوده، یا تولیدات آلوده آن‌ها، در معرض خطر ابتلا قرار می‌گیرند (۴). در کشورهای صنعتی شیوع بیماری در جوامع روستایی و در میان دامداران، در مردان بیشتر از زنان گزارش شده است ولی در ایران، با توجه به مشارکت زنان با مردان در امر پرورش و نگهداری دام‌های اهلی، شیوع بیماری در زنان نیز تقریباً بالا می‌باشد. در فصول بهار یعنی همزمان با فصل زاد و ولد دام‌ها، موارد بیماری در انسان نیز افزایش می‌یابد. در این فصل در اثر تماس با جفت، جنین سقط شده و ترشحات واژنی دام‌های آلوده و غیره، که در طی اپیدمی بروسلوز حیوانی رخ می‌دهد، به دلیل افزایش تماس‌های دامداران با این قبیل مواد آلوده و نیز مصرف شیر و لبنیات این دام‌ها، موارد بروسلوز در انسان (دامداران) در این فصول بیشتر گزارش می‌شود (۵). آنتی‌بادی‌های ضد بروسلا زمان طولانی در سرم بیماران باقی می‌مانند و تشخیص آن‌ها برای بررسی شیوع بیماری در مناطق اندمیک حائز اهمیت است. آزمایش‌های معمول سرولوژی که برای تشخیص بروسلوز به کار می‌روند عبارتند از آزمایش رزبنگال، آزمایش رایت یا آزمایش آگلوتیناسیون لوله‌ای، آزمایش ۲- مرکاپتوانانول (2-ME) و کومبس رایت. آزمایش رزبنگال یک آزمایش سریع بوده و اولین آزمایشی است که انجام می‌شود، نمونه‌هایی که با این آزمایش مثبت هستند تحت آزمایش‌های تکمیلی مانند رایت و 2-ME قرار می‌گیرند (۶). آزمایش رایت معمول‌ترین آزمایش برای تشخیص بیماری در انسان و دام می‌باشد، چون عیار قابل رؤیت و تا حدی قابل اطمینان می‌باشد و در تشخیص موارد مثبت بروسلوز کارایی خوبی دارد، ولی با توجه به اینکه موارد مشکوک در این آزمایش نیز وجود دارد بنابراین نمی‌تواند در این موارد به تشخیص نهایی کمک کند و بکارگیری آزمون‌های دقیق‌تر و با ویژگی بالاتر مورد نیاز می‌باشد. بکارگیری توام آزمایش رایت با آزمایش‌های دیگر می‌تواند یکی از بهترین راه‌های تشخیص و قضاوت نهایی روی سرم انسان و دام بیمار یا مشکوک باشد (۷). آزمایش‌های مکمل دیگری نیز برای تشخیص بیماری استفاده می‌شوند که عبارتند از آزمایش 2-ME و کومبس رایت، در کشورهای در حال توسعه مشکلات مرتبط با شیوع بروسلوز شامل عدم وجود برنامه‌های نظارتی، نبودن تسهیلات لازم جهت تشخیص و نبودن اطلاعات موثق در خصوص ابتلا به بیماری می‌باشد (۱). با توجه به اینکه شیوع حقیقی بیماری در انسان در اکثر کشورها نامشخص است (۸)، توصیف دقیق شیوع بیماری بروسلوز امری مهم و ضروری برای مطالعات اپیدمیولوژی و نیز برنامه‌های کنترل و پیشگیری از این بیماری می‌باشد. مشخص کردن شیوع سرمی بروسلوز و فاکتورهای اصلی خطر ساز در میان افراد در معرض خطر این بیماری، برای فهمیدن طبیعت این بیماری و نیز برنامه‌ریزی برای کنترل و ریشه‌کنی این بیماری بسیار مهم و ضروری می‌باشد. بر همین اساس برای ارزیابی وضعیت

