

عوامل مؤثر بر آلودگی گاوداری‌های شیری تحت پوشش آزمون غربالگری توپر کولین به سل گاوی (مایکوباکتریوم بویس): مطالعه مورد-شاهدی در سطح گله

حسام‌الدین اکبرین^۱، علیرضا باهنر^۲، سعید بکایی^۲، نادر مصوری^۳، عباس رحیمی فروشانی^۴، حمید شریفی^۵، علی‌صفر ماکنعلی^۶، نوردهر رکنی^۶، بهمن مرحمتی‌خامنه^۷، سامد برومندفر^۸

^۱متخصص اپیدمیولوژی، عضو انجمن علمی اپیدمیولوژیست‌های ایران

^۲استاد اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، ایران

^۳استادیار پژوهشی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، کرج

^۴دانشیار آمار زیستی، دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران

^۵استادیار اپیدمیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان

^۶مرکز تحقیقات مدل‌سازی در سلامت، پژوهشکده آینده‌پژوهی در سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان، کرمان

^۷اپیدمیولوژیست، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های دامی، سازمان دامپزشکی کشور، تهران

^۸استاد بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران

^۹عضو وابسته گروه علوم دامپزشکی فرهنگستان علوم جمهوری اسلامی ایران

^{۱۰}کارشناس ارشد، دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های دامی، سازمان دامپزشکی کشور، تهران

نویسنده رابط: علیرضا باهنر، آدرس: تهران، میدان انقلاب، ابتدای خیابان آزادی، نبش خیابان دکتر قریب، دانشکده دامپزشکی، بخش اپیدمیولوژی، دانشگاه تهران، تهران

تلفن: ۶۱۱۱۷۰۵۶، نامبر: ۶۶۹۳۳۲۲۲، پست الکترونیک: abahonar@ut.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۱/۱۰/۲؛ پذیرش: ۱۳۹۲/۹/۲

مقدمه و اهداف: سل یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی و زئونوز است که طیف وسیعی از موجودات زنده به ابتلا به آن حساس هستند.

پژوهش حاضر با هدف بررسی عوامل مؤثر بر آلودگی گاوداری‌های تحت پوشش آزمون غربالگری توپر کولین به سل گاوی انجام شد.

روش کار: این پژوهش، یک مطالعه مورد-شاهدی است که در سطح گله‌های گاو شیری انجام شد. گاوداری‌های مورد (۶۲ فارم) از میان گاوداری‌های شیری تحت پوشش استان تهران و ۷ استان هم‌جوار انتخاب شد که پس از نمونه‌برداری، مایکوباکتریوم بویس از آن‌ها در جدا گردید. گاوداری‌های شاهد (۶۲ فارم) نیز از همین استان‌ها و بر اساس منفی بودن نتیجه آزمون توپر کولین انجام پذیرفت. گاوداری‌های شاهد بر اساس ظرفیت و فاصله با گاوداری‌های مورد، به صورت فردی هم‌سان شدند. تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون رگرسیون لجستیک شرطی چند متغیره و نرم‌افزار Stata انجام شد.

نتایج: از نظر روابط بین متغیرهای مستقل تحت مطالعه، مدیریت مناسب کود (OR=۰/۱۲)، فاصله اطمینان (۰/۰۳-۰/۴۹)؛ شعله‌دهی منظم بهاربندها (OR=۰/۲۱)، فاصله اطمینان (۰/۰۴-۰/۹۲)؛ و حصارکشی منظم اطراف دامداری (OR=۰/۱۷)، فاصله اطمینان (۰/۰۳-۰/۸۱)؛ سبب کاهش خطر آلودگی و وجود موش (OR=۴/۹۰)، فاصله اطمینان (۱/۰۴-۲۳/۰۱)؛ سبب افزایش خطر آلودگی به سل گاوی می‌شود.

نتیجه‌گیری: توجه جدی‌تر به مبارزه با جوندگان محسوس است. افزایش همه‌جانبه برنامه‌ی غربالگری توصیه می‌شود. شاید زمان آن فرا رسیده باشد تا در سیاست‌های موجود کنترلی بازرگری صورت پذیرد و سیاست‌های مناسب‌تری اتخاذ گردد.

واژگان کلیدی: مایکوباکتریوم بویس، سل، گاو، مطالعه مورد-شاهدی هم‌سان، رگرسیون لجستیک شرطی

قابل انتقال بین انسان و حیوان است که در بیش‌تر نقاط دنیا شایع می‌باشد. این بیماری هم از نظر بهداشت عمومی و هم از نظر تأثیر در کاهش فرآورده‌های دامی و خسارت‌های سنگین اقتصادی،

مقدمه

سل با تاریخچه طولانی یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی و

سل گاوی همواره به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و دام مورد توجه بسیار بوده و طی سالیان متمادی انتقال بیماری از انسان به گاو و از گاو به انسان به اثبات رسیده است. چنان‌چه *M. bovis* را در ایجاد ۱۰-۵ درصد موارد سل انسانی به خصوص در اطفال و در مناطق دارای سطح بهداشت پایین دخیل می‌دانند (۱). در یک گزارش میزان ۳/۱ درصد از کل موارد سل انسانی- ۲/۱ درصد از موارد ریوی و ۹/۴ درصد از موارد خارج ریوی- در جهان را ناشی از *M. bovis* گزارش نموده‌اند. بیش‌تر افراد مبتلا به سل مشترک به فرم غیر ریوی بیماری و تنها ۵-۲ درصد آن‌ها به فرم ریوی دچار می‌شوند. ابتلا به فرم ریوی در روستائیان بیش‌تر از شهرنشینان می‌باشد و این امر به واسطه ارتباط نزدیک این افراد با دام و در نتیجه استنشاق ذرات آلوده به باکتری رخ می‌دهد (۴). خوشبختانه آمار بروز سل انسانی در ایران از سال‌های دور تا به امروز روندی نزولی طی کرده است که قسمتی از این کاهش سریع، بی‌تردید مدیون کاهش بیماری در جمعیت دامی کشور و رعایت مسائل بهداشتی در بین افراد مختلف و به خصوص روستاها بوده است.

