Journal of Food Hygiene, Vol. 10, No. 37, Springer 2020

**"Research article"** **DOI: 10.30495/JFH.2019.668698**

# Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk by Nested-PCR in Gilan province

**Nourozhaghi Nobijari, A.[1], Rahimi, E.[2*], Shakerian, A.[2]**

1. M.Sc Graduate of School of Veterinary Medicine, Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2. Professor, Department of Food Hygiene, School of Veterinary Medicine, Research Center of Nutrition and Organic Products (R.C.N.O.P), Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[*]Corresponding author: ebrahimrahimi55@yahoo.com
(Received: 2018/5/20 Accepted: 2019/7/21)

## Abstract

Q fever with Ricketsia factor is a zoonotic disease having a high pathogenicity. In recent years, it is not just considered as the occupational disease of veterinarian and ranchers. Milk consumption plays an important role in epidemic condition and spread of the disease. This study aimed to examine the prevalence of *Coxiella burnetii* in bulk cow milk of Gilan province. In this cross-sectional-descriptive study (from summer 2016 to spring 2017), a total of 204 milk samples was collected from the milk collection bulk of Gilan province and tested for detection of the prevalence rate of *C. burnetii* using Nested-PCR. From 204 sample of raw milk, 21 samples (10.29%) were positive to *C. burnetii* presence. The highest rate of contamination was seen in Lahijan (33.3%) and Roodbar (29.4%). The samples collected from Rasht, Talesh, Astaneh and Masal were not found positive for *C. burnetii*. Examination of the seasonal prevalence of the samples indicated no statistical difference between the different seasons. The results revealed that bulk cow milk could be a potential source of *C. burnetii* in Iran.

**Conflict of interest:** None declared.

**Key words:** Milk, Cow, *Coxiella burnetii*, Nested PCR, Gilan, Iran

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2019.668698

# شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مخازن جمع‌آوری شیر گاوهای بومی استان گیلان به‌روش Nested-PCR

اکرم نوروزحقی نوبیجاری[۱]، ابراهیم رحیمی[۲*]، امیر شاکریان[۲]

۱. دانش‌آموخته کارشناسی ارشد بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران؛ مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲. استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران؛ مرکز تحقیقات تغذیه و محصولات ارگانیک، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: ebrahimrahimi55@yahoo.com

(دریافت مقاله: ۹۷/۲/۳۰ پذیرش نهایی: ۹۸/٤/۳۰)

## چکیده

تب کیو با عامل ریکتزیا، بیماری مشترک انسان و دام باقدرت بیماری‌زایی بسیار بالا است که اخیراً تنها به‌عنوان بیماری شغلی در دامداران، دامپزشکان و کارگران کشتارگاه‌ها تلقی نمی‌شود. مصرف شیر نقش بسیار مهمی در اپیدمی و گسترش بیماری دارد و شیر گاو یکی از منابع بالقوه *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد. این مطالعه با هدف بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مخازن جمع‌آوری شیر گاوهای بومی استان گیلان انجام گرفت. در این مطالعه مقطعی-توصیفی از تابستان ۱۳۹۵ تا بهار ۱۳۹٦ در مجموع ۲۰٤ نمونه شیراز مخازن جمع‌آوری شیر در مراکز جمع‌آوری شیر شهرستان‌های استان گیلان تهیه و جهت بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی*، به‌روش Nested PCR مورد آزمایش قرار گرفت. از مجموع ۲۰٤ نمونه شیر خام، ۲۱ نمونه (۱۰/۲۹٪) ازنظر حضور *کوکسیلا بورنتی* مثبت بود. بالاترین میزان آلودگی در شهرستان لاهیجان، ۳۳/۳۳٪ و به دنبال آن در شهرستان رودبار، ۲۹/٤٪ مشاهده شد. نمونه‌های اخذشده از شهرستان‌های رشت، تالش، آستانه و ماسال هیچ مورد مثبتی نداشتند. بررسی شیوع فصلی نمونه‌ها حاکی از عدم اختلاف آماری بین فصول مختلف بود. نتایج حاکی از آن است که شیر گاوهای سنتی می‌تواند منبع و مخزن *کوکسیلا بورنتی* در ایران می‌باشد.