¹ Brucellosis

² *Brucella*



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



بیماری در بین افراد با خطر بالای شغلی تاکنون مطالعه‌ای در استان انجام نشده است. لذا مطالعه حاضر با هدف پی بردن به میزان آلودگی در افراد با خطر بالای شغلی و مقایسه نتایج سرولوژی با مولکولی طراحی گردید.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه توصیفی ۳۰۰ نفر از افراد با خطر شغلی بالا (دامداران، کارکنان شبکه دامپزشکی، دانشجویان دامپزشکی، کارکنان کشتارگاه) در شهرستان شهرکرد در سال ۱۴۰۰ شرکت داشتند. از این تعداد ۵۰ نفر دانشجویان دامپزشکی، ۴۰ نفر دامدار، ۴۰ نفر کارکنان کشتارگاه و ۲۰ نفر کارکنان شبکه دامپزشکی بودند، که ۱۸ نفر زن و ۱۳۲ نفر مرد بودند. خون‌گیری با استفاده از لوله ونوجکت انجام شد. سپس نمونه خون اخذ شده با دور ۲۰۰۰ به مدت پنج دقیقه سانتریفیوژ و سرم آن جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات سرولوژی در دمای ۲۰- نگهداری گردید ابتدا آزمایش رزبنگال روی نمونه‌ها انجام شد و سپس روی نمونه‌های مثبت و مشکوک به بیماری آزمایش راییت و PCR انجام شد (۹).

آزمون رزبنگال

این آزمون با آنتی‌ژن رزبنگال تولید شده توسط موسسه رازی انجام شد. موارد مثبت با مشاهده آگلوتیناسیون پس از مجاورت آنتی‌ژن و آنتی‌بادی ثبت گردید (۳).

آزمون راییت

آنتی‌ژن راییت مورد استفاده از شرکت بهینه پرور پارسیان تهیه شد که به صورت ۱۰ برابر غلیظ تر از محلول مورد نیاز بود. محلول با رقت ۱/۱۰ بوسیله محلول نمکی ۰/۸۵ درصد رقیق گردید و برای هر نمونه پنج لوله آزمایش آماده شد. لوله‌ها از یک الی شش شماره گذاری شده و به لوله‌های اول ۰/۸ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی و به بقیه لوله‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی اضافه شد. در مرحله بعدی به لوله اول ۰/۲ میلی‌لیتر سرم بیمار اضافه گردید که حجم لوله اول یک میلی‌لیتر شد و سپس از لوله اول ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته و در لوله دوم ریخته شد و مخلوط گردید و در انتها ۰/۵ میلی‌لیتر از لوله ششم بیرون ریخته شد. بعد از تهیه رقت متوالی به همه لوله‌ها ۰/۵ میلی‌لیتر آنتی‌ژن راییت اضافه شد و لوله‌ها را بخوبی تکان داده و سپس با استفاده از راهنمای کیت موارد مثبت قرائت شد (۳).

آزمون کومیس راییت

این آزمون برای تشخیص آنتی‌بادی‌های ناقص یا مسدود کننده خصوصاً در موارد عود بروسلاز یا مرحله مزمن می باشد. لوله‌های حاصل از آزمایش راییت را به مدت ۱۵ دقیقه در دور ۲۰۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس به ته نشین هر لوله یک قطره سرم آنتی‌گلوبین انسانی (سرم کومیس) اضافه شد و لوله‌ها به خوبی تکان داده شدند، سپس به مدت یک ساعت لوله‌ها در بن ماری ۳۷ درجه سلسیوس قرار داده شد. نتیجه با زدن ضربه آرامی به ته لوله‌ها بررسی و تیتراژ آخرین لوله‌ای که آگلوتیناسیون مشاهده گردید گزارش شد (۳).

واکنش‌های زنجیره پلیمرز (PCR)

برای این منظور از کیت استخراج DNA از خون ساخت شرکت سیناژن مطابق دستور کیت و پرایمر اختصاصی جنس بروسلا (۱۰) ساخت شرکت سیناژن جهت تشخیص ژنوم باکتری بروسلا استفاده شد. (جدول ۱)



جدول ۱. مشخصات پرایمرهای استفاده شده جهت شناسایی باکتری بروسلا

ژن	سکانس پرایمرها (3-5)	محصول (bp)
BMEI0535	F:GCG-CAT-TCT-TCG-GTTATG-AA R:CGC-AGG-CGA-AAA-CAGCTA-TAA	۴۵۰

آزمایش PCR

پس از استخراج DNA و اکنش زنجیره ای پلیمرز با استفاده از پرایمرهای اختصاصی در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام شد. سیکل‌های حرارتی در دستگاه ترموسیکلر (ساخت شرکت Biorad آمریکا) با برنامه دمایی مطابق با جدول ۲ انجام شد.

