

بررسی شیوع سرمی بروسلوز و برخی از عوامل خطر مؤثر بر آن در جمعیت دام روستایی استان زنجان

• محمدباقر حاج کاظمی

دانشجوی دکتری تخصصی اپیدمیولوژی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران
• علیرضا باهنر (نویسنده مسئول)

استاد اپیدمیولوژی، گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

• بهار نیری فسایی

استادیار، گروه میکروبیولوژی و ایمونولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران
• عباس رحیمی فروشانی

استاد گروه آمار و اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۱۲-۰۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸-۰۳-۰۴

Email: abahonar@ut.ac.ir



چکیده

بروسلوز یکی از شایع‌ترین بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و دام در ایران می‌باشد. بر اساس بروز سالانه بروسلوز انسانی، استان زنجان در گروه با خطر بالا طبقه‌بندی شده که به نظر می‌رسد مربوط به شیوع بالای بیماری در دام‌های اهلی استان باشد. این مطالعه مقطعی در نیمه اول سال ۱۳۹۷ جهت برآورد میزان شیوع، تعیین و سنجش عوامل خطر مؤثر بر آن در دام‌های روستایی استان زنجان در سطح انفرادی و گله‌ای صورت گرفت. برای این منظور از آزمایش‌های سرم‌شناسی رزبنگال (Rose Bengal)، رایت (Wright) و ۲-مرکاپتواتانول (2-Meraptoetanol) همراه با تفسیر متوالی آن‌ها استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان شیوع سرمی انفرادی و گله‌ای بیماری به ترتیب ۴،۰ درصد و ۳۳،۲ درصد بوده و در ۵۱،۹ درصد روستاها دام دارای تیترا آنتی‌بادی علیه بروسلا وجود داشت. برآورد نسبت شانس (Odds Ratio: OR) نشان داد که دهن یا سوزاندن جنین، جفت و پرده‌های جنینی سقط شده (OR=۰،۲۱) و جمع‌آوری روزانه کود در فصل زایش (OR=۰،۳) از عوامل محافظت‌کننده در شیوع بیماری بوده در حالی که وجود بز در ترکیب گله (OR=۹،۰)، وجود سگ گله اختصاصی در دامداری (OR=۷،۹)، معرفی دام جدید به گله (OR=۵،۰)، جنین، جفت و پرده‌های جنینی سقط شده را در اختیار سگ قرار دادن (OR=۳،۶)، رها نمودن این اندام‌ها در محیط (OR=۵،۲)، دانش ناکافی دامدار در مورد روش‌های انتقال بیماری (OR=۳،۳)، نبود سابقه واکسیناسیون علیه بروسلوز (OR=۱۰،۳) و وجود سابقه سقط جنین در دام (OR=۳،۷) به عنوان عوامل خطر مهم برای ابتلاء سرمی بروسلوز شناخته شد. لذا در کنار اقدامات کنترلی معمول، به منظور مبارزه هدفمند با بروسلوز در استان ضروری است در جهت تقویت عوامل محافظت‌کننده و نیز در راستای تضعیف عوامل خطر بیماری اقدامات کنترلی اختصاصی را تعریف و اجرا نمود.

کلمات کلیدی: بروسلوز، شیوع سرمی، عوامل خطر، نشخوارکنندگان، زنجان

• Veterinary Researches & Biological Products No 127 pp: 75-83

Seroprevalence and associated risk factors of brucellosis in rural domestic ruminants in Zanjan province

By: hajkazemi, M.B., PhD student in epidemiology, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of veterinary medicine, university of Tehran, Iran. Bahonar, A.R., (Corresponding Author) Professor, Department of Food Hygiene and Control, Faculty of veterinary medicine, university of Tehran, Iran. Nayeri Fasaei, B., Assistant Professor, Department of Microbiology and Immunology, Faculty of veterinary medicine, university of Tehran, Iran. and Rahimi Froushani, A., Professor, Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences.

Received: 2019-02-28 Accepted: 2019-05-25

Email: abahonar@ut.ac.ir

Brucellosis is one of the most common zoonoses in Iran. Zanjan province has been categorized as a high-risk region based on annual human Brucellosis incidence reports. It seems the high prevalence of the disease is related to the morbidity of disease in the domestic animals. This cross-sectional survey was carried out between January and December 2018, to estimate the seroprevalence and related risk factors in rural domestic ruminants in Zanjan province at individual and herd levels. For this purpose, Rose Bengal, Wright and 2-Mercaptoethanol serological tests with serial interpretation were used. The results showed that the seroprevalence of the disease at individual and herd-level were 4.0% and 33.2% respectively. In 51.9% of the villages there were animals with antibody titres against Brucella. Estimating of odds ratio (OR) showed that aborted fetal and related membranes burial (Odds Ratio: OR=0.2) and daily removing of manure in Livestock breeding season (OR=0.3) were protective factors. leaving aborted fetuses, fetal placenta and embryonic layers for the dogs (OR=3.6), disposal of the organs in the environment (OR=5.2), presence of goats in the herd/flock composition (OR=9.0), Abortion history (OR=3.7), the presence of herd dogs in farm (OR=7.9), inadequate knowledge of farmer about the disease transmission routes (OR=3.3), introduction of new animal to the herd (OR=5.0) and lack of vaccination history against brucellosis (OR=3.7) were significant risk factors. Therefore, it is essential to define and execute specified measures in order to strengthen protective factors and also weaken the risk factors of the disease in the province.

Key words: Brucellosis, Seroprevalence, Risk factors, ruminant, Zanjan

سوئیس مهم‌ترین علت این بیماری در خوک و بروسلا کنیس (*B.canis*) شایع‌ترین عامل این بیماری در سگ می‌باشد (۴) اما جالب است که انواع گونه‌های ذکر شده انسان را آلوده می‌کنند (۵). مطابق آمار سازمان جهانی بهداشت سالانه بیش از ۵۰۰ هزار مورد جدید بیماری بروسلوز انسانی گزارش می‌شود و موارد ناشناخته بیماری چهار برابر این تعداد است (۶). انتقال آنها به انسان از طریق مصرف شیر و فرآورده‌های لبنی آلوده و یا تماس مستقیم با حیوانات یا دام‌های آلوده است. ضعف، درد مفاصل، سردرد، تب مواج، درد پشت و تعریق برخی علائم بروسلوز در انسان هستند (۵). مهم‌ترین روش‌های انتقال بروسلوز به دام‌ها از طریق تماس مستقیم، آلودگی محیطی (متعاقب سقط)، انتقال جنسی (جفت‌گیری) و یا تلقیح مصنوعی است (۷).

