مجله دنیای میکروب ها
سال سوم، شماره اول (پیاپی ۶)، بهار ۱۳۸۹
صفحات ۶۲-۵۶

Original Article

مطالعه شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر گاو به روش واکنش زنجیره ای پلی‌مراز آشیانه‌ای در استان اصفهان

دکتر ابراهیم رحیمی*[1]، زینب ترکی باغبادرانی[2]، دکتر عباس دوستی[3]

[1]دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، [2]کارشناس، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه تغذیه
[3]استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

چکیده

سابقه و هدف: تب کیو یک بیماری مشترک انسان و دام با انتشار جهانی است که توسط یک ریکتزیای اجباری داخل سلولی به نام کوکسیلا بورنتی ایجاد می‌شود. این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر خام جمع‌آوری شده از گاوهای شیری در اصفهان انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه به صورت مقطعی ـ توصیفی از دی ماه ۱۳۸۷تا دی ماه ۱۳۸۸ انجام شد. در مجموع ۲۴۷ نمونه شیر از ۹۰ مجتمع پرورش گاو شیری جمع‌آوری و از نظر حضور کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested PCR) مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته ها: در این مطالعه در مجموع ۸ نمونه از ۲۴۷ نمونه (۳/۲ درصد) از نظر کوکسیلا بورنتی مثبت بود. شیوع کوسیلا بورنتی در فصول مختلف سال متفاوت بود. بالاترین میزان وقوع (۸/۶ درصد) در فصل زمستان مشاهده شد در حالی که تمام ۶۵ نمونه شیر مربوط به فصل تابستان منفی بودند.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که شیر گاو می‌تواند یکی از مخازن بالقوه کوکسیلا بورنتی در ایران باشد.

واژگان کلیدی: کوکسیلا بورنتی، شیر گاو، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه ای

دریافت مقاله: دی ۸۸ پذیرش برای چاپ: اسفند ۸۸

مقدمه

تب‌کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که در نواحی جغرافیایی و آب و هوای متفاوت گزارش شده است. عامل بیماری یک میکروارگانیسم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل سلولی اجباری به نام کوکسیلا بورنتی (*Coxiella burnetii*) می‌باشد که طیف وسیعی از حیوانات از قبیل گاو، گوسفند، بز، سگ، گربه، پریمات‌های غیرانسانی، خزندگان، دوزیستان، پرندگان (اهلی و وحشی)، ماهی و تعداد زیادی از کنه‌ها را می‌تواند آلوده کند (۱ و ۲). از بین حیوانات اهلی، گاوهای شیری، گوسفند و بز بزرگ‌ترین مخازن این باکتری هستند. رحم و غدد پستانی حیوان اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با کوکسیلا بورنتی

*) آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی.
تلفن: ۰۹۱۳۳۲۷۸۳۷، نمابر: ۶۲۵۹۸۰۹-۰۳۱۱،
پست الکترونیک: ebrahimrahimi55@yahoo.com