جدول ۲. برنامه های داده شده به دستگاه ترموسیکلر

تعداد سیکل	مدت	دما (درجه سلسیوس)	مرحله
۱	۵ دقیقه	۹۴	دناتوراسیون اولیه
	۳۵ ثانیه	۹۴	دناتوراسیون
۳۰	۳۵ ثانیه	۵۳	اتصال
	۳۰ ثانیه	۷۲	گسترش
۱	۵ دقیقه	۷۲	گسترش نهایی

بعد از انجام PCR جهت آشکار سازی و دیدن محصول و نتیجه واکنش از روش الکتروفورز استفاده گردید. در این مرحله پس از تهیه ژل یک درصد، ژل به صورت ذوب شده به درون کاست ویژه ریخته شد. پس از سرد شدن ژل و بیرون آمدن شانه‌ها، کاست در داخل تانک الکتروفورز قرار گرفت، سپس بافر TAE 1X در تانک ریخته شد به طوری که TAE روی سطح ژل قرار گیرد و مقدار پنج میکرولیتر از محصول PCR هر نمونه با یک میکرولیتر Loading dye به خوبی مخلوط شده و درون گوده‌ها ریخته شد. دستگاه الکتروفورز با ولتاژ ۹۵ تا ۱۰۵ و مدت زمان ۴۰ دقیقه تنظیم گردید. پس از گذشت این زمان، ژل به دستگاه ترانس لومیناتور منتقل شده و زیر اشعه UV با توجه به تأثیر رنگ Safe Red موجود در ژل رشته‌های DNA قابل دیدن بوده و عکس برداری صورت گرفت و وزن ملکولی باندهای DNA روی ژل با توجه به مارکر bp ۱۰۰ تعیین شد (۱۰).



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



آزمون آماری

نرم افزار آماری Sigmastat نسخه چهار و آزمون آماری McNemar برای مقایسه نتایج آزمون‌های سرولوژی و PCR مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

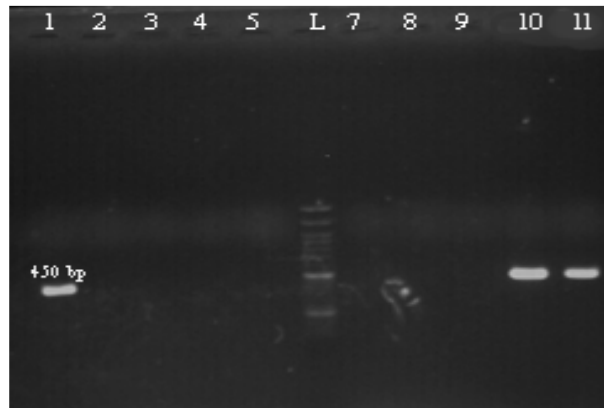
نتایج آزمون رزبنگال نشان داد که از ۳۰۰ نمونه تعداد ۴۶ (۱۵/۳ درصد) نمونه تیترا مثبت داشتند. ولی در آزمون رایب ۲۴ نمونه (هشت درصد) تیترا مثبت (۱/۸۰ و بالاتر) نشان دادند. نتایج نشانگر این بود که ۱۲/۵ درصد دامداران، ۱۰ درصد کارکنان کشتارگاه، دو درصد دانشجویان و اساتید دامپزشکی و ۵/۷ درصد کارکنان شبکه دامپزشکی از نظر آزمون رایب تیترا مثبت دارا بودند. موارد مشکوک آزمون رایب تحت آزمایش کومیس رایب قرار گرفتند که همه نمونه‌ها منفی شدند. از آزمون 2ME برای مشخص شدن حاد و مزمن بودن بیماری استفاده شد. نتایج آزمون 2ME و رایب در جدول ۳ آمده است. دو نمونه که PCR منفی و رایب مثبت داشتند در آزمون 2ME تیترا ۱:۴۰ را نشان دادند. همچنین درصد کلی موارد مثبت تمام گروه‌ها در آزمون رزبنگال ۱۵/۳ درصد، آزمون رایب هشت درصد، آزمون 2ME ۶/۳ درصد و آزمون PCR پنج درصد بود.

