JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره دوازدهم، شماره اول، ۱۳۹۵، پیاپی ۳۲: ۴۶-۳۷

بررسی سرمی و ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای شیری اهواز به روش الایزا و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز

مهدی پورمهدی بروجنی[1*]، داریوش غریبی[2]، مسعود قربانپور[3]، محمد رحیم حاجی حاجیکلائی[4]، زهرا علی پور[5]

۱- دانشیار گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۲- استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۳- استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۴- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

۵- دانش‌آموخته دکتری حرفه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۹ تیر ۱۳۹۳ *تاریخ پذیرش: ۳۰ خرداد ۱۳۹۴*

چکیده: *تب کیو یک بیماری زئونوز و عامل آن کوکسیلا بورنتی است. حیوانات اهلی مهمترین مخزن کوکسیلا هستند و از طریق شیر، ادرار، مدفوع و ترشحات تولید مثلی آن را دفع می‌کنند. آلودگی انسان و حیوانات عمدتاً از طریق استنشاق آئروسل‌ها می‌باشد. هدف از مطالعه حاضر تعیین شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر و سرم گاوهای شیری ارجاعی به بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران و همچنین ارتباط آن با تعیین‌کننده‌های میزبانی و مدیریتی بود. در این تحقیق نمونه‌های خون و شیر ۸۶ رأس گاو شیری جمع آوری گردید و سرم‌های تهیه شده به روش الایزا از نظر حضور آنتی‌بادی علیه کوکسیلا بورنتی و نمونه‌های شیر به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از نظر حضور کوکسیلا بورنتی آزمایش شدند. شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر و سرم به ترتیب ۴/۶۵٪ و ۳/۴۹٪ بود. رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد شانس آلودگی (نسبت شانس ۱/۱۷ و فاصله اطمینان ۹۵٪ ۱/۵۲ - ۰/۸۹) با افزایش سن افزایش می‌یابد ($P>0/05$) و سن ۳/۴٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کرد. شانس آلودگی گاوهای صنعتی ۲/۸۱ برابر سنتی (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۱۵/۰۲ - ۰/۵۳) بود ($P>0/05$) و مدیریت ۴/۱٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کرد. وضعیت باروری ۳/۸٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کرد و شانس آلودگی گاوهای نابارور ۳/۱۶ برابر گاوهای بارور (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۲۸/۳۷-۰/۳۵) بود ($P>0/05$). مطالعه حاضر وجود کوکسیلا بورنتی در شیر گاوها و ارتباط آن با ناباروری گاوها را اثبات نمود و بایستی اقدامات لازم جهت کنترل و پیشگیری مورد توجه قرار گیرد.*

کلمات کلیدی: *اپیدمیولوژی، تب کیو، کوکسیلا بورنتی، گاو شیری*

**نویسنده مسئول: مهدی پورمهدی بروجنی*

آدرس: گروه بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران. تلفن: ۳۳۳۳۰۰۷۳-۰۶۱