هستند. حیوانات آلوده این میکروارگانیسم را از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طی زایمان، به میزان زیاد به محیط دفع می‌کنند. یکی دیگر از مهم‌ترین راه‌های دفع کوکسیلا بورنتی به محیط شیر دام‌های آلوده می‌باشد (۵-۳). از این رو مصرف شیر غیرپاستوریزه آلوده منبع انتقال عفونت به انسان است (۵ و ۶). این ارگانیسم در محیط به فرم شبه-اسپور تبدیل شده و به علت مقاومت به خشکی، حرارت و بسیاری از ضدعفونی کننده ها، قادر است برای مدت طولانی در محیط زنده بماند (۷). بیماری در حیوانات فاقد علائم بالینی واضح است. اما با این وجود سقط جنین، تولد نوزاد نارس و ناباروری از مهم‌ترین عوارض بیماری است که در بین حیوانات اهلی گزارش شده است (۸ و ۹). علائم بیماری در انسان بسیار متغییر است و حدود ۶۰ درصد از افراد با تیتر سرمی مثبت علائم بالینی مشخصی از خود بروز نمی‌دهند (۶). تب کیو حاد به صورت بیماری آنفلوآنزا، پنومونی یا هپاتیت غیرواضح بروز می‌کند. این بیماری وقوع ناگهانی دارد و در اصل یک بیماری شغلی محسوب می‌شود و معمولا 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 (۶). کوکسیلا بورنتی تهاجم زیادی دارد و ممکن است حتی یک سلول آن از طریق تنفس انسان را بیمار کند (۱۰). راه اصلی انتقال عامل بیماری به انسان از طریق استنشاق ریز قطره‌ها 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 گوارشی محسوب می‌شود (۶، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). مطالعات اولیه بر روی شیوع کوکسیلا بورنتی در گاوهای شیری بیشتر بر اساس آزمون‌های سرولوژیک بوده و به ندرت در تعداد کمی از مطالعات برای جستجوی این میکروارگانیسم بیماری‌زا از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) استفاده شده است (۱۳). اگر چه مطالعات محدودی در ایران میزان شیوع آلودگی شیر گاو به این پاتوژن را حدود ۶ درصد نشان می‌دهد اما به طور کلی در مورد میزان شیوع آلودگی در بین جوامع انسانی و دامی و راه‌های اصلی انتقال آلودگی به این میکروارگانیسم در ایران اطلاعات محدودی وجود دارد. با توجه به اهمیت موضوع، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (nested PCR) در استان اصفهان انجام گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش به صورت مقطعی-توصیفی ۲۴۷ نمونه شیر گاو از ۹۰ مجتمع پرورش گاو در استان اصفهان به طور تصادفی از دی ماه ۱۳۸۷ تا دی ماه ۱۳۸۸ جمع‌آوری شد. تعداد نمونه‌های اخذ شده در فصول زمستان، بهار، تابستان و پاییز به ترتیب ۵۸، ۴۸، ۶۵ و ۷۶ نمونه بود. نمونه‌ها از دام‌های به ظاهر سالم اخذ و در ظروف سترون در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند (۳).

به منظور ردیابی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها از روش Berri و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد (۱۴). پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها و جداسازی چربی، از رسوب حاصل برای استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) استفاده شد. کیفیت و مقدار DNA استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری با محاسبه نسبت طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵). DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. برای بررسی حضور DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested PCR) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *com1* که کد کننده پروتئین غشای خارجی کوکسیلا بورنتی می‌باشد، براساس مطالعه Zhang و همکاران (۱۹۹۸) و Fretz و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب (جدول ۱) و مورد استفاده قرار گرفت (۱۶ و ۱۷).

برای انجام PCR مرحله اول، غلظت بهینه مواد به‌کار رفته در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. ۵ میکرولیتر DNA الگو (۱۰ نانوگرم DNA الگو در هر واکنش)، ۰/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۱ میکرومول از هر پرایمر (پرایمرهای OMP1-OMP2)، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلی‌مراز Taq و ۲۰۰ میکرومولار dNTPs Mix، سپس ۲ تا ۳ قطره روغن معدنی سترون برای جلوگیری از آلودگی و تبخیر، به

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در جستجوی کوکسیلا بورنتی در شیر خام گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز آشیانه‌ای.

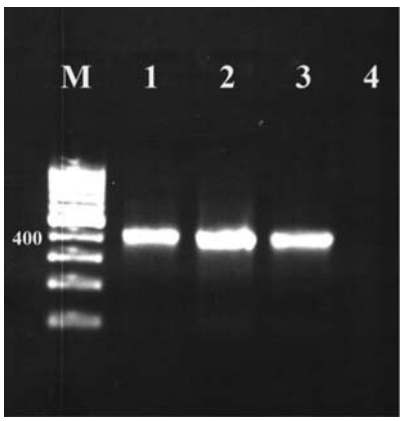
پرایمر	توالی	اندازه قطعه (bp)	منبع
OMP1	5'-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-3'	۵۰۱	۲۲
OMP2	5'-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G-3'		
OMP3	5'-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC-3'	٤۳۸	
OMP4	5'-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG-3'		

*هدف تکثیر و مشاهده محصول PCR مرحله دوم است که ٤۳۸ جفت باز می‌باشد

مخلوط واکنش PCR اضافه گردید. لوله‌ها در داخل دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) قرار داده شدند و برنامه دمایی به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۴ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ درجه سانتی‌گراد هر یک به مدت ۱ دقیقه و در ادامه مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه تنظیم گردید.