جدول ۳. فراوانی نتایج آزمایشات سرولوژی و PCR در افراد در معرض خطر ابتلا به بروسلوز (درصد)

شغل	تعداد		رزبنگال		رایب ۸۰ ≥		2ME > 40		PCR	
	مرد	زن	مرد	زن	مرد	زن	مرد	زن	مرد	زن
دانشجو	۷۲	۲۸	۶	۲	۲	۰	۲	۰	۲	۰
و اساتید	۱۰۰		۸ (درصد)		۲ (درصد)		۲ (درصد)		۲ (درصد)	
کارکنان	۳۲	۸	۶	۲	۲	۱	۲	۰	۲	۰
دامپزشکی	۴۰		۲۰ (درصد)		۵/۷ (درصد)		۵ (درصد)		۵ (درصد)	
دامدار (مرد)	۸۰		۱۶ (۲۰ درصد)		۱۰ (۱۲/۵ درصد)		۷ (۸/۸ درصد)		۶ (۷/۵ درصد)	
کارکنان کشتارگاه (مرد)	۸۰		۱۴ (۱۷/۵ درصد)		۸ (۱۰ درصد)		۶ (۷/۵ درصد)		۵ (۶/۳ درصد)	
جمع	۳۰۰		۴۶ (۱۵/۳ درصد)		۲۴ (۸ درصد)		۱۷ (۶ درصد)		۱۵ (۵ درصد)	

نتایج آزمون PCR

در آزمون PCR، تعداد ۱۵ نمونه از ۳۰۰ نمونه (پنج درصد) واکنش مثبت نشان دادند (جدول ۴)، و باند ۴۵۰ bp در نمونه‌های مثبت و کنترل مثبت مشاهده شد (شکل ۱). واکنش PCR برای ۷/۵ درصد دامداران، ۶/۳ درصد کارکنان کشتارگاه، پنج درصد کارکنان دامپزشکی و دو درصد دانشجویان و اساتید دامپزشکی و مثبت بود. فراوانی موارد مثبت آزمون‌های سرولوژی و PCR در جداول ۳ آمده است. آزمون آماری McNemar نشان داد توافق معنی داری بین دو آزمون 2ME و PCR وجود دارد ($p < 0.01$) (جدول ۴).



شکل ۱. نتایج آزمون PCR برای شناسایی باکتری بروسلا.

ستون L: مارکر، ستون ۱: کنترل مثبت، ستون ۲: کنترل منفی، ستونهای ۱۰ و ۱۱ نمونه های مثبت

جدول ۴: مقایسه نتایج آزمون 2ME و PCR

		PCR		
		+	-	
	+	۱۵	۲	۱۷
2ME	-	۰	۲۸۳	۲۸۳
		۱۵	۲۸۵	۳۰۰

بحث

قطعی ترین راه تشخیص بیماری بروسلوز کشت و جداسازی باکتری بروسلا از نمونه های کلینیکی می باشد؛ اما کار روی این باکتری برای پرسنل آزمایشگاه بسیار خطرناک خواهد بود و نیاز به آزمایشگاه با سطح ایمنی بالا است. همچنین برای مشاهده نتایج کشت بسته به نوع نمونه و نیز میزان آلودگی آن به باکتری ها و قارچ ها و نیز بیووار عامل بیماری، به چندین هفته زمان نیاز است (۱۱ و ۱۲).

در مطالعه حاضر بر اساس آزمون های سرمی مشخص گردید که ۸/۸ درصد دامداران، ۷/۵ درصد کارکنان کشتارگاه، پنج درصد کارکنان دامپزشکی و دو درصد اساتید و دانشجویان دامپزشکی، بروسلوز مثبت تشخیص داده شدند. مطالعات در سایر کشورها