از آن‌جایی که حدود ۲۵ درصد از انسان‌های مسلول در کشور مبتلا به فرم خارج ریوی سل- که عموماً آن را به *M. bovis* نسبت می‌دهند- بوده و این میزان در حالت عادی نباید از ۱۵ درصد تجاوز نماید (۱)، لزوم مطالعه و پی‌گیری این نسبت بالای موارد سل خارج ریوی در کشور و ارتباط احتمالی آن با سل گاو اهمیت زیادی دارد. با وجود آشنایی طولانی و مطالعه‌های متعدد، سل هنوز هم جایگاه خود را در زمره مهم‌ترین بیماری‌های قرن ۲۱ حفظ کرده است. با وجود برنامه‌های کنترلی و طرح ریشه‌کنی سل گاوی، به جز چند کشور پیشرفته که ادعای ریشه‌کنی سل گاوی در منطقه خود را دارند، باقی کشورها هنوز با سل گاوی و ریشه‌کنی آن دست‌وپنجه نرم می‌کنند.

در مطالعه‌ای ارتباط معنی‌داری بین کاهش موارد خارج ریوی سل انسانی همگام با طرح کنترل سل گاوی در کرمان گزارش شد (۵). در مطالعه دیگری، همبستگی میزان بروز سل گاوی و سل انسانی در پنج منطقه کشور طی سال‌های ۸۷-۱۳۷۸ ارزیابی و میزان بروز سل گاوی با سل خارج ریوی در استان‌های خراسان رضوی و کرمانشاه هم‌بستگی منفی و در استان‌های سیستان و بلوچستان، گلستان و قم هم‌بستگی مثبت نشان داد (۶). مطالعه‌های گوناگونی در خصوص عوامل مؤثر بر آلودگی و ابتلا به سل گاوی انجام شده است. طی مطالعه انجام شده در ایتالیا فاکتورهایی مانند نگهداری گاوهای شیری و گوشتی با هم (نسبت

دارای اهمیت می‌باشد. طیف وسیعی از موجودات زنده شامل انسان، گستره وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی، نشخوارکنندگان، گوشتخواران، پرندگان و حتی جوندگان به جنس میکوباکتریوم حساس هستند و هر کدام از گونه‌های جنس میکوباکتریوم نیز می‌توانند تنوع میزبان داشته باشند (۱).

مرگ‌ومیر ناشی از عدم درمان صحیح و به هنگام سل انسانی (و ایجاد سل مقاوم به دارو)، نیز دوره طولانی مدت درمان دارویی آن و از طرفی در مورد سل گاوی خسارات سنگین ناشی از حذف گاوهای مثبت و وجود خطر انتقال آن به انسان، از مواردی است که اهمیت بررسی و مطالعه سل گاوی و سل انسانی در جمعیت‌ها را مشخص می‌نماید (۲).

با وجود آشنایی طولانی و مطالعه‌های متعدد، سل هنوز هم جایگاه خود را در زمره مهم‌ترین بیماری‌های قرن ۲۱ حفظ کرده است. با وجود برنامه‌های کنترلی و طرح ریشه‌کنی سل گاوی، به جز چند کشور پیشرفته که ادعای ریشه‌کنی سل گاوی در منطقه خود را دارند، باقی کشورها هنوز با سل گاوی و ریشه‌کنی آن دست‌وپنجه نرم می‌کنند (۳). در سال‌های اخیر هم با بروز بیماری‌هایی هم‌چون ایدز و مسأله مقاومت چند دارویی شاهد افزایش در میزان بروز سل انسانی در کل جهان هستیم تا جایی که سازمان جهانی بهداشت (WHO) در سال ۱۹۹۳ میلادی، سل را یک بیماری با اولویت نخست عنوان نمود. مشکل سل در کشورهای بالایی از ایدز را دارا هستند و یا بیماری در آن جا سیر صعودی دارد، دوچندان می‌باشد. امروزه در دنیا هر ساله بیش از ۸ میلیون نفر به این بیماری مبتلا می‌شوند و تاکنون یک سوم مردم جهان بدون آن که احساس بیماری کنند، به میکوباکتریوم آلوده شده‌اند. سل بزرگ‌ترین علت مرگ ناشی از بیماری‌های عفونی تک عاملی در جهان- حتی بیش‌تر از ایدز، مالاریا و سرخک- است، دارای مرتبه دهم در بار جهانی بیماری‌هاست و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۲۰ میلادی هم‌چنان جایگاه کنونی خود را حفظ کند و یا تا رتبه هفتم بالا رود (۲).

سل گاوی در کشور ما هاپیواندیمیک بوده و کنترل آن محدود به گاو‌داری‌های صنعتی و نیمه‌صنعتی است و تنها بخش محدودی از گاوهای کل کشور تحت پوشش برنامه تست و کشتار می‌باشند. از طرفی نسبت بالایی از مسلولان انسانی مبتلا به شکل خارج ریوی سل هستند. به دلیل عدم ایجاد پاسخ در برخی از حالت‌های بیماری، شیوع و گسترش آن در سطح گله به شکل پنهان اتفاق افتاده و در یک غفلت ناگهانی امکان حذف کل جمعیت دامی واحد را فراهم می‌سازد.

غیر مستقیم نیروی انسانی، وسایل و علوفه با گاوداری‌های دیگر، دارا بودن کارگر غیر ایرانی، نوع بهاربند (آزاد، بسته)، وجود موش، وجود گاو نر، و مدیریت کود در سطح گاوداری- بر آلودگی گاوداری‌های تحت پوشش برنامه‌ی غربالگری کاملاً محسوس می‌باشد تا با لزوم افزایش همه‌جانبه برنامه‌ی غربالگری و بر اساس فرضیات این تحقیق، اهرم‌های دیگر کنترل بیماری علاوه بر تأکید بر لزوم تداوم برنامه تست و کشتار (با در نظر گرفتن حداکثر ممکن جمعیت تحت پوشش) در مناطق اقلیمی مختلف را شناخت و کاربرد آن‌ها را توصیه نمود.