برای PCR مرحله دوم از پرایمرهای OMP3-OMP4 استفاده شد. در این مرحله همه شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول اجرا شد با این تفاوت که DNA الگو در این مرحله، ۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول می‌باشد که به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق و به مخلوط واکنش اضافه شد. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله دوم در ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با نور ماورای بنفش (UV) مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت. طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP1 -OMP2 و OMP3-OMP4 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز می‌باشد. در این مطالعه، کنترل مثبت DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استاندارد (Genekam Biotechnology AG, Duisburg, Germany Serial Number: 3154;) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه واکنشگرهای PCR بدون حضور DNA درنظر گرفته و به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد.

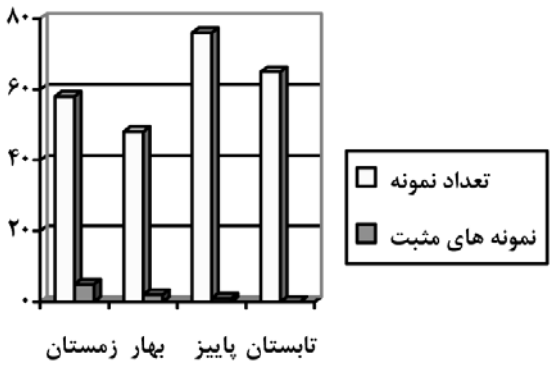
سپس داده‌های حاصل به کمک نسخه شانزدهم نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون مربع کای، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مرز معنی‌داری در $p<۰/۰۵$ قرار داده شد.



تصویر ۱: نتایج Nested-PCR نمونه ها در ژل آگاروز ۱/۵ درصد؛ ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱ و ۲: نمونه های مثبت کوکسیلا بورنتی، ستون ۳: کنترل مثبت و ستون ۴: کنترل منفی.

یافته ها

در مجموع از ۲۴۷ نمونه شیر مورد بررسی ۸ نمونه (۳/۲ درصد) از نظروجود کوکسیلا بورنتی مثبت بود (نمودار ۱).



نمودار ۱: فراوانی شیوع کوکسیلا بورنتی جدا شده از شیر گاو در فصول مختلف سال.

بیشترین میزان وقوع آلودگی در فصل زمستان مشاهده شد. از ۵۸ نمونه شیر گاو اخذ شده در فصل زمستان ۵ نمونه (۸/۶ درصد)، از ۴۸ نمونه شیر اخذ شده در فصل بهار ۲ نمونه (۴/۲ درصد) و از ۷۶ نمونه شیر اخذ شده در فصل پاییز ۱ نمونه (۱/۳ درصد) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند. در حالی که هیچ نمونه مثبتی در بین ۶۵ نمونه شیرهای اخذ شده در فصل تابستان مشاهده نشد. با استفاده از آزمون مربع کای مشخص شد که بین میزان شیوع آلودگی در فصول مختلف سال اختلاف آماری معنی‌داری وجود دارد (p<۰/۰۵). نمودار ۱ وضعیت شیوع کوکسیلا بورنتی را در نمونه شیرهای جمع آوری شده از استان اصفهان در چهار فصل سال نشان می‌دهد.