پست الکترونیک: pourmahdim@scu.ac.ir

مقدمه

تب کیو یک بیماری زئونوز با گسترش جهانی است که توسط باکتری کوکوباسیلی شکل پلی مورف، گرم منفی و داخل سلولی اجباری، به نام *کوکسیلا بورنتی* از خانواده ریکتزیاسه ایجاد می‌شود. *کوکسیلا بورنتی* جزء عوامل بیوتروریسم بوده که کشت و کار بر روی نمونه-های آلوده به آن بایستی در آزمایشگاه‌های با سطح ایمنی زیستی ۳ صورت گیرد. این میکروارگانیسم بر خلاف بسیاری از اجرام غیر هاگ‌دار در مقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر دمای بالا، خشکی و بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها مقاوم می‌باشد و دوز عفونت‌زایی پایینی دارد بطوری که ۱۰-۱ ذره باکتری باعث بیماری در انسان می‌شود (۲۶و۱۳،۱). مخازن تب کیو بسیار گسترده و شامل پستانداران اهلی و وحشی، پرندگان، ماهیان، خزندگان و بندپایان می‌باشد (۲۶). گاو، گوسفند و بز منبع اصلی بیماری برای انسان به شمار می‌روند (۱۳). بیماری در حیوانات بیشتر به شکل تحت بالینی است، اما نشانه بالینی اصلی در حیوانات، اختلالات تولیدمثلی نظیر سقط، مرده‌زایی و ناباروری می‌باشد (۱۴و۴). به دنبال عفونت، *کوکسیلا بورنتی* در بدن پستانداران ماده در رحم و غدد پستانی متمرکز می-شود و طی زایمان طبیعی یا سقط از طریق مایعات و پرده‌های جنینی و همچنین از طریق ادرار، شیر و مدفوع به محیط دفع می‌شود. انتقال عامل به انسان عمدتاً از طریق آئروسل‌های آلوده می‌باشد، اما ممکن است در اثر مصرف شیر خام یا محصولات لبنی آلوده هم اتفاق افتد. در انسان بیماری بصورت حاد و با علائمی شبیه به آنفلوآنزا و به شکل مزمن و با آندوکاردیت مشخص می‌شود، اما معمولاً بدون نشانه است (۱۴). تشخیص تب کیو از طریق روش‌های مستقیم نظیر رنگ آمیزی و مشاهده عامل بیماری، کشت و جداسازی و یا واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز و یا از طریق روش‌های غیر مستقیم نظیر میکروآگلوتیناسیون، آزمایش تثبیت عناصرمکمل، رادیوایمونواسی، ایمونوفلورسانس، الایزا و ایمونوبلاتینگ انجام می‌شود (۱۴و۱). از آنجایی که مطالعه‌ای در مورد شیوع این بیماری در گاو در استان خوزستان صورت نگرفته و نظر به اهمیت زئونوتیک بیماری و امکان انتقال آن از طریق شیر به انسان، هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* با استفاده از روش الایزا و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در گاوهای ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز و فاکتورهای تأثیر گذار آن می‌باشد تا با مشخص شدن شیوع بیماری، انجام برنامه کنترل بیماری در دستور کار قرار گیرد که این امر نیز به نوبه خود کنترل بیماری در جمعیت انسانی را بهمراه خواهد شد.

مواد و روش کار

در تحقیق حاضر از تعداد ۸۶ رأس گاو ماده ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران، نمونه‌های خون جهت استفاده در آزمایش الایزا و نمونه‌های شیر جهت بررسی به روش PCR اخذ گردید. نمونه خون کامل از طریق ورید وداج و پس از ضدعفونی محل بوسیله الکل و با استفاده از سرنگ تهیه گردید. همزمان با خونگیری، نمونه شیر گاوهای مورد بررسی، پس از دور ریختن چند دوشش اول به مقدار ۵ میلی لیتر در داخل لوله‌های آزمایش استریل اخذ گردید. مشخصات گاوها از نظر سن، وضعیت تولید مثلی و سیستم پرورش نیز ثبت گردید. نمونه‌های خون اخذ شده پس از تشکیل لخته با سرعت ۲۵۰۰g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند و سرم‌های جدا شده از آنها تا زمان انجام آزمایش الایزا در دمای $۲۰^{o}C$ - نگهداری شدند. کیت الایزای غیرمستقیم تشخیص بیماری تب

کیو طراحی شده در کشور فرانسه (ID Vet) بود که در آن از فاز I و II *کوکسیلا بورنتی* به عنوان آنتی‌ژن استفاده شده است و قادر به شناسایی آنتی بادی‌های ضد*کوکسیلا بورنتی* در سرم و پلاسمای انسان و گونه‌های مختلف حیوانات می‌باشد. مراحل انجام آزمایش الایزا طبق توصیه شرکت سازنده انجام گرفت. میزان جذب نوری کنترل‌های مثبت و منفی و نمونه‌های سرمی مورد آزمایش در طول موج ۴۵۰ nm توسط دستگاه قرائت‌کننده الایزا قرائت و ثبت گردید و مقادیر S/Pطبق فرمول زیر محاسبه گردید. نمونه‌هایی با S/P کمتر یا مساوی ۴۰٪ منفی، نمونه‌هایی با S/P بیشتر از ۴۰٪ و کمتر یا مساوی ۵۰٪ مشکوک و نمونه‌هایی با S/P بیشتر از ۵۰٪ مثبت تلقی گردید.

$$S/p = \frac{OD\ sample - OD\ negative\ control}{\text{OD positive control} - OD\ negative\ control} \times 100$$