مطالعه موجود- که بنا بر اطلاع نگارندگان اولین مطالعه مورد- شاهدی در سطح گله در ایران می‌باشد- با هدف بررسی عوامل مؤثر بر آلودگی گاوداری‌های صنعتی به سل گاوی انجام گردید تا اتخاذ/بازنگری در سیاست‌های مناسب/موجود کنترلی صورت پذیرد و تلاش در راه پیش‌گیری و کنترل بیش‌تر سل گاوی انجام شود.

روش کار

این مطالعه، یک مطالعه مورد- شاهدی است که در سطح گله‌های گاو شیری که تحت پوشش آزمون غربالگری توبرکولین قرار دارند؛ در فاصله زمانی ابتدای تابستان تا پایان پاییز ۱۳۹۱ انجام شده است. گاوداری‌های مورد (۶۲ فارم) از میان گاوداری‌های شیری تحت پوشش استان‌های تهران، البرز، همدان، اصفهان، قزوین، قم، مازندران و سمنان انتخاب شد که پس از اعزام به کشتارگاه‌های صنعتی، نمونه گره لنفاوی برای کشت به مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال و مایکوباکتریوم بویس از آن‌ها جدا گردید. گاوداری‌های شاهد (۶۲ فارم) نیز از استان‌های یاد شده و بر اساس منفی بودن آزمون توبرکولین انجام پذیرفت. گاوداری‌های شاهد بر اساس ظرفیت و فاصله با گاوداری‌های مورد، به صورت فردی هم‌سان شدند؛ به این صورت که بر اساس هر گاوداری مورد (کشت مثبت)، نزدیک‌ترین گاوداری با ظرفیت مشابه و فاصله جغرافیایی نزدیک (کم‌تر از ۳ کیلومتر) که دارای نتیجه منفی آزمون توبرکولین بودند؛ انتخاب شدند.

جامعه آماری مورد مطالعه، شامل گاوداری‌های صنعتی که تحت پوشش عملیات توبرکولیناسیون سازمان دامپزشکی کشور قرار دارند؛ بودند. گروه مورد شامل گاوداری‌هایی بودند که در سال‌های گذشته (۹۱-۱۳۸۶) دارای گاو راکتور مثبت بر اساس پروتکل

شانس = $4/9$ ، $P=0/001$) و ورود گاو جدید به گله (نسبت شانسی = $5/8$ ، $P=0/003$) سبب افزایش خطر ابتلا به سل گاوی گزارش شدند (۷). در یک مطالعه مورد- شاهدی هم‌سان شده در ایرلند، تراکم فاکتور خطر مهمی برای ابتلا به سل گاوی معرفی شد (۸). در مطالعه مورد- شاهدی دیگری در همین کشور، مجاورت با گله‌های دیگر (نسبت شانسی = $3/6$) جزء فاکتورهای خطر گزارش گردید (۹). در مطالعه دیگری در ایالات متحده آمریکا، حصارکشی اطراف گاوداری سبب کاهش خطر ابتلا به سل گزارش شد (۱۰). در مطالعه‌ی انجام شده در ایتالیایی، شیوع سل در گاوهایی که توسط دامپرورانی نگهداری می‌شدند که سل فعال داشتند ۳ برابر شیوع در گاوهایی که توسط دامپرورانی نگهداری می‌شدند که سل فعال نداشتند؛ مشاهده شد (۱۱). در مطالعه دیگری در این کشور در سال ۲۰۰۹ میلادی، خرید و فروش دام (نسبت شانسی = $1/7$) و حضور سایر حیوانات در گله (نسبت شانسی = ۲) جزء فاکتورهای خطر معرفی شدند (۱۲). در مطالعه دیگری در انگلستان، راکتور مثبت شدن نسبت به تست سل گاوی با سن و تعداد تست‌ها دارای ارتباط مثبتی بود (۱۳). در مطالعه عوامل خطر رخداد سل گاوی در تانزانیا، تعداد موارد راکتور مثبت در مناطق مرتفع $8/6$ درصد) به طور معنی‌داری کم‌تر از مناطق دره‌ای (۱۴ درصد) گزارش شد (۱۴). در مطالعه‌ی دیگری تأثیر فنس‌کشی در کنترل سل گاوی در حیات وحش به اثبات رسید (۱۵). در مطالعه فاکتورهای خطر سل گاوی در اوگاندا، خرید و فروش دام سبب افزایش خطر ابتلا به سل گاوی معرفی شد (۱۶). در مطالعه دیگری در انگلستان و ولز، عوامل خطر سل گاوی بعد از همه‌گیری تب‌برفکی، تماس مستقیم با فارم‌های آلوده معرفی شد (۱۷). در یک مطالعه، استفاده از سیستم طولیه بسته (tie-stalls) یکی از عوامل خطر عود مجدد سل گزارش گردید (۱۸). در مطالعه‌ی در سال ۲۰۱۲ میلادی، شانسی ابتلا در گاوهایی که از گاوداری‌های دارای مواجهه با سل خریداری شده بودند؛ $1/91$ برابر گله‌هایی که مواجهه نداشتند؛ بود (۱۹).

کنترل سل گاوی در کشور ما محدود به گاوداری‌های صنعتی و نیمه‌صنعتی است و تنها بخش محدودی از گاوهای کل کشور تحت پوشش برنامه تست و کشتار می‌باشند؛ شناسایی عوامل مؤثر- مانند اندازه گله، سطح سواد دامدار، حصار کشی اطراف گاوداری، امکان ورود حیوانات وحشی به فارم، رفت و آمد آزادانه حیوانات اهلی (سگ و گربه) در فارم، وضعیت بهداشتی فارم، چگونگی ورود و خروج دام، مجاورت با گاوداری‌های دیگر، تماس

معنی‌دار برآورد شدند؛ نیز ارزیابی شدند.

