Archive of SID

فصلنامه علمی- پژوهشی زیست‌شناسی میکروارگانیسم‌ها
سال چهارم، شماره ۱۴، تابستان ۱۳۹۴، صفحه ۱۶۷- ۱۷۴
تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۹/۱۰ – تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۰۱/۳۱

"مقاله کوتاه"
مطالعه سرمی و مولکولی بروسلوز شتر در نجف آباد

محمدرضا محزونیه: استاد میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی و پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، ایران، mahzounieh@vet.sku.ac.ir
مهدی سلیمی *: دانشجوی دکتری دامپزشکی، پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام، دانشگاه شهرکرد، ایران، m.salimi@stu.sku.ac.ir

چکیده

مقدمه: بروسلوز یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز است که در کشورمان یافت می‌شود. شتر از جمله حیواناتی است که به فراوانی به ایران وارد می‌شود و هیچ برنامه نظارتی برای بیماری بروسلوز آن وجود ندارد. هدف از انجام این پژوهش، تعیین میزان آلودگی فعال و غیر فعال با استفاده از روش‌های جستجوی سرولورژی و ژنومی بروسلا در شتران کشتار شده در مرکز ایران در سال‌های ۱۳۹۱ تا ۱۳۹۲ است.

مواد و روش‌ها: از تعداد ۱۵۰ نفر شتر که در کشتارگاه نجف آباد کشتار شده بودند نمونه خون تهیه و در ظرف یخ به آزمایشگاه منتقل شد. ابتدا نمونه‌ها به وسیله آزمایش‌های سرولوژی شامل: آزمون رزبنگال، رایت لوله ای و 2ME ارزیابی شدند. نمونه‌هایی که تیتر آنتی بادی ضد بروسلا را برابر یا بیشتر از ۱:۸۰ در آزمون رایت و تیتر برابر یا بیشتر از ۱:۴۰ را در آزمون 2-ME نشان دادند، مثبت تلقی شدند. سپس، اسید نوکلئیک نمونه‌ها استخراج و به وسیله واکنش زنجیره ای پلیمراز آزمون شد.

نتایج: نتایج نشان داد میزان آلودگی در روش‌های سرولوژی رزبنگال، رایت و 2-ME، به ترتیب ۱۲، ۸ و ۶ درصد بود. اگر چه ۱/۳ درصد نمونه‌ها در آزمون PCR مثبت بودند.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به تیتر 2ME، نتایج مطالعه سرولوژی گویای مزمن بودن عفونت در این حیوانات است. در این مطالعه قطعه‌ای از ژن *pb26* ردیابی شد که در بیشتر گونه‌ها مشترک است. پژوهش حاضر نشان داد که شتر بالقوه می‌تواند حامل باکتری باشد و از این رو ورود شتر به کشور، یکی از راه‌های گسترش باکتری به بخش‌های مرکزی ایران است.

واژه‌های کلیدی: PCR، سرولوژی، بروسلا، شتر، ایران

* نویسنده مسؤول مکاتبات

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

بیماری بروسلوز از جمله بیماری‌های انتروپوزئونوز [1] است که به وسیله باکتری میله‌ای گرم منفی و درون سلولی اختیاری از جنس بروسلا به وجود می‌آید. این بیماری در حیوانات باعث کاهش تولید شیر، افزایش زمان بین دو زایش، و تداخل در برنامه تولید مثل می‌شود و یکی از مسأله‌سازترین مشکلات بهداشتی جهان، به ویژه در مناطقی از جمله ایران، ترکیه، شبه جزیره عربستان و حتی قسمتی از آمریکای مرکزی و جنوبی است (۱).

این باکتری می‌تواند از راه‌های مختلفی همچون تماس مستقیم با ترشحات تناسلی (به ویژه هنگام سقط)، خون، بافت و شیر منتقل شود. همچنین، احتمال انتقال بیماری از راه گوارشی (مصرف مواد لبنی آلوده)، تنفسی و گاهی از راه عمودی وجود دارد (۲).