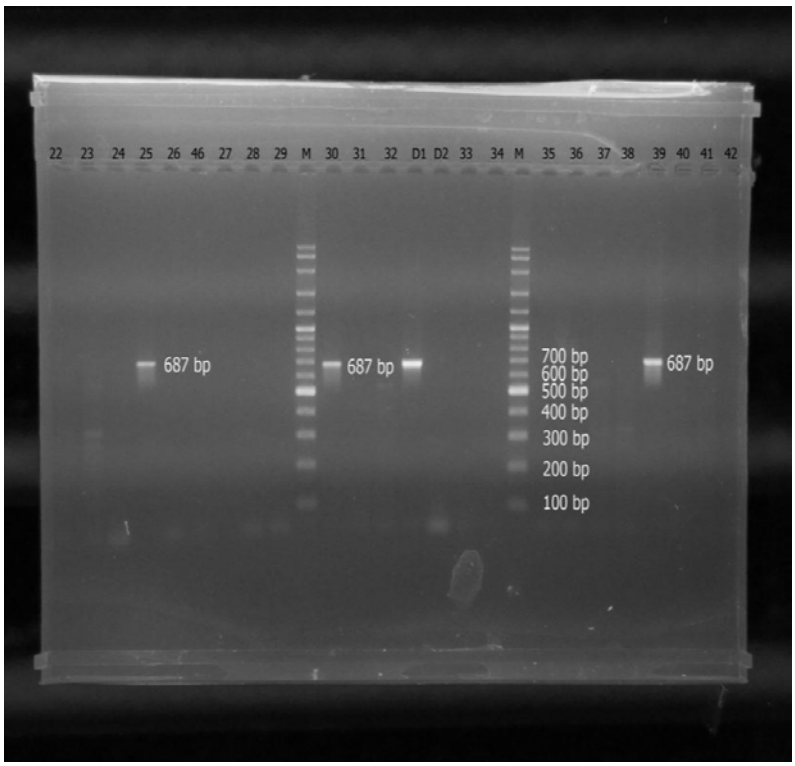
نمونه‌های شیر گرفته شده، در آزمایشگاه به داخل میکروتیوب‌های ۱/۵ ml استریل منتقل شدند و پس از کدگذاری تا زمان استخراج DNA در فریزر ۲۰°C- نگهداری گردیدند. جهت استخراج DNA به منظور استفاده در آزمون PCR، نمونه‌های شیر از فریزر خارج و تا زمان ذوب شدن و یکسان شدن دمای آنها با دمای محیط، در محیط آزمایشگاه قرار گرفتند. سپس نمونه-های شیر با دور g ۱۳۰۰۰ و به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفوژ شدند، مایع رویی و خامه‌ی اطراف میکروتیوب دور ریخته شد و رسوب حاصل ۳ بار بوسیله آب مقطر استریل و با همان شرایط قبل شستشو داده شد. استخراج DNA رسوب‌های نمونه‌های شیر بدست آمده با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت اینترون کره جنوبی طبق دستورالعمل آن و با کمی تغییرات انجام گردید. آزمایش زنجیره‌ای پلی‌مراز با استفاده از کیت (Ready to use Coxiella brunettii kit) شرکت Genekam آلمان و طبق دستورالعمل آن انجام شد. این کیت یک کیت آماده مصرف می‌باشد که ژن مربوط به RNA ریبوزومی (rRNA) *کوکسیلا بورنتی* را افزوده‌سازی می‌کند و قادر به شناسایی *کوکسیلا بورنتی* در یک مرحله می‌باشد. داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ بطور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به منظور تحلیل داده‌ها از آزمون مربع کای، رگرسیون لاجستیک و تحلیل همبستگی استفاده گردید. α=۰/۰۵ به عنوان سطح معنی‌دار آماری مد نظر قرار گرفت.

نتایج

میانگین و انحراف معیار سن گاوهای تحت مطالعه به ترتیب ۵/۹ و ۲/۷ سال بود. شیوه نگهداری گاوها در ۷۲/۱٪ موارد بصورت سنتی و مابقی صنعتی بود و ۶۲/۸٪ گاوها نابارور بودند. نتایج حاصل از آزمایش PCR بر روی DNA استخراج شده از نمونه‌های شیر گاوهای تحت مطالعه در شکل ۱ ارائه گردیده است. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر به روش واکنش زنجیره ای پلی‌مراز ۴/۶۵٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۹/۱٪-۰/۲٪) بود. شیوع سرمی تب کیو به روش الایزا ۳/۴۹٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۷/۳۷٪-۰٪) بود. شیوع کلی تب کیو با دو روش تشخیصی ۶/۸۲٪ (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۱۲/۱۲٪-۱/۵٪) بود. در جدول شماره ۱ نتایج دو کیت تشخیصی ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد که در ۹۴/۲٪ از موارد مثبت و منفی توافق وجود دارد و در ۳ مورد از مواردی که آزمون PCR مثبت شده است سطح S/P حدود ۲۰٪ بود و در دو موردی که آزمون الایزا مثبت و آزمون PCR منفی شده بود سطح S/P بین ۶۰-۵۰٪ بود. تنها در یک مورد که سطح S/P بیشتر از ۸۰٪ (مثبت قوی) بود آزمون PCR نیز مثبت گردید.