یافته‌ها

میانگین \pm خطای معیار ظرفیت گله‌های تحت مطالعه $52/85 \pm 322/5$ در گروه مورد و $301/69 \pm 47/96$ در گروه شاهد بود. میانگین \pm انحراف معیار سنی دامداران تحت مطالعه $52/11 \pm 11/34$ در گروه مورد و $50/97 \pm 10/84$ در گروه شاهد بود. $35/48$ درصد دامداران گروه مورد و $6/45$ درصد گروه شاهد دارای تحصیلات دانشگاهی بودند. چگونگی استفاده از خدمات مشاوره‌ای دامپزشکان در دامداری‌های گروه مورد و شاهد به ترتیب به صورت تمام وقت و منظم ($53/23$ و $48/39$ درصد) و موردی ($46/77$ و $51/61$ درصد) مشاهده شد (جدول شماره ۱). در روابط بین متغیرهای مستقل بر اساس مدل رگرسیون لجستیک شرطی چندمتغیره تحت مطالعه با ابتلا به سل گاوی مشخص گردید مدیریت مناسب کود (نسبت شانس = $0/12$)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: $0/03 - 0/49$ ؛ $p = 0/003$ ؛ شعله‌دهی منظم به‌بارندها (نسبت شانس = $0/21$)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: $0/04 - 0/92$ و $P = 0/003$ ؛ و حصارکشی منظم اطراف دامداری (نسبت شانس = $0/17$)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: $0/03 - 0/81$ و $P = 0/002$ سبب کاهش خطر آلودگی و وجود موش (نسبت شانس = $4/9$)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: $1/04 - 23/01$ و $P = 0/004$ سبب افزایش خطر آلودگی به سل گاوی می‌شود. اثر متقابل دوطرفه هیچ‌کدام از این ۴ متغیر یاد شده معنی‌دار نبود ($P > 0/05$). در تحلیل تک‌متغیره ارتباط معنی‌داری بین سطح تحصیلات دامداران با وضعیت آلودگی به سل گاوی مشاهده گردید، اما این متغیر به علت هم‌خطی (Colinearity) با دیگر متغیرها در مدل نهایی وارد نگردید. بر این اساس، دارا بودن تحصیلات دانشگاهی دامداران شانس ابتلا به سل گاوی را افزایش می‌دهد (نسبت شانس = 7)، فاصله اطمینان ۹۵ درصد: $23/47 - 2/09$ و $P = 0/002$.

توزیع فراوانی، قدرت ارتباط و سطح معنی‌داری متغیرهای مستقل تحت مطالعه در دو مدل رگرسیون لجستیک شرطی تک و چند متغیره در جدول‌های شماره ۲ و ۳ آمده است.

تشخیصی سازمان دامپزشکی کشور (داشتن اختلاف قطر بین محل تزریق مایع توپرکولین بیشتر از ۴ میلی‌متر) بوده‌اند که پس از اعزام به کشتارگاه‌های صنعتی، نمونه گره لنفاوی برای کشت به مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی ارسال و میکوباکتریوم بویس از آن‌ها جدا گردید.

گاوداری‌های شاهد (۶۲ گروه شاهد شامل گاوداری‌های است که در مدت ذکر شده دارای گاو راکتور مثبت نبوده‌اند. گروه شاهد از نظر ظرفیت گله و فاصله با گروه مورد هم‌سان‌سازی گردید. برای جمع‌آوری اطلاعات مورد نظر از پرسشنامه استفاده شد که دارای سؤالات باز و بسته در رابطه با فاکتورهای مؤثر شناخته شده و گزارش شده آلودگی به سل گاوی (۸،۲۰) مانند اندازه گله، سطح سواد دامدار، حصار کشی اطراف گاوداری به صورت کامل با ارتفاع حداقل ۲/۵ متر و با استفاده از مصالح مطلوب و مستحکم، امکان ورود حیوانات وحشی به فارم، وجود حیوانات اهلی (سگ، گربه) در فارم، وضعیت بهداشتی فارم، ورود دام به این فارم در ۱۰ سال گذشته، مجاورت با گاوداری‌های دیگر، تماس غیر مستقیم نیروی انسانی، وسایل و علوفه با گاوداری‌های دیگر (رفت و آمد آزادانه پرسنل و کارگران، ماشین‌آلات حمل علوفه و کود از فارم دیگر به این فارم) دارا بودن کارگر غیر ایرانی، وضعیت بدنی گاوها (BCS)، نوع بهاریند (آزاد، بسته)، وجود گاو نر، مدیریت کود و ... می‌باشد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری Stata 11.2 انجام شد. برای تعیین ارتباط عوامل خطر در سطح گله از Conditional Logistic Regression استفاده گردید. متغیرهای تحت مطالعه ابتدا وارد مدل رگرسیون لجستیک شرطی تک‌متغیره شدند و سپس آن دسته از متغیرهایی که دارای $p\text{-value} > 0.2$ بودند از مدل حذف و سایر متغیرها وارد مدل رگرسیون لجستیک شرطی چندمتغیره شدند. مدل با استفاده از روش حذف رو به عقب (Backward elimination) با استفاده از تست‌های Wald و Likelihood ratio ساده گردید. پس از ساده‌سازی، متغیرهای معنی‌دار وارد مدل گردیدند و با استفاده از روش حذف رو به عقب، مدل مجدداً ساده شد تا در نهایت تمامی متغیرها، رابطه‌ی معنی‌داری را ایجاد نمودند. در نهایت توزیع فراوانی، قدرت ارتباط (نسبت شانس) و $p\text{-value}$ متغیرهای مستقل بر اساس مدل رگرسیون لجستیک شرطی چندمتغیره محاسبه و برآورد شد. اثر متقابل دو طرفه متغیرها به منظور اطمینان از وجود یا عدم وجود تداخل اثر بین متغیرهایی که باعث افزایش یا کاهش خطر ابتلا به سل شده بودند و در مدل نهایی

جدول شماره ۱- سطح تحصیلات دامداران و چگونگی استفاده از خدمات دامپزشکی در گروه‌های مورد و شاهد

متغیر	نوع دامداری	مورد	شاهد
		(درصد)	(درصد)
سطح تحصیلات	دیپلم و زیر دیپلم	۴۰	۵۸
		(۶۴/۵۲)	(۹۳/۵۵)
استفاده از خدمات مشاوره‌ای دامپزشکان	تمام وقت و منظم	۲۲	۴
		(۳۵/۴۸)	(۶/۴۵)
	موردی	۳۳	۳۰
		(۵۳/۲۳)	(۴۸/۳۹)
		۲۹	۳۲
		(۴۶/۷۷)	(۵۱/۶۱)