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

نیز نشانگر این است که دامداران و کارکنان کشتارگاه بیشتر از سایر گروه‌های در معرض خطر به بیماری بروسلوز مبتلا می‌شوند. در مطالعه‌ای توسط Mostafavi و همکاران در سال ۲۰۰۸ انجام شده است شیوع سالیانه بیماری بروسلوز در انسان ۴۳ نفر در هر ۱۰۰ هزار نفر جمعیت بود. در این مطالعه مشخص شد که بیشترین شیوع بروسلوز در ایران به ترتیب در استان‌های چهارمحال و بختیاری، لرستان، همدان، اصفهان، خراسان، فارس، آذربایجان شرقی، کرمانشاه، و استان مرکزی، آذربایجان غربی، بوده است (۱۳). در مطالعه Mukhtar و همکاران سال ۲۰۰۸ در پاکستان شیوع بروسلوز در میان کارگران کشتارگاه، را ۲۱/۷ درصد اعلام کردند (۱۴). همچنین Anisur و همکاران در کشور بنگلادش شیوع بیماری در کارگران کشتارگاه را ۲۵/۵ درصد اعلام کرد (۱۵). با توجه به نتایج مطالعه حاضر شیوع بروسلوز در بین افراد در معرض خطر نسبت به پاکستان و هند پایین‌تر است. Mishal و همکاران در سال ۱۹۹۹ اعلام کردند شیوع سرمی بیماری در میان دامداران و افرادی که در انجام زایمان دام‌ها نقش دارند بیشتر از سایر مشاغل بوده است و در این مورد تماس مستقیم با جفت آلوده راه اصلی انتقال بیماری گزارش شده است (۱۶). همچنین Beheshti و همکاران در مطالعه خود روی افراد در معرض خطر ابتلا به تب مالت، به این نتیجه رسیدند که شیوع سرمی بیماری در میان قصابان و کارگران کشتارگاه بیشتر از سایر مشاغل بوده است (۱۷). Nikokar و همکاران برای بررسی شیوع بروسلوز در میان افراد با خطر بالا در استان گیلان، از آزمایش رزبنگال و الیزا برای تشخیص موارد مثبت بیماری استفاده کردند و کارگران کشتارگاه و دامداران به ترتیب ۹/۸ درصد و ۵/۵ درصد تیترا مثبت نشان دادند (۱۸). در مطالعه حاضر آزمون رزبنگال در ۱۷/۵ درصد کارکنان کشتارگاه و ۲۰ درصد دامداران مثبت بود که نشان می‌دهد میزان آلودگی در چهارمحال بختیاری بالاتر می‌باشد. در مطالعه حاضر بعد از دامداران، بیشترین شیوع سرمی در میان کارکنان کشتارگاه مشاهده شد. کارکنان و کارگران کشتارگاه به دلیل تماس مستقیم با خون و بافت‌های آلوده مانند رحم و جفت و جنین و ترشحات رحمی آلوده، بسیار مستعد ابتلا به آلودگی می‌باشند و این افراد در بعضی از مطالعات دارای بیشترین شیوع سرمی نسبت به سایر مشاغل در معرض خطر، می‌باشند. این گروه دارای ارتباط مستقیمی با گوشت خام و سایر اعضای آلوده دام‌ها هستند و ممکن است از طریق پوست و یا غشاء مخاطی آلوده شوند. روش‌های تشخیص مولکولی هم ابزاری بسیار مفید برای تشخیص بروسلوز در انسان می‌باشند و چون این روش‌ها بر پایه تکثیر قطعات اختصاصی DNA باکتری استوار هستند، بنابراین در تشخیص مراحل ابتدایی بیماری (که تیترا آنتی بادی‌ها پایین است) و نیز در موارد عود بیماری، بسیار ارزشمند است. آزمون PCR در نمونه‌های کلینیکی روشی سریع‌تر، امن‌تر و دارای حساسیت و ویژگی بالایی جهت تشخیص باکتری بروسلا می‌باشد. در مورد نمونه‌های سرم کهنه یا آلوده و حتی نمونه‌های سرم فریز شده به مدت طولانی، که غالباً تیترا آنتی‌بادی‌ها بسیار پایین و اغلب نتیجه منفی کاذب در آزمایشات سرمی به همراه دارد، بوسیله آزمون PCR و با دقت بالا می‌توان این باکتری را در این قبیل نمونه‌ها نیز تشخیص داد (۱۹).

Morata و همکارانش در طی مطالعه بر روی ۵۹ نمونه سرم خونی مشکوک به بروسلا گزارش کردند ۵۷ نمونه از این نمونه‌ها به روش PCR مثبت شدند در حالی که فقط سه نمونه از ۵۷ نمونه با آزمون‌های سرولوژی مثبت بودند (۲۰). ولی برخلاف مطالعه Morata در مطالعه حاضر نتایج به دست آمده از آزمایشات سرولوژی و PCR نشان داد که تعداد موارد مثبت در آزمون‌های سرمی بیشتر از موارد مثبت آزمون PCR است و بیشترین توافق نتایج PCR با آزمون 2ME مشاهده شد. دلیل آن می‌تواند در خصوصیت آزمون 2ME باشد که در این آزمون آنتی‌بادی‌های نوع M شناسایی شده و IgG را شناسایی نمی‌کند. آنتی‌بادی IgG اواخر بیماری و به عنوان آنتی‌بادی محافظتی است بنابراین این افرادی که قبلاً با باکتری بروسلا آلوده شده و یا بیمار بوده‌اند دارای این آنتی‌بادی خواهند بود. در این ارتباط نیز Al-Attas و همکارانش در سال ۲۰۰۰ بیان کردند برای ارزیابی موارد بروسلوز آزمون