پس از ورود باکتری و تهاجم اولیه، جرم در عقده‌های لنفاوی ناحیه جایگزین شده و از طریق لنف و خون گسترش می‌یابد و به اندام‌های دیگر از جمله کبد، طحال، مغز استخوان و سایر قسمت های سیستم رتیکولواندوتلیال انتقال می‌یابد. باکتریمی موقت موجب انتشار و موضعی شدن باکتری در اندام‌ها و غدد ضمیمه تناسلی حیوانات بالغ می‌شود (۳).

سرم حیوان حساس حاوی گلوبولین است که از رشد سویه‌های خشن یا غیر حاد ممانعت می‌کند ولی سویه‌های حاد به خوبی رشد می‌کنند. دام مقاوم دارای گلوبولین در سرم است بنابراین، فرم صاف به سرعت تبدیل به فرم خشن می‌شود (۴).

در حیوانات در مناطق معتدل بروسلوز حاد بیشتر در فصل‌های بهار و تابستان رخ می‌دهد، زمانی که بیش‌ترین موارد سقط و زایمان اتفاق می‌افتد. علت آن می‌تواند به برخورد بیشتر حیوانات با ترشحات تناسلی و شیر مربوط باشد (۵).

بروسلوز شتر برای نخستین بار در سال ۱۹۳۱ توسط سولونی‌تسین [2] گزارش شد (۶). اگر چه علایم کمتری نسبت به گاو نشان می‌دهد. آلودگی تجربی شترهای یک کوهانه غیر آبستن با سوش‌های فیلدی *بروسلا ابورتوس*، علایم خفیف و گذرای کاهش اشتها، لنگش خفیف و ترشح دوطرفه اشک را در پی داشت. اورکیت، التهاب اپیدیدیم، التهاب جفت، جفت ماندگی، عفونت ادرای، مرگ جنین و مومیایی شدن، به تأخیر افتادن بلوغ و ناباروری، ارتریت، هیگروما و سقط نیز از علایم قابل مشاهده در موارد بروسلوز شتران است (۷).

بر اساس آمار منتشر شده توسط سازمان خوار و با جهانی کمابیش ۲۴ میلیون نفر شتر در جهان وجود دارد که از این میزان ۱۵۲ هزار نفر در ایران هستند. بیش‌ترین جمعیت شتر در ایران به ترتیب مربوط به استان‌های سیستان و بلوچستان، خراسان، کرمان، یزد و هرمزگان است. شتر در ایران بیشتر به منظور تولید گوشت و در مرتبه بعد برای تولید شیر، پشم و مو نگهداری می‌شود، به نحوی که در سال ۱۳۸۲ در استان سمنان ۶۳۴۴ کیلوگرم پشم و مو از این حیوان تولید شده است (۵).

از آنجا که شتر رابطه نزدیکی با اجتماع انسانی به ویژه در کشورهای جهان سوم دارد، می‌تواند بسیاری از عومل پاتوژن را به انسان منتقل کند. شتر به فراوانی از مرزهای شرقی به کشورمان وارد می‌شود و به نقاط مختلف کشور برده می‌شود، بنابراین، احتمال گسترش بیماری از این راه وجود دارد. در مطالعات منتشر شده، وجود پاتوژن‌های ویروسی، باکتریایی و انگلی مشترک در شتر اثبات شده است (۸). از آنجا که از روش‌های

www.SID.ir

Archive of SID

مولکولی برای شناسایی این باکتری در شتر در منطقه مورد مطالعه استفاده نشده بود، نگارندگان لازم دیدند طی یک مطالعه مقطعی به جستجوی ژنومی این باکتری در خون شتر بپردازند.