امروزه بروسلا بومی کشور ایران بوده و بهداشت عمومی را شدیداً تحت تأثیر قرار داده است (۶). طبق گزارش وزارت بهداشت و آموزش پزشکی

مقدمه

امروزه بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان (zoonoses) به‌عنوان یکی از مشکلات مهم بهداشت عمومی مطرح بوده و تاریخچه علوم دامپزشکی هم عمدتاً بر کنترل این بیماری‌ها متمرکز بوده است (۱). بروسلوز از زمره مهم‌ترین این گروه از بیماری‌ها بوده که گاو، گوسفند، بز، خوک، شتر، سگ و برخی از پستانداران دریایی را متأثر ساخته و به انسان نیز منتقل می‌شود و تبعات بهداشتی، اقتصادی و اجتماعی زیادی به‌خصوص در کشورهای کم‌درآمد دارد (۲،۳). این بیماری توسط انواع مختلف جنس باکتری بروسلا (*Brucella*) ایجاد می‌شود که تمایل به گونه‌های میزبان‌های خاص حیوانی دارد (۲). بر اساس مستندات بروسلا آبورتوس (*Brucella abortus*) اغلب باعث بروسلوز گاو می‌شود هرچند بروسلا ملیتنسیس (*B.melitensis*) و بروسلا سوئیس (*B.suis*) هم آن را آلوده می‌کنند. بروسلا ملیتنسیس عامل اصلی بروسلوز گوسفند و بز، بروسلا

نمونه موردنیاز جهت پیدا کردن حداقل یک نمونه مثبت، با فرض شیوع مورد انتظار ۲٫۹۳ درصد (۹)، سطح اطمینان ۹۵ درصد، حداکثر خطای ۰٫۰۰۶ و اثر طرح (design effect) نمونه‌گیری به مقدار ۱٫۸، حداقل تعداد نمونه لازم ۵۴۶۵ سرم و از ۵۴ روستا (هر روستا ۱۰۱ نمونه) تعیین شد (۱۰). با توجه به اینکه همولیز شدن تعدادی از خون‌ها و در نتیجه عدم امکان تهیه سرم به تعداد موردنیاز در هر روستا دور از انتظار نبود لذا مقرر شد از هر روستا حداقل تعداد ۱۱۰ نمونه خون تهیه شود. در نهایت تعداد نمونه‌های حاصل ۵۵۸۴ سرم بود که مورد آزمایش قرار گرفته و وارد آنالیز گردید. تعداد روستاهای هر شهرستان جهت نمونه‌گیری متناسب با سهم روستاهای آن شهرستان از استان و طبق جدول ۱ بود.

روستاها و دامداران موردنظر به صورت تصادفی ساده انتخاب شدند. با توجه به اینکه یکی از اهداف اصلی این بررسی یافتن عوامل خطر در سطح گله بود (علاوه بر سطح انفرادی)، شرط اساسی ورود دامدار به این فهرست نگهداری و یا چرای دام‌های مربوطه به صورت اختصاصی و عدم مخلوط نمودن دام‌های دامدار با سایر دام‌های روستا تعیین گردید. شرط سنی ورود گوسفند و بز به مطالعه حداقل ۱۸ ماه بود تا از عدم دخالت تیت ناشی از واکسن REV۱ در واکنش سرمی اطمینان حاصل شود. شرط سنی برای گونه گاو چهار ماه منظور شد چراکه حتی در صورت دریافت واکسن RB۵۱، تیت حاصل از این واکسن تداخلی در آزمایش‌های تشخیص سرمی بروسولوز ندارد.

روش تهیه نمونه

بعد از توجیه دامدار و اعلام رضایت شفاهی وی، از ورید وداج تمامی گوسفند، بز و گاو واجد شرایط متعلق به او به مقدار ۷-۱۰ میلی‌لیتر نمونه خون در لوله‌های خلادار تهیه و کدگذاری شده و همزمان اطلاعات انفرادی مربوط هر دام اخذ و ثبت می‌شد. نمونه‌های خون حداقل به مدت ۳۰ دقیقه در محلی ثابت و در درجه حرارت محیط نگهداری می‌شد تا فرایند انعقاد صورت پذیرد و در این فاصله اطلاعات لازم جهت تکمیل پرسشنامه و فرم با دقت تهیه و درج می‌گردید. انتخاب دامدار بعدی، نمونه‌گیری، تکمیل پرسشنامه و فرم تا جایی ادامه می‌یافت که تعداد ۱۱۰ نمونه خون در هر روستا تهیه شود. در نهایت تعداد کل دامداران منتخب ۲۸۰ نفر بود که دام‌های هریک از آن‌ها در حکم یک گله تعریف شد.

در این بررسی به منظور سنجش میزان تاثیر برخی عوامل خطری که تصور می‌شد در شیوع سرمی بروسولوز موثر بوده و دخالت در برخی از آن‌ها می‌تواند کاهش بیماری را در پی داشته باشد در طراحی پرسشنامه لحاظ شد. از مهم‌ترین عوامل خطر مدنظر این مطالعه گونه، سن، جنس،

و بر اساس بروز بروسولوز انسانی، استان زنجان در گروه مناطق با خطر بالا برای این بیماری طبقه‌بندی شده است (۸). از آنجایی که نشخوارکنندگان به‌عنوان منبع اصلی بروسولوز انسانی مطرح بوده و استان زنجان جمعیت قابل‌توجهی از نشخوارکنندگان اهلی را در خود جای داده است که به‌صورت سنتی پرورش داده می‌شوند، به نظر می‌رسد شیوع بیماری در بین دام‌ها بالا بوده و برای کنترل آن باید چاره‌ای اندیشیده شود.