PCR می‌تواند به عنوان تکمیل کننده آزمون‌های سرولوژیک باشد (۲۱). در مطالعه Karimi و همکاران شیوع بیماری در کارگران کشتارگاه شیراز ۲۰ درصد گزارش شد (۲۲). نتایج این پژوهش هم‌سو بودن این دو مطالعه را نشان می‌دهد. خسروانی و همکاران در مطالعه خود برای بررسی سرواپیدمیولوژیکی بیماری بروسلوز در گروه‌های در معرض خطر و کم‌خطر، از آزمون‌های رایت، 2ME و کومبس رایت استفاده کردند و در نهایت میزان بروسلوز در گروه در معرض خطر ۶/۶۲ درصد تعیین شد (۲۳)، که با مطالعه حاضر همخوانی دارد. Jabeen در سال ۲۰۲۱ طی مطالعه‌ای نتایج سرولوژی، کشت و PCR را در ۱۰۰ نمونه خون مشکوک به بیماری بروسلوز را مورد ارزیابی قرار داد. در مطالعه نامبرده حساسیت و ویژگی آزمون PCR به ترتیب ۸۷ و ۷۳ درصد و برای آزمون رایت ۹۴ و ۷۳ درصد نسبت به کشت محاسبه شد (۲۴). با توجه به این‌که بروسلا یک باکتری سخت رشد است و جهت رشد به محیط‌های اختصاصی خاصی نیاز دارد و به دلیل پایین بودن حساسیت روش کشت، معمولاً این روش کارایی مناسبی ندارد. حساسیت روش کشت به وجود و تعداد باکتری‌های زنده بروسلا و طبیعت نمونه که معمولاً با سایر باکتری‌ها آلوده است، بستگی دارد (۲۵ و ۲۶). همچنین در پاره‌ای از موارد بخصوص موارد مزمن بیماری جدا شدن باکتری از خون امکان پذیر نبوده و اغلب از نمونه مغز استخوان برای جداسازی باکتری استفاده می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادها

بر اساس نتایج مطالعه حاضر شیوع بیماری بروسلوز در میان دامداران و کارکنان کشتارگاه و قصابان بیشتر از سایر گروه‌های در معرض خطر بود و با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان به توافق بالای آزمون 2ME و PCR اشاره کرد. همچنین باتوجه به مزایا و محدودیت‌های هر کدام از روش‌های سرولوژیک و نیز PCR، و با توجه به حضور متناوب باکتری بروسلا در خون بیماران، به منظور تشخیص دقیق افراد بیمار توصیه می‌شود که آزمون‌های سرولوژیک و نیز PCR به صورت همزمان روی نمونه اخذ شده از بیماران انجام شود.

تقدیر و تشکر

از تمامی کسانی که در جمع‌آوری نمونه همکاری کردند، همچنین خانم‌ها مهندس کبیری و لطفعلیان کارشناسان آزمایشگاه میکروبیشناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد سپاسگزاریم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

فهرست منابع

- [1]. Cutler SJ, Whatmore AM, Commander NJ. Brucellosis - new aspects of an old disease. *Journal of Applied Microbiology*. 2005; 98: 1270-81. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2005.02622.x>
- [2]. Moreno E, Cloeckart A, Moriyon I. Brucella evolution and taxonomy. *Veterinary Microbiology*. 2002; 90: 209-27. [https://doi.org/10.1016/S0378-1135\(02\)00210-9](https://doi.org/10.1016/S0378-1135(02)00210-9)
- [3]. Rezaee MA, Rashidi A, Motaharinia Y, Hossaini W, Rahmani MR. Seroprevalence study of brucellosis among high-risk groups in comparison with other people of the population in Sanandaj (West of Iran). *African Journal of Microbiology Research*. 2012; 6: 51-57. <https://doi.org/10.5897/AJMR11.1095>. [In Persian]



بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان



- [4]. Delvecchio VG, Kapatral V, Redkar RJ, Guy P, Cesar M, Tamara L, et al. The genome sequence of the facultative intracellular pathogen *Brucella melitensis*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 2002; 99: 443-448. <https://doi.org/10.1073/pnas.221575398>.
- [5]. Goldstein J, Hoffman T, Frasch C, Lizzio EF, Beining PR, Hochstein D, et al. Lipo polysaccharide (LPS) from *Brucella abortus* is less toxic than that from *Escherichia coli*, suggesting possible use of *B. abortus* or LPS from *B. abortus* as a carrier in vaccines. Infection and Immunity. 1992; 60(4): 1385-1389. <https://doi.org/10.1128/iai.60.4.1385-1389.1992>.
- [6]. Ocholi RA, Kwaga JK, Ajogi I, Virginie M, Amaia ZR, Ward B, et al. Phenotypic characterization of *Brucella* strains isolated from livestock in Nigeria. Veterinary Microbiology. 2004; 103: 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2004.06.012>.
- [7]. Elzer PH, Rowe GE, Enright FM, James TD, Alexander JW. Balb/c mice infected with *Brucella abortus* express protracted polyclonal response of both andisotypes. Immunology Letter. 1994; 42: 145-150. [https://doi.org/10.1016/0165-2478\(94\)90078-7](https://doi.org/10.1016/0165-2478(94)90078-7)
- [8]. Michaux S, Paillisson J, Carles M, Bourg G, Allardet-Servent A, Ramuz M. Presence of two independent chromosomes in the *Brucella melitensis* 16M genome. Journal of Bacteriology. 1993; 175(3): 701-705. <https://doi.org/10.1128/jb.175.3.701-705.1993>.
- [9]. Taravati V, Salarilak S, Sadeghkhalili F. Seroepidemiology study of brucellosis in the community of livestock farmers, butchers and slaughterhouse workers in Urmia. Journal of Urmia Medical Sciences University. 1386; 1: 436-441. [In Persian]
- [10]. Hosein HI, EL-Nahass S, Roubay SR, ElNesr KA. Detection of *Brucella* in Tissues and in Formalin-Fixed Paraffin Embedded (FFPE) Specimens Using PCR. Advances in Animal and Veterinary Sciences. 2018; 6(2): 55-62. <https://doi.org/10.17582/journal.aavs/2018/6.2.55.62> [In Persian]
- [11]. Pizaro J, Stephane M, Robert G, Gisou G, Alberto SL, Ignacio LG, et al. *Brucella abortus* transits through the autophagic pathway and replicates in the endoplasmic reticulum of nonprofessional phagocytes. Infection and Immunity. 1998; 66(12): 5711-5724. <https://doi.org/10.1128/IAI.66.12.5711-5724.1998>.
- [12]. Ko J, Splitter GA. Molecular host-pathogen interaction in brucellosis: current understanding and future approaches to vaccine development for mice and humans. Clinical Microbiology Reviews. 2003; 16: 65-78. <https://doi.org/10.1128/CMR.16.1.65-78.2003>
- [13]. Mostafavi E, Asmand M. Trend of brucellosis in Iran from 1991 to IRAN. Journal of Epidemiology. 2012; 8: 93-100. [In Persian]
- [14]. Mukhtar F, Kokab F. *Brucella* serology in abattoir workers. Journal of Ayub Medical College Abbottabad. 2008; 20(3): 57-61.
- [15]. Anisur R, Berkvens D, David F. Seroprevalence and risk factors for brucellosis in a high-risk group of individuals in Bangladesh. Foodborne Pathogen and Disease. 2012; 9: 190-197. <https://doi.org/10.1089/fpd.2011.1029>
- [16]. Mishal J, Ben N, Levin Y, Sherf S, Jafari J, Embon E, et al. Brucellosis outbreak: analysis of risk factors and serologic screening. International Journal of Molecular Medicine. 1999; 4: 655-8. <https://doi.org/10.3892/ijmm.4.6.655>
- [17]. Beheshti S, Rezaian GR, Azad F. Seroprevalence of brucellosis and risk factors related to high risk occupational groups in Kazeroon, south of Iran. International Journal of Occupational and Environmental Medicine. 2010; 1: 62-68.
- [18]. Nikokar I, Hosseinpour M, Asmar M, Pirmohbatee S, Hakeime F, Razavei MT. Seroprevalence of Brucellosis among high risk individuals in Guilan, Iran. Journal of Medical Sciences. 2011; 16: 1366-1371. [In Persian]
- [19]. Halling SM, Peterson-Burch BD, Bricker BJ, Richard LZ, Zhang Q, Ling-Ling L, et al. Completion of the genome sequence of *Brucella abortus* and comparison to the highly similar genomes of *Brucella melitensis* and *Brucella suis*. Journal of Bacteriology. 2005; 187: 2715-26 <https://doi.org/10.1128/JB.187.8.2715-2726.2005>.
- [20]. Morata P, Queipo MI, Reguera JM, García-Ordoñez MA, Pichardo C, Colmenero JD. Posttreatment follow-up of brucellosis by PCR assay. Journal of Clinical Microbiology. 1999; 37: 4163-4166. <https://doi.org/10.1128/JCM.37.12.4163-4166.1999>.
- [21]. Al-Eias YA, AL Mofada SM. Congenital Brucellosis. The Journal of Pediatric Infectious Disease. 1992; 221: 5-11.
- [22]. Karimi A, Alborzi A, Rasooli M, Kadivar MR. Prevalence of antibody to *Brucella* species in butchers, slaughterers and others. Eastern Mediterranean Health Journal. 2003; 9: 178-181. <https://doi.org/10.26719/2003.9.1-2.178>. [In Persian]
- [23]. Khosravani AM, Afshoon E, Yazdanpanah B. Seroepidemiological Study of Brucellosis in High Risk Groups in Boyerahmad 1384. Armaghan Danesh. 1384; 11(4): 89-96. [In Persian]



