Arak Medical University Journal (AMUJ) *Original Article*
2015; 18(97): 49-57

# Genomic Detection of *Coxiella burnetii* in Cattle Milk Samples by Nested-PCR method in Bonab, Iran

Peyman Khademi[1*], Mohammadreza Mahzounieh[1], Mahmoud Esmaeili Kotahmer[2]

1- Department of Pathobiology, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.
2- Department of Food Hyegien, Shahrekord University, Shahrekord, Iran.

Received:16 Dec 2014, Accepted: 28 Jan 2015

**Abstract**

***Background:*** Q fever is a zoonotic agent that is endemic in the many parts of the World. It has animal origin as considered as an emerging and re-emerging zoonose in many countries, including Iran. Cattle, sheep, and goats are the primary reservoirs for Q fever. Organisms are excreted in milk of infected animals. This study was conducted to determine the prevalence rate of *Coxiella burentii* in raw samples obtained from sheep in Bonab.

***Materials and Methods:*** This study was carried out from Autuman 2014 to Winter 2014. Overall, 120 milk samples were collected from 100 dairy cattle breeding complexes and the diagnosis of *Coxiella burnetii* was confirmed by Nested-PCR method.

***Results:*** In this study, in total, 26 samples (21.66%) were found to be positive for the presence of *Coxiella burnetii*.

***Conclusion:*** Considering the importance of the bacterium, *Coxiella burnetii*, rapid and accurate diagnosis is of great significance. Due to high accuracy and high speed, molecular techniques are mostly effective in the diagnosis. Thus, the localization of molecular techniques in the diagnosis of Q fever is highly recommended. The results indicated that Cattle's milk could be a potential reservoir of *Coxiella burnetii* in Iran.

***Keywords:*** Q Fever, *Coxiella burnetii*, Cattle milk, Bonab, Nested PCR

*Corresponding Author:
Address: Department of pathobiology, shahrekord Unviersity, Shahrekord, Iran.
Email: khademi@stu.sk u.ac.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک

سال ۱۸، شماره۴ (شماره پیاپی ۹۷)، تیر ۱۳۹۴، ۵۷-۴۹

# جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* (*Coxiella burnetii*) در شیر گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌های در شهرستان بناب، ایران

**پیمان خادمی[1*]، محمدرضا محزونیه[2]، محمود اسماعیلی کوتهمر[3]**

۱- کارشناسی ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۲- استاد، گروه پاتوبیولوژی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۳- کارشناسی ارشد بهداشت مواد غذایی و کنترل کیفی، گروه بهداشت مواد غذایی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

تاریخ دریافت: ۹۳/۹/۲۵ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۱/۸

**چکیده**

**زمینه و هدف:** تب کیو یک بیماری زئونوز و اندمیک در جهان با منشأ حیوانی است که به عنوان یک زئونوز نوپدید و باز پدید در بسیاری از کشورها، از جمله ایران مطرح است. گاو، گوسفند و بز عمده‌ترین مخازن این بیماری هستند. حیوانات آلوده، ارگانیسم را از طریق شیر دفع می‌کنند. این مطالعه با هدف تعیین میزان فراوانی کوکسیلا بورنتی در شیر خام گوسفند در شهرستان بناب انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه از پاییز تا زمستان ۱۳۹۳ انجام شد. در مجموع ۱۲۰ نمونه شیر از ۱۰۰ مجتمع پرورش گاو شیری جمع‌آوری شد و از نظر حضور *کوکسیلا بورنتی* به روش واکنش زنجیره پلی مراز آشیانه‌های مورد آزمایش قرار گرفت.

**یافته‌ها:** در این مطالعه، در مجموع ۲۶ نمونه از ۱۲۰ نمونه شیر(۲۱/۶۶ درصد) از نظر *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند.

**نتیجه‌گیری:** با توجه به اهمیت باکتری کوکسیلا بورنتی، تشخیص سریع و دقیق آن بسیار حائز اهمیت است. تکنیک‌های مولکولی به علت دقت بالا و سرعت زیاد در روند تشخیص می‌توانند بسیار موثر باشند. لذا بومی سازی تکنیک‌های مولکولی در کشور جهت تشخیص عامل تب کیو توصیه می‌شود. نتایج این پژوهش نشان داد که شیر گاو می‌تواند یکی از مخازن بالقوه کوکسیلا بورنتی در ایران باشد.