مواد و روش‌ها

نمونه: به منظور ردیابی گونه‌های باکتری بروسلا در خون شتر در سال ۱۳۹۱ و ۱۳۹۲ از تعداد ۱۵۰ نفر شتر کشتار شده در کشتارگاه نجف آباد خون‌گیری انجام شد. به منظور جلوگیری از انعقاد خون به نمونه‌ها، هپارین اضافه و در کنار یخ به آزمایشگاه پژوهشکده بیماری‌های مشترک انسان و دام دانشگاه شهرکرد منتقل شد. شایان ذکر است که بیشتر شتران یاد شده، وارداتی بودند.

آزمون‌های سرولوژی

آزمون رزبنگال: به منظور ردیابی آنتی بادی‌های ضد گونه‌ها بروسلا از نمونه‌ها، سرم تهیه شد و به وسیله آزمون رزبنگال آزمون شد: ۳۰ میکرولیتر از سرم با ۳۰ میکرولیتر آنتی ژن رزبنگال تهیه شده از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی روی لام مجاور و گسترده شد. پس از ۳ دقیقه نتایج زیر نور خوانده شد و موارد ++ به‌عنوان مثبت در نظر گرفته شد.

آزمون رایت لوله‌ای: ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از سرم با ۰/۸میلی لیتر آب مقطر فنوله مخلوط شد و سپس از لوله‌های اول ۰/۵ میلی‌لیتر به لوله های دوم حاوی ۰/۵ میلی‌لیترآب مقطر فنوله برده شد. سپس، ۰/۵ میلی‌لیتر آنتی ژن تهیه شده از شرکت بهینه پرور پارسیان (سویه بروسلا ابورتوس ویبریج S99 [3]) اضافه شد. پس ازگرم‌خانه‌گذاری موارد تیتر بیشتر از ۱:۸۰ برابر با ۱۲۰ واحد بین المللی به عنوان مثبت در نظر گرفته شد.

آزمون 2ME: ابتدا ۰/۲ میلی‌لیتر از سرم با ۰/۸ میلی‌لیتر بافر ۲- مرکاپتو اتانول مخلوط و به مدت ۶۰ دقیقه در گرم‌خانه گذاشته و به روش آزمایش رایت عمل شد. تیترهای بیشتر از ۱:۴۰ برابر با ۶۰ واحد بین‌المللی در میلی‌لیتر مثبت تلقی شد.

استخراج DNA: به منظور استخراج اسیدنوکلئیک باکتری گرم منفی از خون کامل، کیت اختصاصی شرکت سیناکلون بر اساس دستورالعمل سازنده استفاده شد. به این منظور نمونه‌ها در دمای اتاق مدتی نگه داشته و مراحل استخراج به ترتیب زیر انجام شد:۱۰۰ میکرولیتر نمونه با ۷۰۰ میکرولیتر از محلول لیزکننده مخلوط و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس شد.۵۰۰ میکرولیتر از محلول پرسیپیتاسیون [4] اضافه و به مدت ۵ ثانیه ورتکس و در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. محلول رویی به آهستگی خارج شد. یک میلی‌لیتر از محلول شستشو به پلیت اضافه و ۳ تا ۵ ثانیه ورتکس و به مدت ۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. این عمل دوبار تکرار شد. پس از خارج کردن محلول بافر رویی، درب میکروتیوب‌ها باز و رسوب در ۶۵ درجه سانتی‌گراد خشک شد. در ادامه پلیت در ۵۰ میکرولیتر از بافرسولونت [5] معلق و به آرامی به‌هم زده شد و ۵ دقیقه در ۶۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد.