جدول شماره ۲- گروه‌های مورد-شاهد، برآورد نقطه‌ای و فاصله‌ای نسبت شانس (OR)* بر اساس مدل رگرسیون لجستیک شرطی تک‌متغیره

متغیر	فراوانی		برآورد نسبت شانس (OR)	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	P- value
	مورد (%)	شاهد (%)			
تراکم در بهاربندها	۲۸ (۴۵/۱۶)	۱۹ (۳۰/۶۵)	۱/۷۵	۰/۸۶-۳/۵۶	۰/۱۲
	۳۴ (۵۴/۸۴)	۴۳ (۶۹/۳۵)			
نوع بهاربندها	۲۳ (۳۷/۱۰)	۱۸ (۲۹/۰۳)	۱/۵۵	۰/۶۷-۳/۵۹	۰/۳۰
	۳۹ (۶۲/۹۰)	۴۴ (۷۰/۹۷)			
مدیریت کود	۲۹ (۴۶/۷۷)	۴۳ (۶۹/۳۵)	۰/۳۳	۰/۱۴-۰/۷۸	۰/۰۱
	۳۳ (۵۳/۲۳)	۱۹ (۳۰/۶۵)			
رعایت اصول بهداشتی	۳۱ (۵۰)	۲۵ (۴۰/۳۲)	۲	۰/۷۵-۵/۳۲	۰/۱۶
	۳۱ (۵۰)	۳۷ (۵۹/۶۸)			
شعله‌دهی منظم	۲۹ (۴۶/۷۷)	۴۱ (۶۶/۱۳)	۰/۲۵	۰/۰۸-۰/۷۴	۰/۰۱
	۳۳ (۵۳/۲۳)	۲۱ (۳۳/۸۷)			
تلقیح مصنوعی	۵۲ (۸۳/۸۷)	۴۶ (۷۴/۱۹)	۲/۲	۰/۷۶-۶/۳۱	۰/۱۴
	۱۰ (۱۶/۱۳)	۱۶ (۲۵/۸۱)			
حصارکشی	۴۱ (۶۶/۱۳)	۵۳ (۵۸/۴۸)	۰/۲۹	۰/۱۸-۰/۷۹	۰/۰۱
	۲۱ (۳۳/۸۷)	۹ (۱۴/۵۲)			
ورود دام	۲۶ (۴۱/۹۴)	۳۳ (۵۳/۲۳)	۰/۶۶	۰/۳۳-۱/۳۱	۰/۲۴
	۳۶ (۵۸/۰۶)	۲۹ (۴۶/۷۷)			
وجود سگ گله (مقیم)	۲۲ (۳۵/۴۸)	۲۶ (۴۱/۹۶)	۰/۶۳	۰/۲۴-۱/۶۰	۰/۳۵
	۴۰ (۶۴/۵۲)	۳۶ (۵۸/۰۶)			

وجود گربه					
۰/۶۵	۰/۳۴-۱/۹۷	۰/۸۱	۴۴ (۷۰/۹۷)	۴۲ (۶۷/۷۴)	بله
			۱۸ (۲۹/۰۳)	۲۰ (۳۲/۲۶)	خیر
وجود پرنده اهلی					
۰/۱۲	۰/۷۸-۷/۹۷	۲/۵	۱۸ (۲۹/۰۳)	۲۴ (۳۸/۷۱)	بله
			۴۴ (۷۰/۹۷)	۳۸ (۶۱/۲۹)	خیر
وجود کبوتر (مقیم)					
۰/۰۴	۰/۱۵-۰/۹۶	۰/۳۷	۲۱ (۲۳/۸۷)	۱۱ (۱۷/۷۴)	بله
			۴۱ (۶۶/۱۳)	۵۱ (۸۲/۲۶)	خیر
وجود پرندگان وحشی					
۰/۱۵	۰/۲۳-۱/۲۶	۰/۵۳	۵۰ (۸۰/۶۵)	۴۳ (۶۹/۳۵)	بله
			۱۲ (۱۹/۳۵)	۱۹ (۳۰/۶۵)	خیر
وجود موش					
۰/۰۰۳	۱/۸۷-۲/۴	۶/۳۴	۴ (۶/۴۵)	۲۰ (۳۲/۲۶)	بله
			۵۸ (۹۳/۵۵)	۴۲ (۶۷/۷۴)	خیر
تماس غیر مستقیم					
۰/۴۲	۰/۰۹-۲/۷۳	۰/۵	۱۸ (۲۹/۰۳)	۱۶ (۲۵/۸۱)	دارد
			۴۴ (۷۰/۹۷)	۴۶ (۷۴/۱۹)	ندارد
کارت بهداشتی پرسنل					
۰/۸۳	۰/۴-۲/۰۷	۰/۹۱	۲۱ (۳۳/۸۷)	۲۰ (۳۲/۲۶)	دارد
			۴۱ (۶۶/۱۳)	۴۲ (۶۷/۷۴)	ندارد
کارگر افغانی					
۰/۰۵	۰/۰۷-۰/۶۲	۰/۲۱	۲۷ (۴۳/۵۵)	۱۲ (۱۹/۳۵)	دارد
			۳۵ (۵۶/۴۵)	۵۰ (۸۰/۶۵)	ندارد
تحصیلات دانشگاهی					
۰/۰۰۲	۲/۰۹-۲۳/۴۷	۷	۴ (۶/۴۵)	۲۲ (۳۵/۴۸)	دارد
			۵۸ (۹۳/۵۵)	۴۰ (۶۴/۵۲)	ندارد
استفاده از خدمات مشاوره‌ای دامپزشکان					
۰/۲۷	۰/۴۸-۱۲/۸۸	۲/۵	۳۰ (۴۸/۳۹)	۳۳ (۵۳/۲۳)	تمام وقت و منظم
			۳۲ (۵۱/۶۱)	۲۹ (۴۶/۷۷)	موردی