با توجه به اینکه انتخاب راهبرد مناسب جهت کنترل یا ریشه‌کنی این بیماری بر اساس آگاهی از فراوانی و توزیع عفونت در بین زیر جمعیت‌های نشخوارکنندگان یا واحدهای اپیدمیولوژیک نامزد مداخله (epidemiological unit of intervention) است (۷) لذا هدف اصلی این مطالعه مقطعی برآورد و تخمین شیوع سرمی بروسولوز (به‌صورت انفرادی و گله‌ای) در دام‌هایی است که به‌صورت سنتی در استان زنجان پرورش داده می‌شوند. هدف مهم دیگر تعیین و سنجش میزان نقش عوامل خطر مؤثر بر شیوع در سطح گله بود که برخی محققین از آن‌ها به‌عنوان عوامل خطر مدیریتی (managemental risk factors) یاد می‌کنند.

مواد و روش کار

این مطالعه به‌صورت مشاهده‌ای و از نوع "مقطعی" بوده که در نیمه اول سال ۱۳۹۷ انجام شد. روش نمونه‌گیری چندمرحله‌ای بود. هشت شهرستان استان به‌عنوان طبقات منظور شدند. گوسفند، بز و گاوهای استان زنجان جمعیت هدف این مطالعه بود. گوسفند، بز و گاوهای موجود روستاهای منتخب جمعیت منبع را تشکیل داد. جمعیت مورد مطالعه ما تعداد کل گوسفند، بز و گاوهای بود که از آن‌ها نمونه‌گیری شد. چهارچوب نمونه‌گیری مرحله اول شامل لیست کلیه روستاهایی بود که در آن‌ها گوسفند، بز و گاو پرورش داده می‌شد. معیار ورود روستا به این لیست وجود حداقل ۱۱۰ دام واجد شرایط جهت نمونه‌گیری بود. این لیست با استفاده از سامانه اطلاعات جغرافیایی یا GIS (Geographic Information System) دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های دامی سازمان دامپزشکی کشور استخراج شد. چهارچوب نمونه‌گیری مرحله دوم را لیست دامداران واجد شرایط روستاهای منتخب تشکیل داد. معیار ورود دامدار به این لیست نگهداری دام به‌صورت انفرادی و عدم مخلوط کردن آن‌ها با سایر دام‌های روستا بود.

تعیین حجم نمونه

با توجه به محاسبات مربوط به فرمول تعیین حجم نمونه جهت برآورد شیوع در جمعیت بزرگ به روش تصادفی ساده، فرمول مربوط به تعداد

جدول ۱- تعداد روستاهای هر شهرستان جهت نمونه‌گیری

شهرستان	ابهر	ایجرود	خدابنده	خرمدره	زنجان	سلطانیه	طارم	ماهنشان	مجموع
تعداد نمونه لازم	۵	۵	۱۴	۲	۱۳	۳	۴	۸	۵۴

سه آزمایش فوق‌الذکر واکنش مثبت نشان دهد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

نتایج سرمی به‌عنوان متغیر وابسته و عوامل خطر متعددی که تصور می‌شد در شیوع سرمی سطح انفرادی و یا گله‌ای مؤثر باشند به‌عنوان متغیرهای مستقل منظور شدند. داده‌ها جهت تجزیه و تحلیل نتایج وارد نرم‌افزار SPSS_24 شده و متناسب با متغیرها و اهداف موردنظر از آزمون‌های مجذور کای و رگرسیون لجستیک چند متغیره (multivariate logistic regression) با سطح معناداری کمتر از ۰,۰۵ استفاده شد. متغیرهای مستقلی که رابطه آن‌ها با وضعیت سرمی در آزمون مربع کای در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار شدند جهت برآورد نسبت شانس تعدیل‌شده (adjusted odds ratio=AOR) وارد مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره شد. این نسبت با سطح معنی‌داری کمتر از ۰,۰۵ و فاصله اطمینان ۹۵٪ به‌عنوان مهم‌ترین شاخص ارزیابی قدرت رابطه بین وضعیت سرمی و عوامل خطر مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج

جمعاً تعداد ۵۵۸۴ نمونه سرم متعلق به دام‌های ۲۸۰ نفر دامدار از ۵۴ روستای منتخب جهت مشخص شدن وضعیت سرمی از نظر بروسلوز، مورد آزمایش‌های سرولوژیک رزبنگال، رایت و ۲-مرکاپتواتانول قرار گرفت. تجزیه و تحلیل نتایج با سطح اطمینان ۹۵٪ بیانگر برآورد شیوع بین روستایی برابر ۵۱,۹ درصد (فاصله اطمینان ۹۵٪ برابر ۳۸,۵-۶۵,۲ درصد)، شیوع بین گله‌ای ۳۳,۲ درصد (فاصله اطمینان ۹۵٪ برابر ۲۷,۷-۳۸,۷ درصد) و شیوع داخل گله‌ای (شیوع در سطح انفرادی) ۴,۰ درصد (فاصله اطمینان ۹۵٪ برابر ۳,۴-۴,۵ درصد) در دام استان بود. وضعیت شیوع سرمی برحسب زیرگروه‌های جمعیتی در جدول شماره ۳ خلاصه شده است.

در تجزیه و تحلیل تک متغیره سطح فردی در آزمون مجذور کای (chi square test) با سطح اطمینان ۹۵٪ رابطه بین وضعیت سرمی با شهرستان محل استقرار دام، گونه دام، سابقه واکسیناسیون با واکسن‌های بروسلوز و همچنین با سابقه سقط‌جنین در دو سال اخیر معنی‌دار بود اما

سابقه واکسیناسیون، سابقه سقط، تعداد و ترکیب جمعیتی دام روستا و گله، جمعیت دام روستا، تحصیلات دامدار، دانش دامدار در مورد روش انتقال بروسلوز بین دام‌ها، خرید دام جدید طی دو سال اخیر و منشأ آن، سابقه سقط‌جنین در دام‌های خریداری‌شده، تراکم دام در جایگاه، نحوه برخورد با جفت، ترشحات و جنین سقط شده، جمع‌آوری روزانه کود در فصل زایش، جداسازی دام‌های آبستن سنگین یا سقط کرده از گله، نحوه مدیریت قوچ (از جمله بررسی همراهی دائمی یا مقطعی قوچ در گله، قرض دادن یا قرض گرفتن قوچ)، استفاده از مواد ضد عفونی‌کننده در موارد زایمان و به‌خصوص موارد سقط‌جنین، شعله دهی مرتب جایگاه دام، وجود دائمی سگ در دامداری و گله اشاره کرد.