**واژگان کلیدی:** *تب کیو*، *کوکسیلا بورنتی*، شیر گاو، بناب، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌های

***نویسنده مسئول**: شهرکرد، دانشگاه شهرکرد، گروه پاتوبیولوژی

Email: khademi@stu.sku.ac.ir

**مقدمه**

نام تب کیو نخستین بار برای توصیف بیماری تب‌دار ناشناخته‌ای در کارگران بسته‌بندی گوشت در بریسبین استرالیا استفاده شد. عامل این بیماری از کارگران آلوده جدا شد و به عنوان ریکتزیا شناسایی گردید. تقریباً به طور هم‌زمان، این ارگانیسم از کنه‌های چوب در مونتانا جدا شد. به افتخار کوکس از آمریکا و بورنت از استرالیا که مطالعات اولیه‌ای روی این ارگانیسم انجام دادند، آن را *کوکسیلا بورنتی (Coxiella burnetii)* نامیدند(۱، ۲).

تب کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که از نواحی جغرافیایی مختلف با آب و هوای متفاوت گزارش شده است. عامل بیماری، یک میکروارگانیسم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل سلولی اجباری به نام *کوکسیلا بورنتی* است. *کوکسیلا بورنتی* می‌تواند انسان، دام‌های اهلی، حیوانات خانگی، وحشی و حشرات را آلوده نماید. از میان حیوانات اهلی، نشخوارکنندگانی چون بز، گوسفند و گاو مهم‌ترین مخازن *کوکسیلا بورنتی* در طبیعت محسوب می‌شوند(۳).

از بین حیوانات اهلی، گاوهای شیری، گوسفند و بز مهم‌ترین مخازن این باکتری هستند. رحم و غدد پستانی حیوان اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* به شمار می‌روند. حیوانات آلوده، میکروارگانیسم را به مقدار زیاد از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طول زایمان به محیط دفع می‌کنند(۶-۴).

یکی دیگر از مهم‌ترین راه‌های دفع *کوکسیلا بورنتی* به محیط، شیر دام‌های آلوده است. از این رو، مصرف شیر غیر پاستوریزه آلوده می‌تواند منبع آلودگی انسان باشد. این ارگانیسم در محیط به فرم شبه-اسپور تبدیل شده و به علت مقاومت به خشکی، حرارت و بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها قادر است برای مدت طولانی در محیط زنده بماند. *کوکسیلا بورنتی* در حیوانات آبستن معمولاً موجب سقط جنین در هفته آخر آبستنی می‌شود، ولی مرده‌زایی و تولد بره‌های زنده و ضعیف نیز به دنبال عفونت با آن دیده می‌شود. گزارشات حاکی از ناباروری گاوها به علت آلودگی با این میکروارگانیسم است. با این حال رخداد آن در گوسفند مورد مطالعه قرار نگرفته است(۷).

بیماری در انسان به دو شکل حاد و مزمن بروز می‌کند(۸).

علائم بیماری در انسان بسیار متغیر است و حدود ۶۰ درصد از افراد با تیتر سرمی مثبت، علائم بالینی مشخصی از خود بروز نمی‌دهند. تب کیو به شکل حاد به صورت بیماری انفلوانزا، پنومونی یا هپاتیت غیر واضح بروز می‌کند. بروز علائم این بیماری ناگهانی است و در واقع نوعی بیماری شغلی محسوب می‌شود و معمولاً در پرورش دهندگان حیوانات، شیردوشان، کارگران کشتارگاه‌ها، کارکنان واحدهای تولید شیر، شاغلین کارخانه‌های چرم، روغن و کود و یا افراد شاغل در آزمایشگاه مشاهده می‌شود(۹، ۱۰). مطالعات اولیه روی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای شیری بیشتر بر اساس آزمون‌های سرولوژیک بوده است و واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز به ندرت در تعداد کمی از مطالعات برای جستجوی این میکروارگانیسم بیماری‌زا استفاده شده است(۹).