به منظور تعیین نقش فاکتورهای میزبانی و مدیریتی از رگرسیون لاجستیک استفاده گردید و در صورتی که یک گاو در آزمایش الایزا، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز و یا هر دو مثبت بود بعنوان مورد مثبت در رگرسیون لاجستیک لحاظ گردید. رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی بین سن برحسب سال و بیماری ۱/۱۷ (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۱/۵۲– ۰/۸۹) است($P>0/05$) و با افزایش ۱ سال شانس آلودگی ۱۷٪ افزایش می‌یابد. سن ۳/۴٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. ضریب همبستگی اسپیرمن نشان داد که یک ارتباط ضعیف مستقیم بین سن و مقادیر S/P وجود دارد($r_{sp}=0/17$ و $P>0/05$).

در جدول شماره ۲ توزیع فراوانی موارد سرمی مثبت به تفکیک نوع پرورش ارائه گردیده است بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی موارد مثبت در پرورش صنعتی بیشتر از سنتی است، اما این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد ($P>0/05$). در جدول شماره ۳ توزیع فراوانی موارد مثبت *کوکسیلا* در شیر به تفکیک نوع پرورش ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراونی نسبی موارد مثبت در پرورش سنتی و صنعتی به ترتیب ۱/۶٪ و ۱۲/۵٪ است. شانس آلودگی گاوهای صنعتی ۲/۸۱ برابر گاوهای سنتی (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۱۵/۰۲– ۰/۵۳) است ($P>0/05$) و وضعیت پرورش ۴/۱ ٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.



شکل ۱- نتایج حاصل از آزمون PCR بر روی DNA استخراج شده از نمونه‌های شیر گاوهای مورد مطالعه. گوده‌های شماره ۲۵، ۳۰ و ۳۹ تعدادی از نمونه‌های مثبت در این تحقیق بودند. گوده D1 کنترل مثبت کیت، گوده D2 کنترل منفی کیت و گوده M مارکر مولکولی bp ۱۰۰ می‌باشند.

در جدول شماره ۴ توزیع فراوانی موارد مثبت *کوکسیلا* در شیر به تفکیک وضعیت باروری ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در گاوهای بارور و نابارور به ترتیب صفر و ۱۶/۷٪ است. در جدول شماره ۵ توزیع فراوانی موارد سرمی مثبت به تفکیک وضعیت باروری ارائه گردیده است. این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در گاوهای نابارور بیشتر از بارور است اگرچه این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد($P>0/05$). رگرسیون لاجستیک تک متغیره نشان داد که شانس آلودگی گاوان نابارور ۳/۱۶ برابر گاوان بارور (فاصله اطمینان ۹۵٪ ۲۸/۳۷- ۰/۳۵) است($P>0/05$) و وضعیت باروری ۳/۸ ٪ از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند.

جدول ۱- توزیع فراوانی موارد مثبت و منفی به تفکیک آزمایش الایزا و PCR

ELISA / PCR	مثبت	منفی	جمع
مثبت	۱	۳	۴
منفی	۲	۸۰	۸۲
جمع	۳	۸۳	۸۶

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی تب کیو به تفکیک پرورش

فراوانی	مثبت		منفی		جمع	
پرورش	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
سنتی	۲	۳/۲	۶۰	۹۶/۸	۶۲	۷۲/۱
صنعتی	۱	۴/۲	۲۳	۹۵/۸	۲۴	۲۷/۹
جمع	۳	۳/۴۹	۸۳	۹۶/۵۱	۸۶	۱۰۰

جدول ۳- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد مثبت و منفی *کوکسیلا بورنتی* در شیر در روش PCR به تفکیک پرورش

فراوانی	مثبت		منفی		جمع	
پرورش	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
سنتی	۱	۱/۶	۶۱	۹۸/۴	۶۲	۷۲/۱
صنعتی	۳	۱۲/۵	۲۱	۸۷/۵	۲۴	۲۷/۹
جمع	۴	۴/۶۵	۸۲	۹۵/۳۵	۸۶	۱۰۰

جدول ۴- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد مثبت و منفی *کوکسیلا بورنتی* در شیر در روش PCR به تفکیک وضعیت باروری

فراوانی	مثبت		منفی		جمع	
وضعیت تولید مثل	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
بارور	۰	۰	۳۲	۱۰۰	۳۲	۳۷/۲
نابارور	۴	۷/۴	۵۰	۹۲/۶	۵۴	۶۲/۸
جمع	۴	۴/۶۵	۸۲	۹۵/۳۵	۸۶	۱۰۰