روش آزمایش

نمونه‌های خون به آزمایشگاه منتقل شده و در آنجا با سانتریفیوژ در دور ۳۰۰۰ و به مدت پنج دقیقه سرم آن‌ها جدا گردیده و نمونه‌های سرمی دردمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده تا در موقع مقتضی آزمایش‌های لازم روی آن‌ها انجام شود. آزمایش نمونه‌ها و تفسیر نتایج منطبق با آخرین دستورالعمل سازمان دامپزشکی کشور انجام شد، بدین ترتیب که در ابتدا انجام آزمایش رزبنگال (Rose Bengal) جهت غربالگری نمونه‌های سرمی صورت می‌گرفت. نمونه‌هایی که در آزمایش رزبنگال مثبت شدند جهت انجام آزمایش‌های تکمیلی مجدداً از نظر سروآگلوتیناسیون رایت (Wright) و ۲-مرکاپتواتانول (2-Meraptoetanol) بررسی شده و بر اساس نقاط برش تعریف شده (جدول ۲) به‌صورت متوالی (سریالی) تفسیر شده و نهایتاً به‌عنوان نمونه سرمی مثبت یا منفی گزارش می‌شدند. بدین ترتیب که سرم گاو با تیتیر رایت ۱/۱۶۰ و بالاتر (همراه با هر تیتیر سرمی ۲-مرکاپتواتانول) و یا تیتیر رایت ۴/۴۰ تا ۴/۸۰ (همراه با تیتیر سرمی ۲-مرکاپتواتانول ۴/۴۰ و بالاتر) به‌عنوان سرم مثبت تلقی گردید؛ اما نقاط برش در مورد نمونه‌های گوسفندی کمی متفاوت بود و سرم‌های دارای تیتیر رایت ۴/۴۰ و بیشتر (همراه با هر تیتیر سرمی ۲-مرکاپتواتانول) و یا تیتیر رایت ۳/۴۰ و کمتر (همراه با تیتیر سرمی ۲-مرکاپتواتانول ۱/۲۰ و بیشتر) به‌عنوان سرم مثبت قلمداد می‌شد (۱۱). منظور از تفسیر متوالی این بود که نمونه موردنظر در نهایت در صورتی سرم مثبت تلقی می‌شد که در هر

جدول ۲- راهنمای تفسیر نتایج متعاقب آزمایش‌های سرم‌شناسی بروسلوز

تفسیر	۲-مرکاپتواتانول	رایت	رزبنگال	نوع دام
مثبت	هر مقدار	$\geq 4/40$	مثبت	گوسفند و بز
مثبت	$\geq 1/20$	$\leq 3/40$		
مثبت	هر مقدار	$\geq 1/160$	مثبت	گاو و گوساله
مثبت	$\geq 4/40$	$4/80$ تا $4/40$		

جنین سقط شده و غشاءهای جنینی مربوطه، همراه بودن دائمی قوچ در طول سال، دانش دامدار در مورد راه‌های انتقال بیماری در بین دام‌ها، جمع‌آوری روزانه کود از اصطبل، تراکم دام در جایگاه نگهداری دام، معرفی دام جدید به گله، جفت و همچنین باسابقه سقط‌جنین در دو

رابطه بین نتایج سرمی و سن نیز جنس معنادار نشد ($p > 0.05$). در تجزیه و تحلیل تک متغیره سطح گله‌ای در آزمون مجذور کای در سطح معناداری ۵٪ ($p > 0.05$) رابطه بین وضعیت سرمی با شهرستان، وجود بز در ترکیب گله، وجود سگ گله اختصاصی، مدیریت حذف جفت،

جدول ۳- میزان شیوع سرمی بروسلوز در سطح انفرادی برحسب برخی عوامل خطر مرتبط با نشخوارکنندگان اهلی در استان زنجان

نام متغیر	گروه‌ها	تعداد کل سرم	تعداد سرم مثبت	در صد شیوع سرمی (داخل گله‌ای)	فاصله اطمینان ۹۵ درصد
شهرستان	ابهر	۴۱۸	۴۶	۱۱،۰	۸،۳-۱۴،۴
	ایجرود	۵۱۳	۲۲	۴،۳	۲،۸-۶،۴
	خدابنده	۱۴۳۹	۷۲	۵،۰	۴،۰-۶،۳
	خرمدره	۲۱۱	۱۰	۴،۷	۲،۶-۸،۶
	زنجان	۱۴۴۹	۵۷	۳،۹	۳،۰-۵،۱
	سلطانیه	۸۲۲	۸	۱،۰	۰،۵-۱،۹
	طارم	۴۱۵	۴	۱،۰	۰،۴-۲،۵
	ماه‌نشان	۴۱۵	۴	۱،۰	۰،۴-۲،۵
	مجموع	۵۵۸۴	۲۲۲	۴،۰	۳،۵-۴،۵
سن	۵-۲۲ ماه (گروه ۱)	۵۸۶	۱۷	۲،۹	۱،۸-۴،۶
	۲۳-۳۹ ماه (گروه ۲)	۳۴۵۷	۱۵۵	۴،۵	۳،۸-۵،۲
	۴۰-۹۶ ماه (گروه ۳)	۱۵۴۱	۵۰	۳،۲	۲،۵-۴،۳
	مجموع	۵۵۸۴	۲۲۲	۴،۰	۳،۵-۴،۵
گونه دام	بز	۶۳۳	۳۲	۵،۱	۳،۶-۷،۱
	گوسفند	۴۱۶۴	۱۸۸	۴،۵	۳،۹-۵،۲
	گاو	۷۸۷	۲	۰،۳	۰،۱-۱،۰
	مجموع	۵۵۸۴	۲۲۲	۴،۰	۳،۵-۴،۵
جنس دام	ماده	۵۲۴۲	۲۱۳	۴،۱	۳،۶-۴،۶
	نر	۳۴۲	۹	۲،۶	۱،۴-۵،۰
	مجموع	۵۵۸۴	۲۲۲	۴،۰	۳،۵-۴،۵
سابقه سقط‌جنین در دو سال اخیر	بلی	۲۳۷	۳۷	۱۵،۶	۱۱،۵-۲۰،۸
	خیر	۵۰۰۵	۱۷۶	۳،۵	۳،۰-۴،۰
	مجموع	۵۲۴۲	۲۱۳	۴،۱	۳،۶-۴،۶
سابقه واکسیناسیون در دو سال اخیر	بلی	۵۰۳۵	۱۶۳	۳،۲	۲،۸-۳،۸
	خیر	۵۴۹	۵۹	۱۰،۷	۸،۴-۱۳،۶
	مجموع	۵۵۸۴	۲۲۲	۴،۰	۳،۵-۴،۵

شیوع سرمی به عنوان عامل خطر بوده و نسبت های شانس در مورد متغیر شهرستان محل نمونه گیری و گونه دام معنادار بوده و نشان داده شد که شانس ابتلای سرمی بز ۱,۷ برابر گوسفند است (OR=۱,۷) اما این نسبت در گاو نسبت به گوسفند ۰,۰۲ است (OR=۰,۰۲).