با توجه به این که *کوکسیلابورنتی* قابلیت سرایت بسیار زیادی دارد، مقاومت آن نسبت به حرارت و خشک شدن در محیط خارج بالا است و قابلیت تبدیل به افشانه و انتقال از طریق استنشاق را دارد و حتی یک عدد از آن قادر به ایجاد بیماری‌زایی در افراد حساس است. لذا از نقطه نظر کارشناسان جنگ‌های بیولوژیک، جنگ افزار مناسبی به حساب می‌آید. در طبقه‌بندی سلاح‌های بیولوژیک، جزو ارگانیسم‌های گروه دوم طبقه بندی شده است که همگی معمولاً نسبتاً راحت انتشار می‌یابند(۱۰).

راه اصلی انتقال عامل بیماری به انسان از طریق استنشاق ریز قطره‌ها است و سایر راه‌ها شامل راه گوارشی، گزش کنه و یا موارد تصادفی در آزمایشگاه می‌باشد. با این وجود اهمیت آلودگی شیر گاوهای شیروار یک موضوع قابل بحث است که از مهم‌ترین راه‌های انتقال بیماری به انسان از راه گوارش محسوب می‌شود(۹، ۱۱، ۱۲).

استان آذربایجان شرقی به سبب داشتن مراتع نسبتاً غنی، یکی از مهم‌ترین مراکز دامداری کشور محسوب می‌شود و می‌توان آن را از بهترین مناطق ایران در زمینه تولید گوشت، پوست و پشم گوسفند به شمار آورد(۱۳).

## مواد و روش‌ها

### تعداد نمونه و روش نمونه‌گیری

### منطقه مورد مطالعه

شهرستان بناب در جنوب غربی استان آذربایجان شرقی و در جلگه‌ای صاف و هموار قرار گرفته که از طرف شرق به پیشکوه‌های غربی سهند (قزل داغ، قاشقاداغ و گوپشتی) و از غرب به سواحل پست دریاچه ارومیه محدود می‌گردد. ارتفاع متوسط شهرستان از سطح دریا ۱۶۰۰ متر است که در بلندترین نقطه (قزل داغ) ۲۲۵۰ متر و در پست‌ترین نقطه (آخوند قشلاق) ۱۲۸۰ متر می‌باشد. (تصویر ۱)(۱۳).

**تصویر ۱. مکان مورد مطالعه شهرستان بناب**

## مواد و روش جستجوی ژنومی

این مطالعه به صورت مقطعی – توصیفی در پاییز تا زمستان ۱۳۹۳ انجام شد. در این پژوهش، در مجموع ۱۲۰ نمونه شیر گاو از ۱۰۰ گاوداری سنتی شهرستان بناب در فصول پاییز و زمستان مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۶۰ نمونه در فصل پاییز و ۶۰ نمونه در فصل زمستان اخذ شد. ابتدا سرپستانک‌های هر دام به منظور نمونه‌گیری با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شدند. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها و حذف چربی از لایه‌ی رویی شیر، استخراج DNA از رسوب حاصل طبق دستور العمل سازنده‌ی کیت Gene All cell SV mini 250 P محصول شرکت بیونیر کره جنوبی صورت گرفت. DNA استخراج شده تا زمان انجام آزمون PCR، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری گردید.

به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر بز، از روش بری و همکاران استفاده شد(۹). برای بررسی حضور DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها، روش آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌های به کار گرفته شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *com*1 که کد کننده پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد، بر اساس روش مطالعه‌ی ژانگ و همکاران (۱۹۹۸) و فرتیز و همکاران (۲۰۰۷) بود(۱۱، ۱۴). برای انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز در مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر، ۲ میکرولیتر DNA الگو (۴ نانوگرم DNA الگو در هر واکنش)، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۱ میکرومول از هر پرایمر (پرایمرهای OMP1-OMP2) با غلظت ۱۰ پیکومول، ۰/۳ واحد آنزیم DNA پلی مراز Taq و ۱میکرلیتر مخلوط dNTP. همه مواد به داخل یک میکروتیوب ۰/۲ میلی لیتری منتقل شدند و پس از مخلوط کردن در دستگاه ترموسایکلر (شرکت علوم زیستی کاربردی، امریکا) قرار داده شدند. برنامه دمایی به صورت ذیل تنظیم گردید: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه؛ در ادامه مرحله نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت.