*تعدیل شده برای متغیرهای همسان شده فاصله و ظرفیت

جدول شماره ۳- گروه‌های مورد- شاهد، برآورد نقطه‌ای و فاصله‌ای نسبت شانس* (OR) بر اساس مدل رگرسیون لجستیک شرطی چندمتغیره

P value	فاصله اطمینان ۹۵ درصد	برآورد نسبت شانس (OR)	فراوانی		متغیر
			شاهد (%)	مورد (%)	
					مدیریت کود
۰/۰۰۳	۰/۰۳-۰/۴۹	۰/۱۲	۴۳ (۶۹/۳۵)	۲۹ (۴۶/۷۷)	مناسب
			۱۹ (۳۰/۶۵)	۳۳ (۵۳/۲۳)	نامناسب
					شعله‌دهی منظم
۰/۰۳	۰/۰۴-۰/۹۲	۰/۲۱	۴۱ (۶۶/۱۳)	۲۹ (۴۶/۷۷)	دارد
			۲۱ (۳۳/۸۷)	۳۳ (۵۳/۲۳)	ندارد
					حصارکشی
۰/۰۲	۰/۰۳-۰/۸۱	۰/۱۷	۵۳ (۸۵/۴۸)	۴۱ (۶۶/۱۳)	مطلوب
			۹ (۱۴/۵۲)	۲۱ (۳۳/۸۷)	نامطلوب
					وجود موش
۰/۰۴	۱/۰۴-۲۲/۰۱	۴/۹۰	۴ (۶/۴۵)	۲۰ (۳۲/۲۶)	بله
			۵۸ (۹۳/۵۵)	۴۲ (۶۷/۷۴)	خیر

*تعدیل شده برای متغیرهای همسان شده فاصله و ظرفیت

بحث

انجام شد؛ ورود گاو جدید به گله ($OR= 5/8, P=0/003$) باعث افزایش خطر ابتلا به سل گاوی شدند. در مطالعه حاضر نوع بهاربند (آزاد و بسته ($OR= 1/55, P=0/3$))، و تماس غیرمستقیم با سایر گله‌ها (تکنیسین، نیروی انسانی، علوفه، کود، ماشین آلات و وسایل فارم) ($OR= 0/5, P=0/42$) رابطه آماری معنی‌داری با سل نداشتند که با نتایج مطالعه انجام شده در ایتالیا (Y) و هم‌چنین در اوگاندا (۱۶) ($OR=3/4, P<0/003$) هم‌خوانی دارد. در مطالعه حاضر استفاده از تلقیح مصنوعی (به جای استفاده از گاو نر) رابطه آماری غیرمعنی‌داری ($OR= 2/2, P=0/14$) را بین گروه مورد و شاهد نشان داد که با نتایج مطالعه مورد- شاهدی هم‌سان شده در سال ۱۹۹۳ میلادی در ایرلند که روی ۸۰ گله مبتلا به سل مزمن و ۸۰ گله شاهد (که برای سالیان متمادی عاری از سل بودند) انجام شد؛ هم‌خوانی ندارد (۸). در مطالعه حاضر تراکم دام در بهاربندها، رابطه آماری معنی‌داری ($OR= 1/75, P=0/12$) را بین گروه مورد و شاهد نشان

مطالعه حاضر نشان داد که فاکتورهای مدیریت مناسب جمع‌آوری و تخلیه کود، شعله‌دهی منظم بهاربندها و حصارکشی مطلوب اطراف دامداری، اثر حافظتی در آلودگی گاوداری‌های تحت مطالعه به سل گاوی دارد که دو فاکتور اول بدون شک باعث کاهش بقای مایکوباکتریوم بویس و فاکتور سوم باعث کاهش احتمال ورود سایر مخازن و میزبان‌های تصادفی و ثانویه سل می‌شوند. وجود موش در دامداری به صورت چشم‌گیری در مطالعه حاضر، باعث افزایش خطر آلودگی به سل گاوی گردید. هر چند در مطالعه حاضر ورود دام، رابطه آماری معنی‌داری ($OR= 0/66, P=0/24$) را بین گروه مورد و شاهد نشان نداد، اما در مطالعه انجام شده در ایتالیا در سال ۱۹۹۸ میلادی که روی ۲۷ گله راکتور مثبت (که به وسیله تست پس از کشتار تأیید شدند) و ۷۴ گله شاهد فاقد راکتور (در حداقل ۳ سال گذشته)

نتیجه‌گیری

به طور کلی مشاهده می‌گردد که مدیریت مناسب کود، شعله‌دهی منظم بهاربندها، حصارکشی اطراف دامداری و وجود موش، در زمره عوامل خطر ابتلا به این بیماری هستند. که این امر، لزوم توجه جدی‌تر به مقوله مبارزه با جوندگان و همچنین ضدعفونی را مشهود می‌نماید.

لزوم افزایش همه‌جانبه برنامه‌ی غربالگری و بر اساس فرضیات این تحقیق، شناخت اهرم‌های دیگر کنترل بیماری علاوه بر تأکید بر لزوم تداوم برنامه تست و کشتار (با در نظر گرفتن حداکثر ممکن جمعیت تحت پوشش) در مناطق اقلیمی مختلف و کاربرد آن‌ها توصیه می‌شود.

شاید زمان آن فرا رسیده باشد تا در سیاست‌های موجود کنترلی و قدمت مبارزه (نزدیک به ۵۰ سال) بازنگری صورت پذیرد و سیاست‌های مناسب‌تری اتخاذ گردد و تلاش بیش‌تری در راه پیش‌گیری و کنترل بیش‌تر سل گاوی انجام شود.

بر اساس نتایج این مطالعه پیشنهاد می‌شود:

- ۱- سامانه ثبت اطلاعات گاوهای مبتلا به سل بر اساس سؤالات پرسشنامه این پژوهش بازنگری و اصلاح شود.
- ۲- آموزش لازم به دامداران در خصوص مدیریت کود (جمع‌آوری، تخلیه به موقع و عقیم‌سازی کود با استفاده از فرمالین و محصور نمودن آن با نایلون‌های مقاوم)، شعله‌دهی منظم بهاربندها و تقویت حصارکشی مطلوب اطراف دامداری از طریق پرسنل مسؤول تست غربالگری توبرکولین، رسانه‌های جمعی، جزوه‌ها و پمفلت‌های آموزشی ارایه شود.
- ۳- برنامه کنترل جوندگان و شعله‌دهی منظم در برنامه‌های مدیریت بهداشتی گاوداری‌ها گنجانده شود.
- ۴- جمعیت تحت پوشش تست توبرکولین با تمهیدات لازم افزایش یابد.