جدول ۵- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی تب کیو به تفکیک وضعیت باروری

فراوانی	مثبت		منفی		جمع	
وضعیت تولید مثل	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
بارور	۱	۳/۱	۳۱	۹۶/۹	۳۲	۳۷/۲
نابارور	۲	۳/۷	۵۲	۹۶/۳	۵۴	۶۲/۸
جمع	۳	۳/۴۹	۸۳	۹۶/۵۱	۸۶	۱۰۰

بحث

تب کیو بعنوان یک زئونوز نوپدید و بازپدید در بسیاری از کشورها مانند ایران مطرح است. اگرچه این بیماری جنبه شغلی داشته و در افراد در تماس با حیوانات و محصولات آنها فراوانی بیشتری دارد، اما با توجه به مقاومت بالا در محیط و انتقال هوابرد آن امکان

آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد و امروزه به عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان بصورت طبیعی و غیر طبیعی مطرح می‌باشد. این بررسی نشان داد که شیوع کلی تب کیو در گاوهای شیری ۶/۸۲٪ و شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر به روش PCR ۴/۶۵٪ و شیوع سرمی به روش الایزا ۳/۴۹٪ است. در بررسی مشابه انجام گرفته در کرمان، میزان شیوع سرمی تب کیو در ۹۳ رأس گاوهای شیری ۱۰/۷۵٪ ارائه گردیده است که از مطالعه حاضر بیشتر می‌باشد (۹). Khalili و همکاران در سال ۲۰۱۱ شیوع را در شیر تانک ۴۴ گاوداری در کرمان به روش الیزا ۴۵/۴٪ و Ghalyanchi Langeroudi و همکاران در سال ۲۰۱۳ در شیر تانک ۱۰۰ گاوداری در استان قم به روش nested PCR ۱۴٪ گزارش نمودند (۶ و ۱۰). اختلاف مشاهده شده ممکن است به علت متفاوت بودن شرایط آب و هوایی دو منطقه باشد. با توجه به این که انتقال عمده موارد تب کیو از طریق آئروسل‌های آلوده انجام می‌گیرد و شرایط آب و هوایی خشک نظیر کرمان و قم باعث می‌شود که این آئروسل‌ها بعلت از دست دادن آب و سبک شدن برای مدت طولانی در هوا معلق و مسافت طولانی طی کنند و موجب آلودگی شوند. این در حالی می‌باشد که شرایط آب و هوایی اهواز و وجود رطوبت بالا، باعث جذب آب بوسیله آئروسل‌ها و رسوب سریع آنها می‌شود (۱۷). ضمناً در مطالعه حاضر نمونه‌گیری از گاوهای سنتی و صنعتی انجام گرفته است و مسلماً در گاوداری صنعتی با توجه به تراکم بالا امکان انتقال کوکسیلا از گاو آلوده به سایر گاوها بسیار بالا می‌رود این در حالی است که در بررسی انجام شده در کرمان و قم از شیر تانک گله گاو شیری نمونه‌گیری انجام شده است. البته بایستی به نقش مدیریت و وضعیت محل نگهداری روی میزان شیوع نیز توجه داشت (۲۴). مطابق با بررسی حاضر McQuiston و Childsدر سال ۲۰۰۲ در آمریکا شیوع آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* در گاو را ۳/۴٪ گزارش نمودند (۱۵). در بررسی Cekani و همکاران در سال ۲۰۰۸ در آلبانی شیوع سرمی تب کیو در گاو به روش الایزا ۷/۹ ٪ گزارش گردیده است (۵). شیوع سرمی به روش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم در گله‌های گاو شیری کره جنوبی، قبرس و آفریقای مرکزی به ترتیب ۲۵/۶٪، ۲۴٪ و ۱۴/۳٪ گزارش شده است (۲۱و۱۷،۱۱). تفاوت‌های مشاهده شده در میزان شیوع در کشورهای مختلف ممکن است به علت تفاوت در شرایط آب و هوایی، پرورش، روش تشخیصی و حجم نمونه باشد.