پرایمرهای OMP3 و OMP4 برای مرحله دوم واکنش زنجیره پلی‌مراز استفاده شدند. در این مرحله، همه شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهای واکنش زنجیره پلی‌مراز و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول اجرا شد. محصولات حاصل از واکنش مرحله دوم در ژل آگارز ۱ درصد حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با

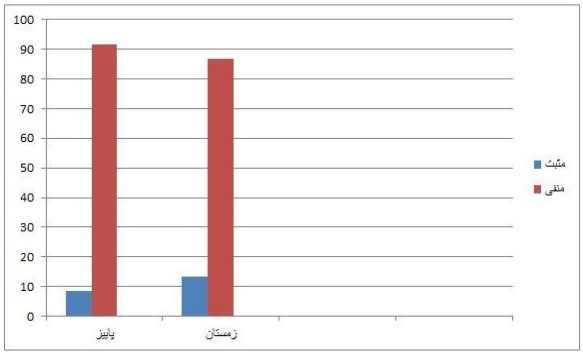
دستگاه تصویربرداری از ژل (UVitec، بریتانیا) مشاهده و بررسی شد. طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP3-OMP4,OMP1-OMP2 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز بود. در این بررسی، کنترل مثبت DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* استاندارد از کیت تشخیصی تجاری (K047, Genekam Biotechnology AG, Germany) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته شد که در آن به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه گردید. داده‌های حاصل به کمک نرم افزار SPSS نسخه ۱۹ نرم‌افزار و روش مجذور، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. سطح معنی‌داری برابر با $p<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

**جدول۱. پرایمرهای مورد استفاده در روش واکنش زنجیره پلی مراز آشیانه‌ای برای جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو(۱۵)**

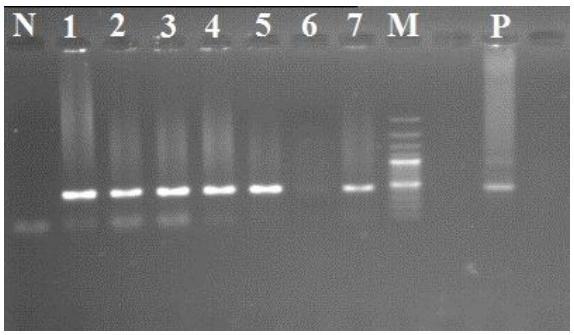
| اندازه قطعه (bp) | توالی پرایمر ۵´→۳´ | پرایمر | |
|---|---|---|---|
| ۵۰۱ | AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG | OMP1 | مرحله اول |
| | TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG | OMP2 | |
| ۴۳۸ | GAAGCGCAACAAGAAGAACAC | OMP3 | مرحله دوم |
| | TTGGAAGTTATCACGCAGTTG | OMP4 | |

## یافته ها

نتایج بررسی الکتروفورز محصولات مرحله دوم واکنش زنجیره پلی‌مراز در ژل آگاروز نشان داد که از مجموع ۱۲۰ نمونه شیر گاو، ۲۶ نمونه از نظر وجود توالی اختصاصی ژن *com1* در *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بودند. در نمونه‌های مثبت باند ۴۳۸ جفت بازی مشاهده شد (تصویر ۲). با توجه به جدول آمار توصیفی در مورد کل داده‌های گردآوری شده در فصول و مناطق مختلف مشاهده شد که ۲۱/۶۶ درصد نمونه‌ها مثبت و حدود ۷۸/۳۴ درصد آن‌ها منفی‌اند (درصد مثبت و منفی گله‌ها در فصول مختلف در تصویر ۲ آورده شده است). میزان آلودگی در بین نمونه‌های مثبت در فصل پاییز، ۱۰ عدد (۸/۳۳ درصد) و در بین نمونه‌های مثبت در فصل زمستان، ۱۶ عدد (۱۳/۳۳ درصد) بود. با توجه به نتایج به دست آمده، فصل بر روی میزان دفع باکتری تأثیر دارد. میزان آلودگی در فصل زمستان بیشتر از فصل پاییز بود.