بحث

اگرچه تب کیو به طور اولیه یک بیماری شغلی محسوب می‌شود، اما مصرف شیر و فرآورده‌های آلوده آن نیز می‌تواند نقش مهمی در اپیدمیولوژی بیماری در انسان داشته باشد (۱۱ و ۱۳). مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک کوکسیلا بورنتی در افرادی که از شیر خام استفاده نموده اند ۱۰/۷ درصد مثبت می‌باشد. اما این میزان در افراد استفاده کننده از لبنیات پاستوریزه، ۰/۷ درصد گزارش گردید (۱۳). هم‌چنین نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلوواکی و اسپانیا گزارش شده است (۱۳ و ۱۸). شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه شیرهای مورد پژوهش در این مطالعه با سایر پژوهش‌های انجام شده در استان چهارمحال و بختیاری، مشابه است. رحیمی و همکاران در سال ۲۰۰۹ میزان شیوع آلودگی شیر گاو را در استان چهارمحال و بختیاری (n =۲۱۰)، ۶/۲ درصد گزارش نمودند (۱۸).هم‌چنین کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲ با ارزیابی ۱۰۰ نمونه تهیه شده از شیر گاو در شهرستان جهرم، میزان شیوع آلودگی را ۱۱ درصد گزارش نمودند (۱۹). از طرفی مطالعه مشابهی از سوئد در سال ۲۰۰۷ نشان داد که از ۳۵۹ نمونه شیر گاو جمع‌آوری شد از کارخانجات پنیر سازی، ۱۷ نمونه (۴/۷ درصد) آلودگی به کوکسیلا بورنتی دارند (۱۶) که هر سه مورد با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. کیم (Kim) و همکاران (۲۰۰۵) در آمریکا میزان شیوع کوکسیلا بورنتی را در شیر مخازن جمع‌آوری گله‌های گاو شیری بسیار بالاتر و بیش از ۹۰ درصد گزارش نمودند (۳). هم‌چنین موشینس (Muskens) و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش نمودند که ۷۸/۶ درصد نمونه‌های شیر گاو مورد مطالعه حاوی آنتی‌بادی برعلیه کوکسیلا بورنتی می‌باشد. محققین یاد شده نشان دادند که میزان شیوع این باکتری در نمونه‌های بررسی شده به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ۵۶/۶ درصد است (۲۰). مهم‌ترین دلایل اختلاف بین شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر گاو در مناطق مختلف دنیا را می‌توان به گوناگونی موقعیت جغرافیایی، چگونگی و نوع روش بررسی، نوع و تعداد نمونه‌های اخذ شده، فصل سال و نمونه گیری در بین گله های آلوده و غیر آلوده نسبت داد (۱، ۳، ۱۸، ۲۱ و ۲۲).در مطالعه حاضر بالاترین میزان شیوع آلودگی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده در از فصل زمستان بود. هم‌چنین نتایج مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۰۹) در استان چهارمحال و بختیاری نیز نشان داد که ۸ نمونه از ۱۳ نمونه شیر خام آلوده به کوکسیلا بورنتی مربوط به اواخر فصل زمستان و اول بهار بوده است. اگر چه در این مطالعه اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان شیوع آلودگی در فصول مختلف سال گزارش نشده است (۱۸). هم‌چنین مطالعه‌ی لیتکاین (Lyytikainen) و همکاران (۱۹۹۸) در آلمان بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به کوکسیلا بورنتی را در طول فصول زمستان و بهار نشان می‌دهد (۲۳). به طور مشابهی Fretz و همکاران (۲۰۰۷) میزان شیوع آلودگی شیر گاو در فصل زمستان را به مراتب بیشتر از سایر فصول گزارش نمودند (۱۶).

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 که معمولا تعداد زایمان در زمستان بیشتر از سایر فصول است. نتایج این مطالعه نشان داد که گاوهای به ظاهر سالم می‌توانند در انتقال کوسیلا بورنتی نقش داشته باشد. با این وجود برای بررسی دقیق آلودگی ضرورت مطالعات تکمیلی‌تر با تعداد نمونه بیشتر وجود دارد. از طرفی به منظور پیشگیری از انتشار عفونت در بین جمعیت‌های حیوانی و انسانی، کنترل کوکسلیوزیس

در گله‌های گاو از اهمیت بالایی برخوردار است. هم‌چنین از آن‌جایی که کوکسیلا بورنتی در حرارت ۶۳ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه یا ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ ثانیه از بین می‌رود (۱۳ و ۲۴)، مصرف شیر پاستوریزه می‌تواند یکی از راه‌های موثر پیشگیری از آلودگی این باکتری در مصرف‌کنندگان باشد.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان حضور کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر با فصل سال ارتباط دارد. هم‌چنین آلودگی ۳/۲ درصدی نمونه‌های شیر به این پاتوژن نشان می‌دهد که گاو می‌تواند از مخازن کوکسیلا بورنتی در منطقه مورد مطالعه باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از آقایان دکتر سید مرتضی موسویان، دکتر ایمان آزادخواه، دکتر سعید کاظم‌زاده، دکتر علی رسولی و دکتر علیار پرویش دامپزشکان بخش خصوصی استان اصفهان به دلیل همکاری در جمع‌آوری نمونه‌ها اعلام می‌دارند.