Banazis و همکاران در سال ۲۰۱۰ شیوع سرمی تب کیو در گاو به روش الایزا را در استرالیا ۰/۶۱٪ گزارش نمودند. آنها در بررسی مدفوع و ادرار گاوها به روش qPCR به ترتیب شیوع ۴/۳٪ و ۳/۶٪ را گزارش نمودند که این اختلاف شیوع مشاهده شده ممکن است به علت حساسیت بیشتر روش PCR نسبت به الایزا باشد (۲) همچنین مشخص شده است که *کوکسیلا بورنتی* در روده، پستان، کلیه و رحم حیوان جایگزین و از طریق ادرار، مدفوع، ترشحات رحمی و شیر دفع می‌شود بدون اینکه پاسخ آنتی بادی قابل ردیابی وجود داشته باشد(۳ و ۱۸). عفونت با *کوکسیلا بورنتی* در گاو معمولاً بدون علامت است، اما می‌تواند با اختلالات تولید مثلی نظیر سقط، مرده‌زایی، جفت‌ماندگی، متریت، ناباروری و ورم پستان همراه شود. در بررسی حاضر نیز ۸۳/۳ ٪ موارد مثبت مربوط به گاوهای نابارور و شانس آلودگی در گاوهای نابارور بیش از ۳ برابر گاوهای بارور بود و شیوع *کوکسیلا* در شیر گاوهای بارور و نابارور به ترتیب صفر و ۷/۴ ٪ بود. این یافته با مطالعه انجام گرفته در کرمان هماهنگی دارد و بنظر

می‌رسد *کوکسیلا بورنتی* در اختلالات تولید مثلی گاوهای منطقه نقش بسزایی داشته باشد (۹). در مطالعات انجام شده در ژاپن شیوع سرمی تب کیو در گاوهای مبتلا به اختلالات تولید مثلی ۸۴/۳٪، ۷۸/۹٪ و ۶۰/۴٪ و در گاوهای سالم ۲۹/۲٪، ۴۶/۶٪، ۲۵/۴٪ گزارش گردیده است (۲۰). Cabassi و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که شیوع سرمی تب کیو در گاوان سقطی نسبت به غیر سقطی بطور معنی‌داری بیشتر و به ترتیب ۴۴/۹٪ و ۲۲٪ است و بیشتر نمونه‌های سرمی مثبت مربوط به گاوهای سقط کرده در اواخر آبستنی می‌باشد (۴). Seyitoglu و همکاران در سال ۲۰۰۶ در ترکیه نشان دادند که شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای با و بدون تاریخچه سقط جنین ۲۲/۶٪ و ۵/۶٪ است (۲۳). Hirai و To در سال ۱۹۹۸ در ژاپن شیوع سرمی آنتی‌بادی علیه *کوکسیلا بورنتی* را در گاوهای سالم ۴۶-۲ ٪ و در گاوهایی با مشکلات تولید مثلی ۸۴-۶۰ ٪ گزارش نمودند (۸). Literak و Kroupa در سال ۱۹۹۸ نشان دادند ارتباط معنی‌داری میان شیوع سرمی تب کیو و وضعیت تولید مثلی گاو نظیر میزان آبستنی در اولین تلقیح، تعداد تلقیح برای آبستنی و مدت بین زایمان و آبستنی بعدی وجود ندارد (۱۲). Muskens و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز نشان دادند که ارتباطی بین متریت و *کوکسیلا بورنتی* وجود ندارد (۱۶). بررسی Hansen و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی ۱۷۰ کوتیلدون جدا شده از گاوهای شیری به روش real-time PCR، الایزا و بافت شناسی نشان داد جفت-های آلوده در روش PCR مربوط به گله‌هایی است که سطح آنتی‌بادی تانک شیر آنها نیز بالا می‌باشد و با آزمایشات بافتی نیز نشان دادند که آلودگی *کوکسیلا بورنتی* منجر به تغییرات کوتیلدونی ملایمی می‌شود که تنها با التهاب جفت همراه است (۷). Vaidya و همکاران در سال ۲۰۱۰ در هند با روش‌های ایمنوفلورسانس غیر مستقیم، الایزا، Trans-PCR، real-time PCR و روش کشت حضور *کوکسیلا بورنتی* را در نمونه‌های مدفوع و ترشحات واژن، شیر، ادرار و سرم گاوهای دچار اختلالات تناسلی بررسی نمودند و نشان دادند که بطور کلی ۱۲/۷۸٪ گاوها مثبت هستند. روش Trans-PCR و real-time PCR نشان داد از ۷۴ نمونه شیر بررسی شده، ۷ (۹/۵٪) نمونه مثبت است (۲۵).