**نمودار۱. درصد مثبت و منفی گله‌های مورد مطالعه در شهرستان بناب**




**تصویر۲. نتایج واکنش زنجیره پلی‌مراز آشیانه‌ای نمونه‌ها در ژل ۱ درصد: ستون N منفی، ستون‌های ۱.۲.۳.۴.۵: نمونه‌های مثبت (باند مورد نظر در این مرحله ۴۳۸ می‌باشد)، ستون۲: نمونه منفی، ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون P: کنترل مثبت *کوکسیلا بورنتی*.**

## بحث

تب کیو به عنوان یک زئونوز نوپدید و باز پدید در بسیاری از کشورها از جمله ایران مطرح است. تعیین میزان شیوع آلودگی و فاکتورهای خطر باعث می‌شود که اهمیت عفونت برای مسئولین بهداشتی نمایان گردد و امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیش‌گیری و نیز اولویت‌های پژوهشی مشخص شود(۱۵، ۱۶). مطالعه حاضر، نخستین مطالعه در شهرستان بناب می‌باشد. تعیین میزان شیوع بیماری و فاکتورهای خطر باعث می‌شود که اهمیت این بیماری در جمعیت، برای مسئولین بهداشتی نمایان گردیده و امکانات و تجهیزات لازم کنترل و پیش‌گیری و نیز اولویت‌های پژوهشی مشخص شود. مطالعه حاضر، نشان داد که *عفونت* کوکسیلوزیس در گاوهای شهرستان بناب وجود دارد و شیوع آن در گاو ۲۱/۶۶ درصد است.

نتایج مطالعات نشان می‌دهد که روش واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز تک مرحله‌ای جهت تشخیص *کوکسیلا بورنتی* دارای حساسیت کافی نمی‌باشد و پیشنهاد می‌شود که از روش واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز آشیانه‌های استفاده گردد. این روش نسبت به روش‌های کلاسیک از سرعت، دقت، اختصاصیت و حساسیت بالایی برخوردار است(۱۷).

برخی از مطالعاتی که داخل کشور و خارج از کشور صورت گرفته به شرح زیر می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط عباسی و همکاران در سال ۲۰۱۱ انجام گرفت. از بین ۲۹۶ نمونه شیر بز، ۱۲ نمونه (۴/۱ درصد) مثبت بود(۱۸). در سال ۲۰۱۲، آستوبیزا و همکاران در مطالعه‌ای روی ۱۷۸ گله در کشور اسپانیا، نشان دادند که ۱۱۹ گله از ۱۷۸ گله مورد مطالعه از نظر حضور آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند(۱۹). در سال ۱۳۹۲، در مطالعه سرولوژیک که توسط بروجنی و همکاران در اهواز روی گله‌های گوسفند صورت گرفت، درصد شیوع سرمی تب کیو ۱۳/۱۸ درصد اعلام شد(۱۶).

در سال ۲۰۱۲، دوستی و همکاران مطالعه‌ای روی ۱۳۰ نمونه خون شتر ایرانی بین ماه‌های اوت و سپتامبر ۲۰۱۱ انجام دادند. در این مطالعه، در مجموع ۱۴ مورد (۱۰/۷۶ درصد) نمونه خون شتر با روش واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز از لحاظ حضور *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند(۱). در سال ۲۰۱۲، گیورانیکز و همکاران مطالعه‌ای در کشور مجارستان روی ۲۱۵ نمونه تانک‌های شیر انجام دادند که ۶۶/۷ درصد از آن‌ها از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند(۵).