از بین متغیرهای متعددی که در سطح گله ای وارد مدل شدند دو عامل (دانش دامدار و جمع آوری روزانه کود در فصل زایمان) نقش محافظتی داشته و متغیرهای دیگر (وجود بز در ترکیب گله، وجود سگ گله اختصاصی، معرفی دام جدید به گله و عدم مدیریت صحیح جفت، جنین سقط شده و پرده های آن) به عنوان عامل خطر معنی دار شناخته شده و در مدل ابقاء شدند. جزئیات نتایج نهایی متغیرهای معنی دار شده هر دو سطح از جمله فراوانی مربوط به زیرگروه ها، نسبت سرم مثبت ها، نسبت شانس تعدیل شده و فاصله اطمینان مربوطه به همراه مقدار p به صورت جداگانه در جدول های ۴ و ۵ خلاصه شده است.

بحث

سال اخیر معنی دار بود اما این رابطه در مورد تعداد کل دام روستا، تعداد گله های روستا، تعداد دام گله، تحصیلات دامدار، قرض دادن یا قرض گرفتن قوچ، حذف و جداسازی دام سقطی از گله، استفاده از شعله دهی جهت تمیز کردن جایگاه، جدانگهداشتن دام های آبستن سنگین از سایر دام های گله معنادار مشاهده نشد ($p > 0.05$).

جهت برآورد نسبت شانس، مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره به صورت جداگانه در سطح انفرادی و گله ای مورد نظر قرار گرفت. وضعیت سرمی بروسلا با خاصیت اسمی دو حالته به عنوان متغیر وابسته منظور شد. متغیرهای مستقل جهت ورود به این مدل، از عوامل خطری انتخاب شدند که در آزمون مجذور کای با سطح اطمینان ۰,۹۵ درصد معنی دار بودند.

تجزیه و تحلیل چند متغیره با سطح معناداری کمتر از ۰,۰۵ ($p < 0.05$) در سطح انفرادی نشان داد که وجود سابقه ای از سقط جنین در دام (OR=۳,۷) و عدم واکسیناسیون علیه بروسلوز (OR=۱۰,۳) برای

جدول ۴- وضعیت فراوانی و نتایج عوامل خطر مرتبط با شیوع سرمی با استفاده از رگرسیون لجستیک چند متغیره در سطح انفرادی

P value	نسبت شانس تعدیل شده		تعداد سرم مثبت (درصد شیوع)	تعداد کل	گروه ها	متغیر
	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	مقدار				
-	-	-	(۳,۹)۵۷	۱۴۴۹	زنجان*	شهرستان
<۰,۰۰۱	۲,۹-۷,۵	۴,۷	(۱۱,۰)۴۶	۴۱۸	ابهر	
۰,۰۵۶	۰,۹۹-۲,۹	۱,۷	(۴,۳)۲۲	۵۱۳	ایجرود	
۰,۰۰۱	۱,۳-۲,۹	۱,۹	(۵,۰)۷۲	۱۴۳۹	خدابنده	
۰,۱۵۳	۰,۸-۳,۶	۱,۷	(۴,۷)۱۰	۲۱۱	خرمدره	
<۰,۰۰۱	۰,۰۳-۰,۲۷	۰,۱	(۳,۹)۳	۳۱۷	طارم	
۰,۰۲۱	۰,۱-۰,۸۳	۰,۳	(۰,۹)۴	۴۱۵	ماه نشان	
۰,۰۱۵	۰,۱۸-۰,۸۳	۰,۴	(۱,۰)۸	۸۲۲	سلطانیه	
-	-	۱	(۴,۵)۱۸۸	۴۱۶۴	گوسفند*	گونه دام
۰,۰۱۵	۱,۱-۲,۵	۱,۷	(۵,۱)۳۲	۶۳۳	بز	
<۰,۰۰۱	۰,۰۱-۰,۱	۰,۰۲	(۰,۳)۲	۷۸۷	گاو	
-	-	۱	(۳,۲)۱۶۳	۵۰۳۵	دارد*	سابقه واکسیناسیون در دام
<۰,۰۰۱	۷,۰-۱۵,۱	۱۰,۳	(۱۰,۷)۵۹	۵۴۹	ندارد	
		۱	(۳,۵)۱۷۶	۵۰۰۵	ندارد*	تاریخچه سقط در دام
<۰,۰۰۱	۲,۴-۵,۵	۳,۷	(۱۵,۶)۳۷	۲۳۷	دارد	

* گروه مرجع: گروهی که به علت دارا بودن بیشترین تعداد نمونه در متغیر مربوطه، به عنوان پایه در نظر گرفته شده و دیگر گروه ها با آن مقایسه شده اند