بررسی حاضر نشان داد که *کوکسیلا* می‌تواند بصورت مزمن در پستان گاو قرار گیرد و بدون وجود پاسخ آنتی‌بادی از طریق شیر دفع شود. Rodolakis و همکاران در سال ۲۰۰۷ با روش PCR حضور *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر را مورد بررسی قرار دادند و حضور *کوکسیلا بورنتی* تا ماه‌ها بعد از زایمان در شیر را ثابت نمودند در حالی که گاوها بدون علامت بودند. بررسی نمونه‌های مدفوعی و مهبلی گاوها برای حضور *کوکسیلا بورنتی* با PCR نیز نشان داد که گاوها بیشتر از طریق شیر باکتری را دفع می‌کنند و در موارد کمی باکتری در نمونه‌های واژنی و مدفوعی حضور دارد (۲۲). در بررسی حاضر شیوع تب کیو با افزایش سن بیشتر می‌گردید. Taurel و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز گزارش نمودند شیوع سرمی آنتی‌بادی در گاوهای یک بار زایمان کرده بسیار کمتر از گاوهای چند بار زایمان کرده است (۲۴).

بررسی حاضر و بررسی انجام گرفته در گوسفند نشان داد که در این منطقه آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* وجود دارد و بعنوان یک عامل ناباروری در گاوها و سقط جنین در گوسفند می‌تواند مطرح باشد و گاو باکتری را از راه شیر حتی بدون داشتن پاسخ سرمی دفع می‌کند و سلامت انسان را به خطر می‌اندازد(۱۹).

بنابراین پیشنهاد می‌شود که اقدامات کنترلی نظیر واکسیناسیون افراد در معرض خطر و دام‌ها، پاستوریزاسیون شیر و آگاه نمودن مردم از چگونگی انتقال، عوارض بیماری و پیشگیری مد نظر قرار بگیرد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز بخاطر تأمین هزینه اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

1. Angelakis, E., Raoult, D. (2010). Q fever. *Veterinary Microbiology* 140: 297-309.
2. Banazis, M.J., Bestall, A.S., Reid, S.A., Fenwick, S.G. (2010). A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of Coxiella burnetii. *Veterinary Microbiology* **143**: 337-45.
3. Berri, M., Souriau, A., Crosby, M., Rodolakis, A. (2002). Shedding of *Coxiella burnetti* in ewes in two pregnacies following an episode of *Coxiella* abortion in a sheep flock. *Veterinary Microbiology* **85**: 55-60.
4. Cabassi, C.S., Taddei, S., Donofrio, G., Ghadini, F., Piancastelli, C., Flammini, C.F., Cavirani, S. (2006). Association between *Coxiella burneti* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northen Italy. *New microbiology* **29**: 211-4.
5. Cekani, M., Papa, A., Kota, M., Velo, E., Berxholi, K. (2008). Report of a serological study of *Coxiella burnetii* in domestic animals in Albania. *The Veterinary Journal* **175**: 276-8.
6. Ghalyanchi Langeroudi, A., Raees Babakhani, N., Zolfaghari, M.R., Majidzadeh, K.A., Morovvati, A., Soleimani, M. (2013). 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* **7**: 207-11.
7. Hansen, M.S., Rodolakis, A., Cochonneau, D., Agger, J.F., Christoffersen, A.B., Jensen, T.K., Agerholm, J.S. (2011). *Coxiella burnetii* associated placental lesions and infection level in parturient cows. *The Veterinary Journal* **190**: 135-9.
8. Hirai, K., To, H. (1998). Advances in the understanding of *Coxiella* in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science* **60**: 781-90.
9. Khalili, M., Sakhaee, E. (2009). An update on a serologic survey of Q fever in domestic animals in Iran. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygien.* **80**: 1031-2.
10. Khalili, M., Sakhaee, E., Aflatoonian, M.R., Shahabi-Nejad, N. (2011). Herd-prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) antibodies in dairy cattle farms based on bulk tank milk analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine* **4**: 58-60.
11. Kim. J.W., Hahn, T.W., Kim, D.Y. (2006). Seropervalennce of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle and non-symptomatic people for routine Health screening in Korea. *Journal of Korean Medical Science* **21**: 823-6.
12. Literak, I., Kroupa, L. (1998). Herd-level *Coxiella burnetii* seroprevalence was not associated with herd-level breeding performance in Czech dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine* **33**: 261-5.
13. Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Chessa, G., Cillara, G., Chisu, V., Tola, S. (2004). Occurrence, distribution, and role in abortion of *Coxiella burnetii* in sheep and goats in Sardinia, Italy. *Veterinary Microbiology* **99**: 301-5.
14. Maurin, M., Raoult, D. (1999). Q fever. *Clinical Microbiology Review* **12**: 518-53.
15. McQuiston, J.H., Childs, J.E. (2002). Q fever in human and animals in United States. *Vector Borne and Zoonotic Disease* **2**: 179-91.
16. Muskens, J., maanen, C.V., Mars, M.H. (2011). Dairy cows with metritis: *Coxiella burnetii* test results in uterine, blood and bulk milk samples. *Veterinary Microbiology* **147**: 186-9.
17. Nakoune, E., Debaere, O., Koumanda-Kotogne, F., Selekon, B., Samory, F., Talarmin, A. (2004). Serological surveillance of brucellosis and Q fever in cattle in the Central African Republic. *Acta Tropica* **92**: 147-51.
18. Perugini, A.G., Capuano, F., Esposito, A., Marianelli, C., Martucciello, A., Iovane, G.,