در مطالعه رحیمی و همکاران که در سال ۱۳۸۹ روی ۲۴۷ نمونه شیر گاو در اصفهان انجام شد، از بین ۲۴۷ نمونه، ۸ نمونه (۳/۲ درصد) از نظر وجود کوکسیلابورنتی مثبت بود. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف سال متفاوت بود. بالاترین میزان وقوع (۸/۶ درصد) در فصل زمستان مشاهده شد. در حالی که تمام ۶۵ نمونه تابستان از نظر شیوع این بیماری منفی بودند(۱۵). در سال ۲۰۱۲، رودکف و ریکا در مطالعه‌ای که در استرالیا انجام دادند، سقط جنین ناشی از *کوکسیلا بورنتی* را در ۱۰۰۰ رأس دام بزرگ تأیید کردند(۲۰). در سال ۲۰۱۳، در مطالعه دیگری که توسط لنگرودی و همکاران در استان قم اجرا شد، ۱۴ نمونه از مجموع ۱۰۰ نمونه شیر گاو (۱۴ درصد) مثبت بود. این نتایج فرضیه شیوع تب کیو در این استان را تقویت می‌کند(۲۱).

شاید دلیل شیوع بیشتر *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های اخذ شده از فصل زمستان، دفع این میکروارگانیسم بیماری‌زا از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شیر در زمان زایمان به محیط باشد. چون معمولاً تعداد زایمان در زمستان بیشتر از سایر فصول است. مدت زمان دفع *کوکسیلا بورنتی* در حیوانات اهلی از طریق شیر متفاوت می‌باشد (گاو ۱۳ ماه، بز و میش نیز به ترتیب ۵۲ و ۸ روز) که شاید این یکی دیگر از دلایل تفاوت در میزان آلودگی این مطالعه با مطالعات انجام شده دیگر باشد(۲۲).

در سال ۲۰۰۷، فریتز و همکاران میزان شیوع آلودگی شیر گاو در فصل زمستان را به مراتب بیشتر از سایر فصول گزارش نمودند(۱۱). در سال ۲۰۰۴، موتوهیکو و همکاران از مطالعه خود در کشور ژاپن که روی مقایسه میزان حساسیت دو روش واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز و واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز آشیانه‌های در تشخیص *کوکسیلا*

*بورنتی* انجام دادند، به این نتیجه رسیدند که روش واکنش زنجیره پلی‌مراز آشیانه‌ای ۱۰ برابر حساس‌تر از واکنش زنجیره‌ی پلی‌مراز می‌باشد(۲۳). در سال ۲۰۱۳، وان دن و همکاران در مطالعه‌ای که در کشور هلند روی ۳۶۰ نمونه شیر انجام دادند، ۵ مورد را از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت گزارش کردند(۲۴). مطالعات دیگر طیف‌های مختلفی از وجود *کوکسیلا بورنتی* را در شیر گزارش کرده‌اند. در کشور فرانسه ۸۳/۸ درصد، در کشور ژاپن ۵۳/۷ درصد و در کشور ترکیه ۱۴/۳ درصد مثبت گزارش شد(۸، ۲۵، ۲۶).

تفاوت مشاهده شده در میزان شیوع در نقاط مختلف جهان ممکن است به علت تفاوت در وضعیت آب و هوایی و مدیریتی، اندازه‌گله و روش نمونه‌گیری و حجم نمونه مورد بررسی باشد. با توجه به این که میزان سقط در مناطق مورد مطالعه بالا است، به نظر می‌رسد که *کوکسیلا بورنتی* می‌تواند به عنوان یکی از عوامل مسبب سقط در گاو و بز این مناطق مطرح باشد و پیشنهاد می‌شود که در تحقیق دیگری به جستجوی *کوکسیلا بورنتی* در جنین‌های سقط شده با روش واکنش زنجیره پلی‌مراز آشیانه‌های اقدام گردد.