غرامت‌های پیش‌بینی شده قانونی به موقع پرداخت شود تا انگیزه لازم همکاری دامداران با طرح کنترل سل فراهم گردد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات و همکاری‌های صمیمانه مدیرکل محترم دفتر بهداشت و مدیریت بیماری‌های دامی سازمان دامپزشکی کشور، مدیران کل، معاونان فنی، رؤسا، کارشناسان و پرسنل شریف و خدوم اداره‌های کل دامپزشکی و

نداد، اما در مطالعه‌ای که در کانادا (۲۱) در سال‌های ۱۹۹۹ و ۲۰۰۰ میلادی، روی فاکتورهای داخل و بین گله‌ای انجام شد و هم‌چنین در مطالعه دیگری در تانزانیا (۲۲)، افزایش سائز و تراکم گله در بین گله‌ها جزء مهم‌ترین فاکتورهای خطر معرفی شدند.

حصارکشی ممتد و مناسب (با حداقل ارتفاع ۲/۵ متر و مصالح مطلوب) در مطالعه حاضر رابطه آماری معنی‌داری در آلودگی دامداری‌ها به سل ($OR=0/17, p=0/02$) را نشان داد، که با نتایج مطالعه‌های انجام شده در امریکا (۱۰)، ایرلند (۲۳) و کانادا (۱۵) هم‌خوانی دارد.

در مطالعه حاضر مدیریت کود باعث کاهش خطر آلودگی به سل گاوی شد که با مطالعه مورد- شاهدهی انجام شده در سال ۲۰۰۷ میلادی در انگلستان هم‌خوانی دارد. نتایج مطالعه یاد شده نشان داد ذخیره کود برای مدت بیش‌تر از ۶ ماه و خرید و فروش بیش از ۵۰ رأس سبب افزایش خطر ابتلا به سل می‌شود (۲۴).

هر چند در مدل نهایی رگرسیون لجستیک شرطی چند متغیره، نوع بهاربندها رابطه‌ای را با بیماری نشان نداد، اما استفاده از سیستم طوبله بسته در یک مطالعه در انگلستان، یکی از عوامل خطر ($OR=4/6, P<0/001$) عود مجدد سل معرفی شد (۱۸).

در مطالعه حاضر وجود موش به عنوان عامل افزایش خطر ابتلا به سل گاوی شناسایی شد که نیازمند به مطالعات جامع‌تر و ردیابی بیش‌تری دارد که آیا سویه جدا شده از گاو و موش در یک فارم مشابه می‌باشد یا خیر. مطالعات پراکنده‌ای در این خصوص در سطح جهان انجام شده که نقش احتمالی موش قهوه‌ای (*Rattus norvegicus*) و موش گردن زرد (*Apodemus flavicollis*) در چرخه اپیدمیولوژی بیماری را مورد ارزیابی قرار دادند. نقش میزبان نگهدارنده برای موش‌ها در مطالعات انجام شده در انگلستان به اثبات نرسیده است (۲۰).

سطح تحصیلات دامداران بدون توجه به کنترل سایر متغیرها (تحلیل تک متغیره) فاکتور مهمی بود؛ بر این اساس، گاوداری‌هایی که مدیران و صاحبان آن‌ها دارای تحصیلات دانشگاهی بودند؛ شانس بیش‌تری برای ابتلا داشتند. این مسأله را می‌توان با دارا نبودن تحصیلات مرتبط با دامپروری و دامپزشکی این افراد توجیه نمود. متأسفانه این افراد تمایل چندانی به مشاوره با صاحب‌نظران ندارند.

لزوم انجام تحقیقات اپیدمیولوژیک و مولکولار اپیدمیولوژیک در خصوص نقش حیوانات اهلی و وحشی کاملاً ضروری به نظر می‌رسد.

رازی تشکر و قدردانی نمایند. همچنین از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران به دلیل تقبل برخی از هزینه‌ها نیز سپاسگزاری می‌شود.

شبکه‌های تابعه در استان‌های تهران، البرز، همدان، اصفهان، قزوین، قم، مازندران و سمنان و کارکنان بزرگوار بخش تحقیق و تولید توپرکولین و مالئین مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی

منابع

1. Bietaa F, Boschiroli ML, Thorel MF, Guilloteau LA. Zoonotic aspects of Mycobacterium bovis and Mycobacterium avium-intracellulare complex (MAC), Vet. Res. 2005, 36: 411-36.
2. Tuberculosis. Available at: <http://www.cdc.hbi.ir/health/topics/tb>
3. Michel AL, Luise A, Muller B, van Helden PD. Mycobacterium bovis at the animal-human interface: A problem, or not?, Veterinary Microbiology 2010, 140: 371-81.
4. Wedlock ND, Skinner MA, de Lisle GW, Buddle BM. Control of Mycobacterium bovis Infection and the Risk to Human Population. Microbes and Infection 2002; 4: 471-80.
5. Sakha M., Ezat-panah N and Rohi-Torbati AA. A retrospective study on bovine tuberculosis control program and related incidence of human tuberculosis in Kerman. Iranian Veterinary Science 2006, 5: 537-44.
6. Boluki Z, Bahonar AR, Akbarein H, Nasehi M. Incidence Rate of Bovine and Human Tuberculosis in Five Regions of Iran During One Decade (1999-2009): An Ecological Study, J Army Univ Med Sci. March 2013, 11: 11-9.
7. Marangon S, Martini M, Pozza MD, Neto JF. A case-control study on bovine tuberculosis in the Veneto Region (Italy), Preventive Veterinary Medicine 1998, 34: 87-95.
8. Griffin JM, Haahes T, Lynch K, Salman MD, McCarthy J, Hurley T. The association of cattle husbandry practices, environmental factors and farmer characteristics with the occurrence of chronic bovine tuberculosis in dairy herds in the Republic of Ireland, Preventive Veterinary Medicine, 1993, 17: 145-60.
9. Griffin JM, Martin SW, Thorburn MA, Eves JA, Hammond RF. A case-control study on the association of selected risk factors with the occurrence of bovine tuberculosis in the Republic of Ireland, Preventive Veterinary Medicine 1996, 27: 75-87.
10. Kaneene JB, Bruning-Fann CS, Granger LM, Miller R, Porter-Spalding BA. Environmental and farm management factors associated with tuberculosis on cattle farms in northeastern Michigan, Journal of the American Veterinary Medical Association 2002, 221: 837-42.
11. Regassa A, Medhin G, Ameri G. Bovine TB is more prevalent in cattle owned by farmers with active TB in central Ethiopia, The Veterinary Journal, 2008, 178: 119-25.
12. Tschopp R, Schelling E, Hattendorf J, Aseffa A, Zinsstag J. Risk factors of bovine tuberculosis in cattle in rural livestock production systems of Ethiopia, Preventive Veterinary Medicine, 2009, 89: 205-11.
13. Ramírez-Villaescusa AM, Medley GF, Mason S, Green LE. Herd and individual animal risks associated with bovine tuberculosis skin test positivity in cattle in herds in south west England, Preventive Veterinary Medicine 2009, 92: 188-98.
14. Kazwala RR, Kambarage DM, Daborn CJ, Nyange J, Jiwa SFH, Sharp JM. Risk factors associated with occurrence of Bovine Tuberculosis in cattle in the Southern highlands of Tanzania, Veterinary Research Communication 2001, 25: 609-14.
15. Brook RJ. Incorporating farmer observations in efforts to manage bovine tuberculosis using barrier fencing at the wildlife-livestock interface, Preventive Veterinary Medicine 2010, 94: 301-5.
16. Oloya J, Muma JB, Opuda-Asibi J, Djonje B, Kazwala R, Skjerve E. Risk factors for herd-level bovine-tuberculosis seropositivity in transhumant cattle in Uganda, Preventive Veterinary Medicine 2007, 80: 318-29.
17. Johnston WT, Vial F, Gettinby G, Bourne FJ, Clifton-Hadley RS, Cox DR. Herd-level risk factors of bovine tuberculosis in England and Wales after the 2001, International Journal of Infectious Disease 2011, 15: e833-e840.
18. Karolemeasa K, McKinley TJ, Clifton-Hadley RS, Goodchild AV, Mitchell A, Johnston WT. Recurrence of bovine tuberculosis breakdowns in Great Britain: Risk factors and prediction, Preventive Veterinary Medicine 2011, 102: 22-9.
19. Berrian AM, O'Keeffe J, White PW, Norris J, Litt J, More SJ, Olea-Popelka FJ. Risk of bovine tuberculosis for cattle sold out from herds during 2005 in Ireland, Veterinary Record 2012, 170: 620-5.
20. Humblet MF, Boschiroli ML, Saegerman C. Classification of worldwide bovine tuberculosis risk factors in cattle: a stratified approach. Vet. Res. 2009, 40: 50.
21. Munroe FA, Dohoo IR, McNab WB, Spangler L. Risk factors for between-herd spread of Mycobacterium bovis in Canadian cattle and cervids between 1985 and 1994, Preventive Veterinary Medicine 1999, 41: 119-33.
22. Cleaveland, S, Shaw DJ, Mfinanga SG, Shirima G, Kazwala RR, Eblate E, Sharp M. Mycobacterium bovis in rural Tanzania: Risk factors for infection in human and cattle populations, Tuberculosis 2007, 87: 30-43.
23. Denny, G.O. and Wilesmith, J.W.: Bovine Tuberculosis in Northern Ireland: A case-control study of herd risk factors, Veterinary Record 1999, 144: 305-10.
24. Courtenay O, Reilly LA. Husbandry practices, badger sett density and habitat composition as risk factors for transient and persistent bovine tuberculosis on UK cattle farms, Preventive Veterinary Medicine/ 2007 80: 129-42.

Determinants of Bovine Tuberculosis in Dairy Farms Covered by the Tuberculin Screening Test: A Herd Level Case Control Study

Akbarein H¹, Bahonar AR¹, Bokaie S¹, Mosavari N², Rahimi- Foroushani A³, Sharifi H^{4,5}, Makenali AS⁶, Rokni ND^{7,8}, Marhamati- Khameneh B⁶, Broumandfar S⁶

1- Department of Food Hygiene, Division of Epidemiology and Zoonoses, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- PPD Production Department, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran

3- Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

4- Department of Food Hygiene and Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran

5- Research Center for Modeling in Health, Institute for Future Studies in Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

6- Iranian Veterinary Organization, Tehran, Iran

7- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

8- Department of Veterinary Sciences, Academy of Sciences, IR of Iran

Corresponding author: Bahonar A., abahonar@ut.ac.ir

Background & Objectives: Bovine Tuberculosis (BTB) is one of the most important zoonoses. *Mycobacterium bovis* is the responsible agent of BTB in the cattle. The current study was conducted to investigate the determination factors of BTB in dairy farms covered by the tuberculin screening test.

Methods: A herd level case- control study was carried out in 124 (62 cases & 62 controls) dairy farms in the provinces of Tehran, Alborz, Hamedan, Isfahan, Qazvin, Qom, Mazandaran and Semnan. The control farms were individually matched with case farms by farm capacity and distance. Statistical analyses were done by Stata 11.2 using conditional logistic regression.

Results: Proper management of manure (OR=0.12; 95% CI: 0.03-0.49), regular flaming of stalls (OR= 0.21; 95% CI: 0.04-0.92) and complete fencing around the farm (OR= 0.17; 95% CI: 0.03-0.81) decreased while the presence of rodents (rat) (OR= 4.90; 95% CI: 1.04-23.01) increased the risk of infection. The interaction among these variables was not statistically significant

Conclusion: According to the results, there is an essential need to pay more attention to rodent control in farms.

Keywords: *Mycobacterium bovis*, Tuberculosis, Matched Case- control study, Conditional logistic regression