واکنش تکثیری: تکثیر ژنوم باکتری حاصل از مرحله قبل در حجم ۱۲ میکرولیتر از مواد شامل: ۶ میکرولیتر مستر رد [6]، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر [7]، ۴ میکرولیتر آب مقطر و ۱ میکرولیتر از اسیدنوکلئیک باکتری انجام شد. از واکسن‌های Rev1/S19 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد. برنامه دمایی در این آزمایش به ترتیب ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت

www.SID.ir

Archive of SID

۵ دقیقه (یک بار قبل شروع چرخه‌های دمایی) و ۴۰ چرخه شامل: ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت۴۵ ثانیه، ۵۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱ دقیقه و در نهایت، به مدت ۷ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد نگه داری شد. این سیکل دمایی در دستگاه ترموسایکلر [۸] انجام شد. در پژوهش حاضر قطعه‌ای از ژن *pb26* ردیابی شد که بیشتر گونه‌های بروسلا از جمله دو گونه *ملی تنسیس* و *ابورتوس* که در ایران اندمیک هستند، مشترک است.

نتایج

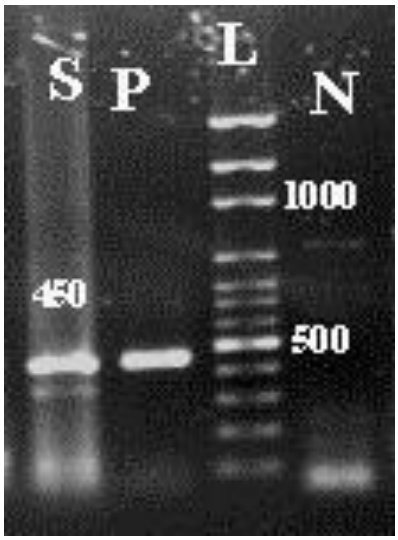
۱۲ درصد موارد آزمایش شده در آزمون رزبنگال نتیجه مثبت نشان دادند. با این‌حال، ۱/۳درصد موارد نمونه‌های خون شتران یک کوهانه کشتار شده در کشتارگاه نجف آباد واکنش مثبت PCR نشان دادند و حاوی ژنوم گونه‌های باکتری بروسلا بودند (شکل ۱). همان‌طور که در تصویر مشاهده می‌شود از واکسن‌های Rev1/S19 به عنوان کنترل مثبت و از آب مقطر به عنوان کنترل منفی استفاده شد. اطلاعات بیشتر در جدول ۱ آورده شده است.

جدول ۱- تعداد و درصد موارد مثبت

آزمون	تعداد	درصد
رز بنگال	۱۸	۱۲
رایت	۱۲	۸
2-ME	۹	۶
PCR	۲	۱/۳

جدول ۲- پرایمرهای مورد استفاده

Primers	Sequence 3' → 5'	Amplicon size (bp)	Ref
BMEI0997r	GCT TCG CATTTTCAC TGT AGC	۴۵۰	۸
BMEI0535f	GCGCATTCTTCGGTT TG AA		



شکل ۱- رنگ آمیزی محصولات PCR،
S باند ۴۵۰ جفت بازی ازنمونه‌های مورد آزمون، P کنترل مثبت،
N کنترل منفی، مارکر ۱۰۰ جفت بازی

بحث و نتیجه‌گیری

بروسلوز از جمله بیماری‌های مهم و قابل گزارش است که تشخیص آن در انسان با توجه به علایم کلینیکی قابل اعتماد نیست و می‌تواند با بیماری‌های همچون مالاریا، تیفوئید و لپتوسپیروز اشتباه شود (۹). در حیوانات نیز علایم بیماری اختصاصی [۹] نیست و بیشتر به شکل مزمن است و پس از یک تب خفیف باکتری در رحم، بیضه و غدد پستانی جایگزین شده و به کرات دفع می‌شود (۱۰). از این رو کنترل بیماری در جوامع انسانی ارتباط مستقیم با کنترل و ریشه‌کنی بیماری در حیوانات دارد.