وضعیت مشابه در جمعیت گوسفند و بز این استان‌ها می‌باشد. قره خانی و همکاران میزان شیوع سرمی گله‌ای و انفرادی بروسولوز گوسفند و بز را در سال ۲۰۱۵ در همدان بررسی نموده و مقادیر آن را به ترتیب ۲۷,۹ و ۳ درصد (برای گوسفند) و ۱۳,۶ و ۴,۶ درصد (برای بز) تخمین زده‌اند (۱۴). اکبر مهر و قیامی در سال ۲۰۰۷ تا ۲۰۰۸ در شهر سراب استان آذربایجان شرقی میزان شیوع سرمی گوسفند و بز را ۴,۱۸ درصد اما این شاخص را در جمعیت گاوی سراب ۵ درصد برآورد نمود (۱۵). تنها موضوعی که می‌تواند این اختلاف شیوع در جمعیت گاوی زنگان و سراب را توجیه نماید به تراکم بالای جمعیت گاوی در منطقه سراب منتسب بوده که افزایش تماس موثروب‌الطبع افزایش شیوع را به همراه داشته است. در سال ۱۳۹۵ سازمان دامپزشکی کشور در یک مطالعه ملی، تعداد ۱۷۸۵۱۶ نمونه سرمی گوسفند و ۴۷۷۶۹ نمونه سرمی گاوی را با استفاده از دو آزمایش رزبنگال و الایزای غیرمستقیم به‌صورت متوالی بررسی نمود که شیوع

ما در این بررسی شیوع بین روستایی، بین گله‌ای و داخل گله‌ای (شیوع در سطح انفرادی) دام استان را به ترتیب ۳۳,۲، ۵۱,۹ و ۴,۰ درصد برآورد نمودیم. در این مطالعه برآورد میزان شیوع در گونه‌های مختلف دامی متفاوت بود به‌گونه‌ای که در گاو ۰,۳ درصد، گوسفند ۴,۵ درصد و در بز ۵,۱ درصد بود. در اکثر مطالعات صورت گرفته در ایران و سایر نقاط جهان، بدون ذکر علت خاص، به نقش تفاوت گونه‌ای در میزان شیوع تأکید شده است؛ اما به‌صورت کلی می‌توان از اختلاف تراکم گونه‌ها در نقاط مختلف، دوره طولانی‌تر دفع میکروب بروسلا در بز، حساسیت نژادی در گوسفند و ... به‌عنوان عوامل تأثیرگذار نام برد (۱۲,۱۳). در سال ۱۳۹۵ میزان شیوع سرمی بروسولوز در جمعیت گوسفند و بز شهرستان زنگان به مقدار ۲,۹۳ درصد تخمین زده شد (۹) که قابل انتساب به بالاتر بودن میزان شیوع سرمی بیماری در سایر شهرستان‌های استان است. مطالعات شیوع شناسی در استان‌های هم‌جوار زنگان نیز بیانگر

جدول ۵- نتایج مربوط به عوامل خطر مرتبط با شیوع سرمی با استفاده از رگرسیون لجستیک چند متغیره در سطح گله

P value	نسبت شانس تعدیل‌شده		تعداد سرم مثبت (درصد)	تعداد کل	گروه‌ها	نام متغیر
	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	مقدار				
-	-	۱	۲۶ (۱۵,۹)	۱۶۴	خیر*	وجود بز در دامداری
<۰,۰۰۱	۳,۳-۲۴,۴	۹,۰	۶۷ (۵۷,۸)	۱۱۶	بلی	
-	-	۱	۲۷ (۱۳,۹)	۱۹۴	خیر*	وجود سگ گله در دامداری
<۰,۰۰۱	۳,۰-۲۰,۶	۹,۷	۶۶ (۷۶,۷)	۸۶	بلی	
-	-	-	۳۱ (۲۰,۰)	۱۵۵	خیر*	رها کردن جنین سقط شده در محیط
<۰,۰۱	۲,۰-۱۳,۳	۲,۵	۶۲ (۵۰,۴)	۱۲۳	بلی	
-	-	-	۴۰ (۲۱,۲)	۱۸۹	خیر*	جنین سقط شده را در اختیار سگ قرار دادن
<۰,۰۵	۱,۴-۹,۳	۳,۶	۵۳ (۵۹,۶)	۸۹	بلی	
-	-	-	۷۳ (۴۴,۰)	۱۶۶	خیر*	سوزاندن یا دفن کردن جنین سقط شده
<۰,۰۱	۰,۰۷-۰,۵۷	۰,۲	۱۹ (۱۷,۱)	۱۱۱	بلی	
-	-	-	۴۲ (۲۵,۸)	۱۶۳	بلی*	دانش کافی دامدار در مورد روش‌های انتقال بیماری به دام‌ها
<۰,۰۵	۱,۲-۹,۱	۳,۳	۵۱ (۴۳,۶)	۱۱۷	خیر	
-	-	۱	۶۶ (۳۹,۳)	۱۶۸	خیر*	جمع‌آوری روزانه کود در فصل زایمان
<۰,۰۵	۰,۱-۰,۸	۰,۳	۲۷ (۲۴,۱)	۱۱۲	بلی	
-	-	۱	۵۴ (۲۸,۹)	۱۸۷	خیر*	معرفی دام جدید به گله
<۰,۰۱	۱,۹-۱۴,۲	۵,۰	۳۹ (۴۱,۹)	۹۳	خیر*	

* گروه مرجع: گروهی که به علت دارا بودن بیشترین تعداد نمونه در متغیر مربوطه، به‌عنوان پایه در نظر گرفته شده و دیگر گروه‌ها با آن مقایسه شده‌اند

در استان خراسان رضوی (۲۲) و بررسی جونگ و همکاران طی سال‌های ۲۰۱۶-۲۰۱۵ در کره جنوبی (۲۳) می‌توان از نقش سگ‌ها در بقاء و جابجایی عامل این بیماری صرف‌نظر نمود. معرفی دام جدید به گله در دو سال اخیر نیز با وضعیت شیوع سرمی رابطه معنی‌دار داشت و گله‌هایی که دام جدیدی از خارج گله به آن‌ها اضافه شده بود پنج برابر گله‌های گروه دیگر شانس ابتلای سرمی داشتند ($OR = 5,0$) که با مطالعه شریفی در کرمان ($OR = 8,39$) و کائود در مصر ($RR = 5,0$) و (Relative Risk) و مسلم در اردن ($OR = 5,8$) همخوانی داشت (۱۳,۲۴).