مطالعات پراکنده انجام شده در ایران نشان می‌دهد که تب کیو، احتمالاً یک عفونت اندمیک در ایران است و نقش آن در تهدید سلامتی حیوانات و انسان به خاطر فراوانی موارد تحت بالینی و عدم تمایز موارد بالینی از بیماری‌هایی نظیر تب مالت و آنفلوانزا، بسیار دست کم گرفته شده است. در عفونت حاد، باکتری دارای پلاسمیدهای QPRH1 است و بیماری به صورت پنومونی آتیپیک بروز می‌کند. QPRH1 به فرم حاد بیماری مربوط است، این گروه به کلرامفنیکل و تتراسایکلین حساس هستند. در عفونت مزمن، باکتری دارای پلاسمیدهای QPRS است و بیماری به صورت اندوکاردیت مزمن و سال‌ها بعد بروز می‌کند. این گروه از پلاسمیدها به کلرامفنیکل و تتراسایکلین مقاوم هستند. یک گروه سوم فاقد پلاسمید وجود دارد که در ایجاد بیماری مزمن نقش دارند. از این رو تشخیص ژن‌های فرم حاد یا مزمن بیماری در بروز مقاومت‌های دارویی که امروزه از معضلات مهم پزشکی می‌باشد، بسیار اهمیت دارد(۲۷).

در عین حال، کنه‌های سخت به عنوان مخزن *کوکسیلا بورنتی* به حساب می‌آیند و استمرار حضور دراز مدت این میکروارگانیسم را در طبیعت به لحاظ انتقال از یک مرحله به مرحله دیگر رشد و از طریق تخم به نسل بعد، تضمین می‌کنند. در واقع، پاتوژن‌هایی از جمله *کوکسیلا بورنتی* ممکن است باعث آلودگی مرحله‌های مختلف فرآیند رشد کنه‌های ناقل در پی خون‌خواری شوند.

## نتیجه‌گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که شیوع عامل تب کیو در جمعیت گاوها نسبتاً قابل توجه است. بنابراین لازم است که دامپزشکان و سیاست گذاران بهداشتی این عامل را به عنوان یکی از عوامل مسبب سقط در بز مورد توجه قرار دهند. واکسیناسیون، عامل بسیار مهمی در پیش‌گیری و کنترل بیماری محسوب می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که گاوهای به ظاهر سالم، می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش داشته باشند. با این وجود، برای بررسی دقیق آلودگی، انجام مطالعات تکمیلی با تعداد نمونه بیشتر ضروری است. از طرفی، به منظور پیش‌گیری از انتشار عفونت در بین جمعیت‌های حیوانی و انسانی، کنترل کوکسلیوزیس در گله‌های بز از اهمیت بالایی برخوردار است. هم‌چنین، از آن جایی که *کوکسیلابورنتی* در حرارت ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه یا ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه از بین می‌رود، مصرف شیر پاستوریزه می‌تواند یکی از راه‌های موثر پیش‌گیری از آلودگی این باکتری در بین مصرف کنندگان باشد.

## تشکر و قدردانی

این پژوهش، بر گرفته از طرح دانشجویی است. مجریان طرح از مساعدت و همکاری دانشگاه شهرکرد و پژوهشکده بیماری مشترک انسان و دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد تقدیر و تشکر به عمل می‌آورند.