برای تشخیص بیماری در دام و انسان نیاز به انجام آزمایش‌های پاراکلینیکی از جمله آزمایش‌های آگلوتینایسون [۱۰] مانند رز بنگال [۱۱] و رایت، ثبوت عناصر مکمل، الایزا، آزمایش کومبس، کشت باکتری و جستجوی ژنومی باکتری است. در حیوانات بر خلاف موارد انسانی وجود IgM در سرم حیوان مشکوک

www.SID.ir

Archive of SID

می‌تواند بیانگر تیتر ناشی از واکسیناسیون باشد. ولی در مورد شتر چون هیچ‌گونه واکسیناسیونی علیه بیماری بروسلوز انجام نمی شود بنابراین، وجود IgM را فرم حاد بیماری در نظر گرفتیم.

از آنجا که ۲ مرکاپتواتانول قادر به شکستن پیوندهای دی‌سولفیدی بین پنتامر IgM است و بنابراین، حضور این نوع آنتی بادی در سرم شتران مورد مطالعه (کاهش تیتر از ۸ درصد به ۶ درصد به ترتیب درمورد آزمایشات رایت و 2ME) بیان‌گر موارد حاد بیماری است، بنابراین اثبات ژنوم باکتری در ۱/۳ درصد موارد با نتایج آزمون‌های سرولوژی هم‌خوانی داشته و به نحوی موید آن است. همچنین، حضور IgG در سرم حیوانات مورد مطالعه بیانگر برخورد قبلی با بیماری و مزمن بودن بیماری در بیشتر حیوانات است، بنابراین منفی شدن نتایج PCR در موارد تیتر آزمایش رایت توجیه‌پذیر است. این مطالعه نشان داد روش‌های مولکولی در ارزیابی بیماری بروسلوز شتر از دقت مناسب برخوردار است که با مطالعات قبلی هم‌خوانی دارد (۱۱).

در این مطالعه از پرایمرهایی با تولی یاد شده در جدول ۲ استفاده شد. جفت توالی یاد شده قطعه‌ای ۴۵۰ جفت بازی را کد می‌کند که بر گرفته از ژن *pb26* است و محصول رونویسی آن آنتی‌ژن‌های سرکوب‌گر ایمنی هستند. توالی استفاده شده از Bruc-lader انتخاب شد که حاصل مطالعه ژنتیکی ۶۲۵ سوش بروسلا از مناطق مختلف و حیوانات متفاوت، شامل پستانداران دریایی و انسان است. توالی یاد شده توانایی شناسی تمام گونه‌های باکتری بروسلا به جز گونه‌های *بروسلا ستی* و *بروسلا پنی‌پدیالیس* را داراست (۱۲).

جستجوی آنتی‌بادی‌های ضد بروسلا در خون شتر یکی از آسان‌ترین روش‌های غربال‌گری بیماری است و به طور معمول انجام می‌شود (۱۳ و ۱۴). بنابراین، در پژوهش حاضر از روش یاد شده استفاده شد ولی از طرفی احتمال بروز واکنش‌های سرمی متقاطع بین گونه‌های بروسلا و گونه *یرسینیا انترو کولیتیکا* سروتیپ O9 وجود دارد. بنابراین، در پژوهش حاضر از هر دو روش سرولوژی و مولکولی استفاده شد.

برخی از پژوهشگران از جمله گویدا [۱۲] و همکاران معتقدند آزمون‌های سرولورژی تشخیص بروسلوز شتر به علت اینکه به طور مستقیم از آنتی‌ژن‌های تولید شده از گاو استفاده می‌کنند و هیچ گونه معتبرسازی [۱۳] برای شتر انجام نمی‌شود [۱۴]، نمی‌توانند دقت لازم را داشته باشند. همچنین بیان شده است که شتر نسبت به گاو میزان کمتری آنتی‌بادی ضد بروسلا تولید می‌کند (۷).