- [24]. Jabeen Sh. Detection of Brucella species by PCR from human blood. Journal of Medical Sciences. 2021; 24: 21-24.
- [25]. Sangari FJ, Cayon AM, Seoane A, García-Lobo JM. *Brucella abortus* ure2 region contains an acid-activated urea transporter and a nickel transport system. Biomedical Central of Microbiology. 2010; 107: 1-12. <https://doi.org/10.1186/1471-2180-10-107>
- [26]. Taghipour A, Sheikholeslami N, Arsangjang S. Epidemiology of Malt fever and related factors in Qom province during 1380-90. Alborz University Medical Journal. 1391; 1(4): 193-199. [In Persian]



"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws". This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited Copyright © 2023 Zoonosis.



Research Article



Serological and molecular investigation of brucellosis among high-risk people in Shahrekord city in 2021

Bonyadian M^{1*}, Karimi S²

1. Department of Health and Food Quality Control, Faculty of Vet.Med, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2. Department of Microbiology, Faculty of Vet. Med, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.



*Corresponding author: Bonyadian@sku.ac.ir

Received: 2023/04/14

Accepted: 2023/04/04

Abstract

Brucellosis is one of the five common infectious diseases between humans and animals, caused by contamination with *Brucella*. Since farmers, students, veterinary medicine staff, and slaughterhouse personnel are considered to be at risk of contamination with this bacterium, it is necessary to estimate the prevalence of the disease in these individuals. This study was conducted on 300 people with high occupational risk (farmers, veterinary staff, veterinary students, slaughterhouse personnel) in Shahrekord City, Iran. Blood serum samples were evaluated using Rose Bengal, Wright, Combs Wright, 2ME, and PCR tests. People's profile was recorded by questionnaire. Data were analyzed using Sigma stat 4 statistical software by McNemart test. The results of the Rose Bengal test showed that out of 300 samples, 46 (15.3%) had a positive reaction, but in the Wright test, 24 (8%) showed a positive reaction with a titer of 1.80 or higher. Wright's test revealed that 12.5% of farmers, 10% of slaughterhouse workers, 5.7% of veterinary staff, and 2% of veterinary students had positive titers against *Brucella*. In the 2ME test, the rates of positive cases (1:40 and more) among farmers were 8.8%, slaughterhouse workers 7.5%, veterinary staff 5%, and veterinary students 2%. DNA extraction and PCR tests on serum samples showed that 7.5% of farmers, 6.3% of slaughterhouse workers, 5% of veterinary staff, and 2% of veterinary students had the *Brucella* bacterium genome in their blood serum. The statistical test results showed a significant agreement between the results of the 2ME and PCR tests ($P < 0.01$). According to the results of the present study, the prevalence of brucellosis among farmers, slaughterhouse workers, and butchers was higher than among other groups at risk. There is a close agreement between the results of 2ME and PCR tests; therefore, the PCR can be used as a valid test to diagnose brucellosis.

Keywords: Brucellosis, Serology, PCR, High risk person.

How to cite this article: Bonyadian M, Karimi S. Serological and molecular investigation of brucellosis among high-risk people in Shahrekord city in 2021. Journal of Zoonosis. 2023; 3 (1): 1-11.