Galiero, G. (2009). Detection of *Coxiella burnetii* in buffaloes aborted fetuses by IS111 DNA amplification: A preliminary report. *Research in Veterinary Science* **87**: 189-91.

19. Pourmahdi Borujeni, M., Gharibi, D., Gouraninejad, S., Zamiri, S. (2013). Seroprevalence of coxiellosis in Ahvaz sheep. *Iranian Veterinary Journal* **9**: 11-8.
20. Porter, S.R., Czaplicki, G., Mainil, J., Horii, Y., Misawa, N., Saegerman, C. (2011). Q fever in Japan: An update review. *Veterinary Microbiology* **149**: 298-306.
21. Psaroulaki, A., Hadjichistodoulou, G., Loukaides, F., Tselentis, Y. (2006). Epidemiological study of Q fever in humans, ruminant animals and ticks in Cyprus using a geographical information system. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* **25**: 575-86.
22. Rodolakis, A., Berri, M., Hechard, C., Caudron, C., Sourian, A. (2007). Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovines, caprine and ovine herd. *Journal of Dairy Science* **90**: 5352-60.
23. Seyitoglu, S., Ozkurt, Z., Dinler, U., Okumus, B. (2006). The Seroprevalence of coxiellosis in Farmers and Cattle in Erzurum District in Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences* **30**: 71-5.
24. Taurel, A.F., Guatteo, R., Joly, A., Seegers, H., Beaudeau, F. (2011). Seroprevalence of Q fever in naturally infected dairy cattle herds. *Preventive Veterinary Medicine* **101**: 51-7.
25. Vaidya, V.M., Malik, S.V.S., Bhilegaonkar, K.N., Rathore, R.S., Kaur, S., Barbuddhe, S.B. (2010). Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases* **33**: 307-21.
26. Woldehiwet, Z. (2004). Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. *Research in Veterinary Science* **77**: 93-100.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 12, Issue 1, 2016

Serological Survey and Detection of *Coxiella burnetii* in Dairy Cattle of Ahvaz by ELISA and PCR

Pourmahdi Borujeni, M.*[1], Gharibi, D.[2], Ghorbanpour, M.[3], Haji Hajikolaei, M.R.[4], Alipour, Z.[5]

1. Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahcaz, Ahvaz, Iran
3. Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4. Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
5. Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received Date: 30 June 2014 *Accepted Date: 20 June 2015*

Abstract: *Q fever is a widespread zoonosis caused by Coxiella burnetii. Domestic animals are the most important reservoirs of C. burnetii, which is exerted in the milk, urine, feces and reproductive discharge of infected animals. Inhalation of bacteria is the main route of animal and human infection. The aim of this study was to survey prevalence of C. burnetii in serum and milk of referred cows to veterinary hospital of Shahid Chamran university and correlation of this organism with host and management determinants. Milk and serum samples from 86 cows were collected and were examined by PCR and ELISA assay, respectively. Prevalence of Q fever in milk and serum samples was 4.65% and 3.49%, respectively. Logistic regression showed that the odds of infection was increased with increase of age (OR: 1.17 and 95% CI: 0.89-1.52, P>0.05) and 3.4% of fluctuation of infection was justified by age. Odds of infection in industrial husbandry than traditional was 2.81(95% CI: 0.53-15.02, P>0.05) and 4.1% of fluctuation of infection was justified by husbandry. 3.8% of fluctuation of infection was justified by fertility status and odds of infection in cows with infertility than healthy was 3.16 (95% CI: 0.35-28.37, P>0.05). The result showed excretion of C. burnetii in milk and the fact that bacteria is in correlation with infertility in cows. Thus efforts must be taken to control and prevent Q- fever.*

Keywords: *Epidemiology; Q fever; Coxiella burnetii; Cow*

**Corresponding author: Pourmahdi Borujeni, M.*
Address: Department of food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
Tel: 061-33330073
E-mail: Pourmahdim@scu.ac.ir