شترهای سروپوزیتیو در کشورهای پاکستان، عراق، عمان، کویت و عربستان سعودی و ایران مشاهده شده‌اند (۱۵ و ۱۶). پورجعفر [۱۵] و همکاران در سال ۱۳۸۵ میزان آلودگی را براساس آزمایش‌های رزبنگال، رایت و 2-ME در بین شتران نجف‌آباد ۲/۸۶، ۱/۶۵ درصد گزارش کردند. شایان ذکر است که در مطالعه یاد شده تیتر برابر در آزمایش‌های رایت و 2-ME بیان‌گر مزمن بودن بیماری در حیوانات مورد مطالعه بوده است (۱۷). ابراهیمی [۱۶] و همکاران این میزان را برای شتران منطقه یاد شده در سال ۲۰۰۶ به ترتیب ۱/۳، ۳/۹ و ۲/۶ درصد بیان کردند (۱۸). اگر چه این مطالعه افزایش میزان آلودگی در منطقه و موارد حاد بیماری را نشان می‌دهد.

خواجه[۱۷] و همکاران در سال ۱۹۹۷ نشان دادند که شتران بوشهر به میزان ۱/۹۳ درصد حاوی آنتی‌بادی‌های ضد بروسلا هستند و موفق شدند *بروسلا ملی‌تنسیس* بایوتیپ ۱ را از غدد لنفاوی جدا کنند. آن‌ها بیان داشتند

www.SID.ir

Archive of SID

که شتران ماده بوده و در رنج سنی ۵ تا ۷ سال و سابقه‌ای از سقط را دارا بودند (۱۹).

بیشر مطالعات گونه‌های ملی‌تنسیس و ابورتوس را عامل بروسلوز شتر می‌دانند (۱). اگرچه پژوهش ذوقی و عبادی [۱۸] نیز نشان داد که *بروسلا ملی‌تنسیس* بایوتیپ ۱ عامل بروسلوز شتر در ایران بوده است (۲۰). اگر چه المجالی [۱۹] و همکاران نشان دادند *که بروسلا ملی‌تنسیس* بایوتیپ ۳ عامل سقط در گله‌های شتر در اردن بوده است (۲۱).

بررسی‌های اپیدمیولوژیک نشان می‌دهد که بیشتر موارد به علت مشکلات پرورش، شتر را همراه با گوسفند و بز نگه‌داری می‌کنند و نگهداری شتر با گاو کمتر انجام می‌شود و بیان می‌شود که آلودگی آب و غذای شتر با ترشحات گوسفند و بز از علل آلودگی بیشتر شتر با گونه بروسلا ملی‌تنسیس است (۲۱). در منطقه مورد مطالعه شتر به همراه گوسفند یا بز پرورش داده نمی‌شود و می‌توان علل وجود عفونت در میان شتران را به شتر راهنما نسبت داد. زیرا شتر یاد شده به منظور راهنما برای شتران وحشی هر روز به کشتارگاه آورده می‌شود و ساعاتی در محل اجتماع حیوانات می‌ماند. بنابراین، ممکن است آلودگی را به گله منتقل کند.

انواع گونه‌های شتر به بیماری بروسلوز آلوده می‌شوند به ویژه زمانی که در ارتباط با نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ قرار دارند. رفیعی پور و همکاران نشان دادند که میزان آلودگی شتران در شهر بافت بر اساس آزمون رزبنگال و 2-ME به ترتیب ۱۰/۵ و ۷/۹۲ درصد بوده است (۱۶).

بروسلوز دامی برای نخستین بار در سال ۱۳۲۳ در ایران تشخیص داده شد و از سال ۱۳۲۸ مبارزه با این بیماری با مایه‌کوبی گوساله‌های ماده با واکسن S19، آزمایش سرولورژی و کشتار دام‌های آلوده شروع شد (۲۲). ولی متأسفانه پس از ۶۴ سال هنوز موفق به ریشه‌کنی این بیماری نشده‌ایم واز جمله علت‌های آن می‌توان به ورود عامل بیماری از طریق حیوانات آلوده به کشور اشاره کرد. می‌توان گفت که واردات شتر از جمله راه‌های بالقوه انتشار باکتری به ایران است که باید در برنامه‌های کنترل وریشه‌کنی مدنظر قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از جناب آقای دکتر علی پزشکی به خاطر در اختیار قرار دادن تجهیزات آزمایشگاهی و سرکار خانم مرضیه صفر پور به خاطر الطاف بی پایانشان تشکر و قدردانی می‌کنند.