در این بررسی دانش ناقص دامدار درباره روش‌های انتقال بیماری در بین دام‌ها به‌عنوان یک عامل خطر برای شیوع سرمی مطرح شد $OR = 3,3$ (OR) کوئلو در مطالعه خود متغیر مشابهی در مورد دانش دامدار در مورد بروسلوز را مدنظر قرارداد اما نسبت شانس حاصله معنی‌دار نبود (۲۵). جمع‌آوری روزانه کود در فصل زایمان یکی از عوامل محافظت‌کننده در این مطالعه بود ($OR = 0,3$) که با مطالعه مورد-شاهدی Coelho (۲۰۰۴) همخوانی دارد (۲۵). عامل محافظت‌کننده دیگر دفن یا سوزاندن پرده‌های جفت و جنین سقط شده بود. در گله‌هایی که این بافت‌ها دفن یا سوزانده می‌شد شیوع سرمی بروسلوز ۸۰٪ کمتر از گروه دیگر بود ($OR = 0,2$).

نتیجه‌گیری کلی

استان زنجان از نظر شیوع سرمی بروسلوز در همه سطوح فردی، روستایی و بخصوص گله‌ای به حدی بالا است که اجرای سیاست تست و کشتار را غیرعملی، خارج از توان مالی، قاعده و تجارب بین‌المللی جلوه می‌دهد و لذا برنامه کنترل بروسلوز می‌بایست به‌صورت میان‌مدت طراحی شده و مبتنی بر واکسیناسیون فراگیر و با استفاده از واکسنی موثر باشد. انتظار می‌رود که از نتایج این مطالعه بتوان در مدیریت این بیماری در استان زنجان و استان‌های با شرایط مشابه استفاده نمود. بدین گونه که در جهت تقویت عواملی که مانع بیماری می‌شوند (عوامل محافظت‌کننده) و یا در جهت تضعیف عواملی که به نفع بیماری هستند (عوامل خطر) اقدامات عملی را برنامه‌ریزی و اجرا نمود. مثلاً مشخص گردید که موضوع مدیریت دفن بهداشتی جنین، جفت و پرده‌های جنینی مخصوصاً مواقعی که سندرم سقط‌جنین مطرح است باید در برنامه‌های آموزشی و ترویجی موردتوجه جدی قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

1. Nakeel AS, Arimi S. A Sero-epidemiological Survey of Brucellosis, Q-Fever and Leptospirosis in Livestock and Humans and Associated Risk Factors in Kajiado County- Kenya. *J Trop Dis*. 2016;
2. Brucellosis: OIE - World Organisation for Animal Health [Internet]. [cited 2018 Oct 26]. Available from: <http://www.oie.int/en/animal-health-in-the-world/animal-diseases/Brucellosis/>
3. Benkirane A. Ovine and caprine brucellosis: World distribution and control/eradication strategies in West Asia/North Africa region. *Small Rumin Res*. 2006;62(1-2 SPEC. ISS.):19-25.
4. Brucellosis in humans and animals FAO Food and Agriculture

سرمی جمعیت گوسفند و بز کشور را ۴ درصد و گاو ۱,۳۱ درصد برآورد نمود (۱۱) که بیانگر اختلاف زیاد شیوع سرمی بروسلوز گاو بوده که می‌تواند ناشی از اختلاف در شیوع، نوع و تعداد آزمایش‌های به‌کاررفته در مطالعات باشد.

در این مطالعه رابطه بین شیوع سرمی و تفاوت گونه‌ای معنادار بود. نسبت شانس ابتلای سرمی گاو در مقایسه با گوسفند $OR = 0,02$ ($OR = 0,02$) و بز به گوسفند ۱,۶۷ ($OR = 1,67$) تخمین زده شد؛ که مقایسه انجام شده در نشخوارکنندگان کوچک با مطالعات دیگران از جمله تگن در ایتوپیا ($OR = 2,3$) همخوانی دارد (۱۶). رحمان و همکاران در بنگلادش (۲۰۱۱) و کوئلو و همکاران در اسپانیا (۲۰۱۳) هم شیوع بروسلوز در بز را بیشتر از گوسفند برآورد نمودند. اما شریفی در ایران (کرمان)، Reviriego و همکاران (۲۰۰۰) در اسپانیا و kaoud و همکاران در مصر (۲۰۱۰) شیوع بیماری در گوسفند را بالاتر از بز گزارش نموده‌اند (۱۳). در مطالعات مذکور علت اختلاف شیوع بیماری در گونه‌های مختلف توضیح داده نشده است.

در بررسی ما در سطح گله‌ای نیز معلوم شد که نگهداری بز در کنار سایر دام‌ها به‌عنوان یک عامل خطر ($OR = 9,0$) مطرح بوده که با مطالعه مسلم ($OR = 6,9$) و المجالی و دیگران ($OR = 1,9$) مطابقت دارد که می‌تواند با دفع طولانی‌تر میکروب بروسلوز از بز آلوده مرتبط باشد (۱۲,۱۷,۱۸).

نداشتن سابقه‌ای از واکسیناسیون علیه بروسلوز در دو سال اخیر در رابطه با وضعیت شیوع سرمی به‌عنوان یک عامل خطر ($OR = 10,3$) شناخته شد. به‌عبارت‌دیگر شانس مثبت شدن سرم در دام‌هایی که سابقه دریافت واکسن علیه بروسلوز در دو سال اخیر را نداشتند بیش از ده برابر از آن‌هایی بود که واکسن مذکور را دریافت کرده بودند. این یافته ضمن مطابقت با مشاهدات قره خانی در همدان (۱۴) و المجالی در اردن (۱۸)، بر اهمیت برنامه واکسیناسیون در پیشگیری از بیماری در استان زنجان تأکید نمود.

در این بررسی وجود تاریخچه‌ای از سقط‌جنین در دام در دو سال اخیر یکی از عوامل خطر شیوع سرمی در سطح انفرادی با نسبت شانس ۳,۷ بود. این متغیر در مطالعه قره خانی در همدان ($OR = 4,3$) در گوسفند و ($OR = 3,3$) در بز، uma در زامبیا ($OR = 3,6$) و الحامدا در عراق ($OR = 2,2$) نیز مهم و معنی‌دار گزارش شده (۱۹,۲۰) که نشان می‌دهد یکی از عوامل مهم سقط در استان را می‌توان با این عارضه مرتبط دانست؛ چراکه شیوع سرمی بروسلوز در دام‌های دارای سابقه سقط جنین، ۳,۷ برابر بیشتر از آن‌هایی بوده که فاقد چنین سابقه‌ای بودند. در این مطالعه دادن پرده‌های جفت و جنین سقط شده به سگ عامل خطر بود ($OR = 3,6$) که با مطالعه مسلم و همکاران در اردن ($OR = 8,0$) همخوانی داشت (۲۱). عامل خطر دیگر در بررسی ما رها کردن پرده‌های جفت و جنین سقط شده در محیط بود ($OR = 5,2$). اما این عامل در مطالعه الحامدا و مسلم به علت معنادار نشدن نسبت شانس در مدل نهایی لحاظ نگردیده است (۲۰,۲۱).