References

1. Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev. 1999; 12: 518-553.
2. Parker NR, Barralet JH, Bell AM. Q fever. Lancet. 2006; 367: 679-688.
3. Kim SG, Kim EH, Lafferty CJ, Dubovi E. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. Emerg Infect Dis. 2005; 11: 619-621.
4. Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res. 2006; 37: 827-833.
5. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonoses? Vet Res. 2005; 36: 327-350.
6. Cutler SJ, Bouzid M, Cutler RR, Q fever. J Infec. 2007; 54: 313-318.
7. Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res. 2006; 37: 827-833.
8. To H, Htwe KK, Kako N, Kim HJ, Yamaguchi T, Fukushi H, Hieai K. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders. J Vet Med Sci. 1998; 60: 859-861.
9. Bildfell RJ, Thomson GW, Haines DM, McEwen BJ, Smart N. *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. J Vet Diagn Invest. 2000; 12: 419-425.
10. Dupuis G, Petite J, Peter O, Vouilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss alpine valley. Int J Epidemiol. 1987; 16: 282-287.
11. Hirai A, Kaneko S, Nakama A, Ishizaki N, Odagiri M, Kai A, Sadamasu K, Shinkai T, Yano K, Morozumi S. Investigation of *Coxiella burnetii* contamination in commercial milk and PCR method for the detection of *C. burnetii* in egg. Shokhin Eiseigaku Zasshi.2005; 46: 86-92.
12. Raoult D. Q fever: still a query after all these years. J Med Microbiol. 1996; 44: 77-78.
13. Cerf O, Condron R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiol Infect. 2006; 134: 946-951.
14. Berri M, Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples, in: Sachse K., Frey J. (Eds.), Methods in Molecular Biology, Humana Press Inc., Totowa, NJ. 2003.
15. Marrie T, Raoult D. Q fever-a review and issues for the next century. Int J Antimicrob Agents. 1997; 8: 145-161.
16. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. Int J Food Microbiol. 2007; 116: 414-418.
17. Zhang GQ, Nguyen SV, To H, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T, Kim HJ, Fukushi H, Hirai K. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. J Clin Microbiol. 1998; 36: 77-80.
18. Rahimi E, Doosti A, Ameri M, Kabiri E, Sharifian B. Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. Zoonoses Public Health. 2009; 57, 38-41.

19. Kargar M, Rashidi A, Doosti A, Ghorbani-Dalini S, Najafi A. Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk samples in southern Iran. Com Clin Pathol. 2012; doi:10.1007/s00580-012-1406-9.
20. Muskens J, van Engelen E, van Maanen C, Bartels C, Lam TJ. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. Vet Rec. 2011; 168:79.
21. Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. Zoonoses Public Health. 2007; 54: 191-194.
22. Rodolakis A, Berri M, Héchard C, Caudron C, Souriau A, Bodier CC, Blanchard B, Camuset P, Devillechaise P, Natorp JC, Vadet JP, Arricau-Bouvery N. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. J Dairy Sci. 2007; 90: 5352-5360.
23. Lyytikainen O, Ziese T, Schwartlander B, Matzdorff P, Kuhnhen C, Jager C, Peterson L. An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. Eur J Epidemiol. 1998; 14: 193-199.
24. Guatteo R, Seegers H, Taurel AF, Joly A, Beaudeau F. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. Vet Microbiol. 2011; 149:1-16.

Journal of Microbial World
Volume 3, No. 1, May 2010

An assay to determine the Seasonal Prevalence of *Coxiella burnetii* in Cow Milk Using Nested PCR

Ebrahim Rahimi[1], Zeinab Torki Baghbadorani[2], Abbas Doosti[3]

[1]Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
[2]BSc. of Nutrition, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.
[3]Assictant Professor, Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background and Objective: Q-fever is a zoonosis caused by an intracellular rickettsia, *Coxiella burnetii*, with worldwide distribution. This study was conducted to determine the seasonal prevalence rate of *Coxiella burentii* in raw milk samples obtained from different Cowpens in Isfahan.

Materials and Methods: This cross-sectional study was performed from January 2009 to January 2010. Totally, 247 milk samples from 90 Cowpens were collected and were tested for *C. burnetii* using nested PCR assay.

Results: In this survey, 8 out of 247 (3.2%) cow milk samples were positive for *C. burnetii*. The prevalence of *C. burnetii* varied during different seasons. The highest incidence of *C. burnetii* observed in winter (8.5%). All 65 milk samples collected in summer were negative for *C. burnetii*.

Conclusion: These results prove that cow milk could be considered as an important reservoir for *C. burnetii* infection in Iran.

Keywords: Coxiella burnetii, cow milk, PCR

Correspondence to: Ebrahim Rahimi
E-mail: ebrahimrahimi55@yahoo.com
Tel: +989133278377
Journal of Microbial World 2010 3(1): 56-62