References

(1) Young E.J., Corbel M.J. *Brucellosis: Clinical and laboratory aspects*. Zoghi E. (Translator). Tehran, Iran: Ministry of Health and Medical Education; 2004.

(2) Sofian M., Zolfaghari F., Sarmadian H., Ramezani A., Farazi A.A. Comparison of the Clinical Manifestation and Epidemiologic and Laboratory Data in Brucella and Non-Brucella Bacterial Epididymorchitis. *Scientific Journal of Zanjan University of Medical Sciences* 2012; 20 (82): 101- 07.

(3) Quinn P.J., Markey B.K., Carter M.E., Donnelly W.J.C., Leonard F.C. *Veterinary Microbiology and Microbial Disease*. Zahraeisalehi T., Shayegh J (Persian translator).1st. ed. Tehran: Tehran University of press; 2008: 302- 3.

www.SID.ir

Archive of SID

(4) Tabatabayi A.H., Firouzi R. *Diseases of animal due to bacteria*. 3rd ed. Tehran: University of Tehran press; 2010: 305- 7.

(5) Ansari Renani H.R., Baghershah H.R., Moradi S. Effect of Age on Fiber Characteristics of one-humped Female Camels of Semnan Province. *Iranian Journal of Animal Science Research* 2011; 3 (2): 201- 3.

(6) Solonitsuin MO. Brucellosis in camels. *Veterinarya* 1949; 26: 16- 21.

(7) Gwida M., El-Gohary A., Melzer F., Khan I., Rösler U., Neubauer H. Brucellosis in camels. *Research in Veterinary Science* 2012; 92 (3): 351- 5.

(8) Mehrabiyan S., Mahzounieh M., Rabbani Khorasganiosravi M., Tahmasby H., Amiri Dehcheshmeh J., Ghorbani A., *et al*. Molecular detection of Trypanosoma from one-humped camels slaughtered in Najafabad slaughterhouse . *Biological Journal of Microorganism* 2014; 3 (10): 45- 50.

(9) Rahmani M., Motaharinia Y., Rezai M.A., Asadzadehhoseini N., Mohsenpour B., *et al*. Isolation and determination species from brucellosis patient blood sample by biochemical, PCR and serological method in Kurdistan province. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciencs* 2011; 16: 1- 8.

(10) Corbel M.J. *Brucellosis in humans and animals*. World Health Organization 2006: 10- 17.

(11) Ghorbani A., Rabbani Khorasgani M., Zarkesh-Esfahani H., Sharifiyazdi H., Dehghan Kashani A., Emami H., *et al*. Comparison of serology, culture and PCR for detection of brucellosis in camels in Iran. *Comparative Clinical Pathology* 2012; 166: 1- 12.

(12) Lopez-Goni D., García-Yoldi C.M., Marín M.J., De Miguel P.M., Munoz J.M. Evaluation of a Multiplex PCR Assay (Bruce-ladder) for Molecular Typing of All Brucella Species, Including the Vaccine Strains. *Journal of Clinical Microbiology* 2008; 46 (10): 3484- 7.

(13) Gwida M., El-Gohary A., Melzer F., Tomaso H., Rösler U., Wernery U., *et al*. Comparison of diagnostic tests for the detection of Brucella spp in camel sera. *BMC Research Notes* 2011; 4: 525- 32.

(14) Kudi A., Kalla D., Kudi M., Kapio G. Brucellosis in camels. *Journal of Arid Environments* 1997; 37: 413- 17.

(15) Abbas B., Agab H. A review of camel brucellosis. *Preventive Veterinary Medicine* 2002; 55 (1): 47- 56.

(16) Rafieipour A., Ziaei N. Brucellosis of camels in Iran. *Veterinary Science Development* 2011; 1 (1): 58- 9.