## منابع


1. Doosti A, Arshi A, Sadeghi M. Investigation of Coxiella burnetii in Iranian camels. Comparative Clinical Pathology. 2014; 23(1): 43-6.
2. Kim SG, Kim EH, Lafferty CJ, Dubovi E. Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. Emerg Infect Dis. 2005; 11(4): 619-21.
3. Waag DM. Coxiella burnetii: host and bacterial responses to infection. Vaccine. 2007; 25(42):7288-95.
4. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? Veterinary research. 2005; 36(3):327-49.
5. Gyuranecz M, Dénes B, Hornok S, Kovács P, Horváth G, Jurkovich V, et al. Prevalence of Coxiella burnetii in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2012; 12(8):650-3.
6. Roest H, Tilburg J, Van der Hoek W, Vellema P, Van Zijderveld F, Klaassen C, et al. The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. Epidemiology and Infection. 2011; 139(01):1-12.
7. Bildfell RJ, Thomson GW, Haines DM, McEwen BJ, Smart N. Coxiella burnetii infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation. 2000; 12(5):419-25.
8. Berri M, Laroucau K, Rodolakis A. The detection of Coxiella burnetii from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. Veterinary microbiology. 2000; 72(3):285-93.
9. Berri M, Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. PCR-based detection of Coxiella burnetii from clinical samples. PCR Detection of Microbial Pathogens: Springer; 2003. p. 153-61.
10. Whittick J. Necropsy findings in a case of Q fever in Britain. British medical journal. 1950; 1(4660): 979-81.
11. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various foodstuffs for occurrence of Coxiella burnetii in Switzerland. International journal of food microbiology. 2007; 116(3):414-8.
12. Guatteo R, Beaudeau F, Berri M, Rodolakis A, Joly A, Seegers H. Shedding routes of Coxiella burnetii in dairy cows: implications for detection and control. Veterinary research. 2006; 37(6): 827-33.
13. Bomyadi M, Dalili OS, Mayidi F. Determination of the number of lactic acid bacteria and yeast in the combination of yoghurt of Azarbayejan. Medical Labaratoty. 2012; 10(2): 65-66.
14. Zhang G, Nguyen SV, To H, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T, et al. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of Coxiella burnetii in human serum samples. Journal of clinical microbiology. 1998; 36(1): 77-80.
15. Rahimi E, Torki Baghbadorani Z, Doosti A. An assay to determine the Seasonal Prevalence of *Coxiella burnetii* in Cow Milk Using Nested PCR. *Journal of Microbial World*, 2010; 3(1): 56-62.
16. Borujeni PM, Gharibi D, Gouranejad S, Zamiri S. Seroprevalence of coxiellosis in Ahvaz Sheep. Iranian Veterinary Journal, 2013; 9(1): 11-8.
17. Zabihi R, Majidzadeh K, Hossein Mohseni M, Soleimani M. Review on the Laboratory diagnosis of Q-Fever. J Army Univ Med Sci, 2014; 11 (4) : 383-8.[Persian]
18. Abbasi S, Farzan R, Momtaz H. Molecular detection of Coxiella burnetii in goat bulk milk samples in some provinces of Iran. African Journal of Biotechnology. 2013; 10(80):18513-5.
19. Astobiza I, Ruiz-Fons F, Pinero A, Barandika J, Hurtado A, Garcia-Perez A. Estimation of Coxiella burnetii prevalence in dairy cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. Journal of dairy science. 2012; 95(4): 1632-8.
20. Reichel R, Mearns R, Brunton L, Jones R, Horigan M, Vipond R, et al. Description of a Coxiella burnetii abortion outbreak in a dairy goat herd, and associated serology, PCR and genotyping results. Research in veterinary science. 2012; 93(3):1217-24.

21. Ghalyanchi Langeroudi A, Babkhani N, Zolfaghari MR, Majidzadeh Arbadili K, Morovvati A, Soleimani M. Detection of Coxeilla brunetii in bulk tank milk samples from dairy bovine farms using nested-PCR in Qom, Iran, 2011. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 2013; 7(3):207-11.
22. Lockhart M. The detection of Coxiella burnetii (Q fever) in clinical and environmental samples: Murdoch University; 2010.
23. Ogawa M, Setiyono A, Sato K, Cai Y, Shiga S, Kishimoto T. Evaluation of PCR and nested PCR assays currently used for detection of Coxiella burnetii in Japan. Southeast Asian Journal of Tropical Medicine & Public Health. 2004; 35(4): 852-5.
24. Van den Brom R, van Engelen E, Vos J, Luttikholt S, Moll L, Roest H, et al. Detection of Coxiella burnetii in the bulk tank milk from a farm with vaccinated goats, by using a specific PCR technique. Small Ruminant Research. 2013; 110(2):150-4.
25. Maurin M, Raoult Df. Q fever. Clinical microbiology reviews. 1999; 12(4):518-53.
26. Ongör H, Cetinkaya B, Karahan M, Acik MN, Muz A, Bulut H. Detection of Coxiella burnetii by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in turkey. Veterinary record. 2004; 154(18): 570-2.
27. Zhang G, Hotta A, Mizutani M, Ho T, Yamaguchi T, Fukushi H, et al. Direct identification of Coxiella burnetii plasmids in human sera by nested PCR. Journal of clinical microbiology. 1998; 36(8): 2210-3.