این مطالعه نشان داد که وجود سگ گله اختصاصی در دامداری عامل خطر مهمی است ($OR = 7,9$) با توجه به نتایج بررسی نجار در مورد شیوع سرمی ۳-۶ درصدی بروسلوز در سگ‌های گله شهرستان نیشابور

- Organization of the United Nations 92 4 154713 8. 2006.
5. Assadi M, Siyadatpanah A, Soufiani KB, Mobayyen H, Sadighbayan K, Asadi J, et al. Brucellosis in Iran: A Literature Review. *J Am Sci* [Internet]. 2013;9(3):7–12. Available from: http://www.jofamericanscience.org/journals/am-sci/am0903/027_16569am0903_203_208.pdf
 6. Esmaili H. Brucellosis in Islamic republic of Iran. 2014;3(3):47–57.
 7. FAO. *Brucella Melitensis in Eurasia and the Middle East*. Animal Production and Health Proceedings. 2010. 57 p.
 8. Golshani M, Buozari S. A review of Brucellosis in Iran: Epidemiology, Risk Factors, Diagnosis, Control, and Prevention. *Iran Biomed J* [Internet]. 2017 [cited 2018 Oct 28];21(6):349–59. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28766326>
 9. Samsami SM, Nemati MH. A Sero-epidemiology survey on brucellosis in livestock farm in Zanjan county (In farsi). Zanjan; 1395.
 10. Salman M. Animal disease surveillance and survey systems: methods and applications. Salman M., editor. Blackwell; 2003. 59-61 p.
 11. EkhtiarZadeh H, Esmaili H, Amiri K, Bahreinipur A, Behyar U, Jahan Peyma D, et al. Plan and executive guideline for nimal health and disease management in 1397 (In Farsi). *Tehran: Iranian veterinary organization*; 1397. 33-57 p.
 12. Radostits OM, Gay CC, Hinchcliff K, Constable PD. *Veterinary Medicine* 10th Edition. 10th ed. Saunders; 2010. 991 p.
 13. Sharifi H, Mashayekhi K, Tavakoli MM. Risk facts of small ruminant brucellosis: A crosssectional study in Southeast Iran 2012. *Hum Vet Med*. 2015;
 14. Gharekhani J, Rasouli M, Abbasi-Doulatshahi E, Bahrami M, Hemati Z, Rezaei A, et al. Sero-epidemiological survey of brucellosis in small ruminants in Hamedan province, Iran. *J Adv Vet Anim Res*. 2016;3(4):399–405.
 15. Rashidi H, Zeid abadi G, Sharifie H, Sabbagh F. A sero-epidemiology of brucellosis in sheep and goat in kerman province (In Farsi). In: 4 th National Iranian congress of Brucellosis (3-15 december 2011) (In Farsi). Tehran: *Shahid beheshti univercity medical science*; 1390. p. 3–7.
 16. Tegegn AH, Feleke A, Adugna W MS. Small Ruminant Brucellosis and Public Health Awareness in Two Districts of Afar Region, Ethiopia. *J Vet Sci Technol* [Internet]. 2016;7(4):1–5. Available from: <http://www.omicsonline.org/open-access/small-ruminant-brucellosis-and-public-health-awareness-in-two-districts-of-afar-region-ethiopia-2157-7579-1000335.php?aid=73851>
 17. Musallam II, Abo-Shehada M, Omar M, Guitian J. Cross-sectional study of brucellosis in Jordan: Prevalence, risk factors and spatial distribution in small ruminants and cattle Pdf. *Prev Vet Med* [Internet]. 2015;118(4):387–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.12.020>
 18. Al-majali AM, Majok AA, Amarin NM, Al-rawashdeh OF. Prevalence of, and risk factors for, brucellosis in Awassi sheep in Southern Jordan. 2007;73:300–3.
 19. Muma JB, Samui KL, Siamudaala VM, Oloya J, Matope G, Omer MK, et al. Prevalence of antibodies to *Brucella* spp. and individual risk factors of infection in traditional cattle, goats and sheep reared in livestock – wildlife interface areas of Zambia. 2006;195–206.
 20. Alhamada A, Habib I, Barnes A, Robertson I. Risk Factors Associated with *Brucella* Seropositivity in Sheep and Goats in Duhok Province, Iraq. *Vet Sci* [Internet]. 2017;4(4):65. Available from: <http://www.mdpi.com/2306-7381/4/4/65>
 21. Musallam II, Abo-Shehada M, Omar M, Guitian J. Cross-sectional study of brucellosis in Jordan: Prevalence, risk factors and spatial distribution in small ruminants and cattle. *Prev Vet Med* [Internet]. 2015;118(4):387–96. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.prevetmed.2014.12.020>
 22. Rahmati Rudsari S, Darvishi A, Pur Kaveh B, Hemmati AH. A survey on dog brucellosis in neishabur county (In Farsi). In: 5 th National Iranian congress of Brucellosis (29-31 October 2013). Tehran: *Shahid beheshti univercity medical science*; 1392. p. 40–5.
 23. Jung J-Y, Yoon S-S, Lee S-H, Park J-W, Lee J-J, Her M, et al. Prevalence state of canine brucellosis in South Korea during 2015 and 2016. *Korean J Vet Res* [Internet]. 2018 [cited 2018 Oct 19];58(3):125–9. Available from: <https://doi.org/10.14405/kjvr.2018.58.3.125>
 24. Kaoud H, Zaki M, Shimaa A, Nasr a. Epidemiology of brucellosis among farm animals. *Nat Sci* [Internet]. 2010;8(5):190–7. Available from: http://www.sciencepub.net/nature/ns0805/22_2635_ns0805_190_197.pdf
 25. Coelho AM, Coelho AC, Roboredo M, Rodrigues J. A case-control study of risk factors for brucellosis seropositivity in Portuguese small ruminants herds. *Prev Vet Med*. 2007;82(3–4):291–301.