(17) PourJafar M., Mahzounieh M., Momtaz H. Serological survey on camel brucellosis in slaughtered camels in Najaf Abad abattoir. *Pajohesh va Sazandegi* 2007; 71: 90- 1.

(18) Ebrahimi A., Hosseinpour F., Montazeri B. Seroprevalence of brucellosis in dromedaries in Iran. *Journal of Camel Practice and Research* 2007; 14 (1): 43- 44.

(19) Khadjeh G., Zowghi E., Zarif-fard M.R. Incidence of Brucellosis in One-Humped Camels of Boushehr, Iran. *Archives of Razi Institute Journal* 1999; 50: 93- 86.

(20) Zowghi E., Ebadi A. Brucellosis in camels in Iran. *Revue scientifique et technique (International Office of Epizootics)* 1988; 7 (2): 383- 6.

(21) Al-Majali A.M, Al-Qudah K.M., Al-Tarazi Y.H., Al-Rawashdeh O.F. Risk factors associated with camel brucellosis in Jordan. *Tropical Animal Health* and *Production* 2008; 40 (3): 193- 200.

(22) Mostafavi E., A-samand M. Process of brucellosis (mult fever) in Iran during 1993- 2006. *Iranian Journal of Epidemiology* 2012; 8 (1): 94- 101.

www.SID.ir

Archive of SID

[1]- Anthropozoonoses
[2]- Solonitsuin
[3]- Weybridge
[4]- Precipitation
[5]- solvent
[6]- Cat No., 180301, Amplicon, Denmark
[7]- TAG, Copenhagen
[8]- Applied Biosystem, USA
[9]- pathognomic
[10]- Agglutination
[11]- Rose Bengal
[12]- Gwida
[13]- validation
[14]- Al-Majali
[15]- PourJafar
[16]- Ebrahimi
[17]- Khadjeh
[18]- Zowghi & Ebadi
[19]- Al-Majali

www.SID.ir

Archive of SID

"Short article"

Serological and molecular survey on camel brucellosis in Najaf Abad

Mohammad-Reza Mahzounieh
Associate Professor of Microbiology, Member of Research Institute of Zoonotic Diseases, University of Shahrekord, Iran, mahzounieh@vet.sku.ac.ir
Mahdi Salimi *
D.V.M. Student, Member of Research Institute of Zoonotic Diseases, University of Shahrekord, Iran, m.salimi@stu.sku.ac.ir

Abstract

Introduction: Brucellosis which is an important zoonotic disease, exists in our country. Camel is an animal that is frequently imported to Iran and doesn't have any inspection for its brucellosis. The objective of this study was determination of active and passive infection by serologic and genomic detection of brucellosis in one-humped camel that was slaughtered in central part of Iran during 2012- 2013.

Materials and methods: For this purpose, 150 blood samples were collected from camels that were slaughtered in Najaf-Abad abattoir and they transported to laboratory in cool box. Initially, Samples were tested by serological methods include: Rose Bengal plat test, tube agglutination test and 2-mercaptoethanol test. Samples which showed anti-brucella antibodies titer equal or more than 1/80 in Wright test and equal or more than 1/40 in 2-ME test were considered as positive. Nucleic acid of samples were extracted and tested by polymerase chain reaction.

Results: Results showed that the infection rates were12, 8 and 6 % in RBPT, tube agglutination and 2-ME tests respectively. However 1.3 % of samples were positive in PCR test.

Discussion and conclusion: According to 2ME titers, results of serological tests indicated that animals were chronically infected. In present study sequence of *pb26* gene was detected, that is common in most brucella species. Present study shows that camel can be a potential carrier; therefore importing camel to the country is a way of bacterial spread to central part of Iran.

Key words: PCR, Serology, Brucella, Camel, Iran

* Corresponding author
Received: December 1, 2013 / **Accepted:** April 20, 2014

www.SID.ir