**واژه‌های کلیدی:** شیر، گاو، *کوکسیلا بورنتی*، Nested PCR، گیلان

**مقدمه**

*کوکسیلا بورنتی* عامل بیماری تب کیو یا تب کشتارگاه در انسان و عامل بیماری کوکسیلوزیس در انواع جمعیت دامی می‌باشد. کوکسیلا بورنتی میکروارگانیسمی ریکتزیا مانند بازندگی اجباری داخل سلولی است که بنا به شرایط سخت توان زیست و بقا در شرایط خارج سلولی را نیز دارد (Maurin, 1999; Parker, 2006). عامل بیماری از طریق ماندگاری در بدن کنه‌ها (پناهگاه محیطی) بیماری را به حیوانات اهلی منتقل می‌نماید (Zoghi, 1994; Rad, 2010). اگرچه کنه مهم‌ترین ناقل و مخزن بیماری اعلام شده و نگه‌دارنده *کوکسیلا بورنتی* در چرخه طبیعت و مسئول انتشار عفونت است، ولی عامل انتقال مستقیم انسانی نمی‌باشد، بلکه از طریق انتقال به حیوانات اهلی، در گسترش عفونت انسانی دخیل است (Lang, 1990; Zoghi, 1994; Rahimi *et al*., 2009). ویژگی خاص این عامل، زندگی دومرحله‌ای یا دوفازی، قدرت تهاجمی و حدت بالا (یک سلول پاتوژن توان آلودگی یک فرد را دارد)، فرم شبه اسپور این پاتوژن منجر به مقاومت به خشکی، حرارت، شرایط سخت محیطی و مواد ضدعفونی در پاتوژن شده است (Guatteo *et al*., 2006). به بیان بهتر افراد انسانی به تب کیو بسیار حساس می‌باشند و حتی تا ده سلول یا کمتر ممکن است باعث عفونت کوکسیلا در افراد شود (CDC, 2015). راه اصلی انتقال بیماری به انسان، انتقال از طریق ریز قطره‌ها، راه گوارشی و کنه‌ها می‌باشد. بااین‌حال اهمیت آلودگی شیر به‌عنوان مهم‌ترین راه انتقال بیماری به انسان (گوارشی) مطرح و قابل‌بحث است (Raoult, 1995; Hiari *et al*., 2005; Cerf and Condron, 2006; Cutler *et al*., 2007). در بین محصولات غذایی با منشأ حیوانی شیر خام به‌عنوان مهم‌ترین منبع آلوده به *کوکسیلا بورنتی* حائز اهمیت می‌باشد (Capuano *et al*., 2012; Hilbert *et al*., 2015). هرچند وجود سقط‌جنین، تولد نوزاد نارس و کم‌وزن، ناباروری مهم‌ترین علائم و عوارض در حیوانات اهلی است، ولی اصولاً بیماری در حیوان فاقد علائم و نمودهای آشکار است که خود باعث انتقال پنهان و گسترش عفونت می‌شود (To *et al*., 1998; Bildfell *et al*., 2000; Ebrahimi *et al*., 2015). تب کیو به‌عنوان بیماری شغلی شیردوشان، پرورش‌دهندگان انواع دام، کارکنان واحدهای تولیدی شیر و فرآورده‌های شیری و دامپزشکان شناخته شده است (Cerf and Condron, 2006). تب کیو عفونت زئونوزی می‌باشد که در کل دنیا شایع است و تنها قطب شمال و نیوزیلند، به‌علت فاصله بسیار دور جغرافیایی و کنترل‌های شدید، فاقد این بیماری هستند. مصرف‌کنندگان شیر آلوده، اکثراً بیماری را با نمود هپاتیت بروز داده و استنشاق کنندگان آیروسل آلوده، تظاهرات پنومونی را بروز می‌دهند (David *et al*., 2001). علائم بیماری در انسان بسیار متغیر است و حدود ۶۰ درصد افراد با تیتر سرمی مثبت علائم بالینی واضحی از خود بروز نمی‌دهند. نوع حاد بیماری تب کیو اغلب به‌صورت آنفلوانزا، پنومونی یا هپاتیت نامشخص بروز می‌نماید (Cutler *et al*., 2007). درمان آنتی‌بیوتیکی دوره عفونت انسانی را بسیار محدود می‌کند ولی در صورت مزمن شدن باعث بروز میوکاردیت، پریکاردیت و به‌خصوص آندوکادیت شده که در ۶۰-۳۰ درصد موارد، مرگ حتمی است (Hatami, 2003). در بسیاری از کشورها آلودگی به این پاتوژن مطرح است، ازجمله شرق هلند که از سال ۲۰۰۷

تاکنون سه اپیدمی بزرگ را پشت سر گذاشته است (Delsing and Kullberg, 2008). از آن‌جایی که در بررسی نمونه شیر گاو، گوسفند، بز و پوسته تخم‌مرغ به روش PCR، عامل *کوکسیلا بورنتی* تنها در گله‌های گاو مزارع دیده شده است، تعیین اپیدمیولوژی سوش انسانی و حیوانی *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاو بسیار مورد اهمیت قرارگرفته است (Fretz *et al*., 2007). شیوع بیماری عامل پاتوژن *کوکسیلا بورنتی* بین سربازان آمریکایی مقیم عراق منجر به بروز تب همراه با علائم گوارشی و تنفسی گردید (Ahmadizadeh *et al*., 2015). بیماری در نواحی که مخازن حیوانی وجود دارد به‌صورت بومی شایع است (Chin, 2000). معمولی‌ترین راه تشخیص تب کیو، تعیین آنتی‌بادی اختصاصی به‌وسیله آزمون‌های ایمونولوژی می‌باشد (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005). روش PCR به‌عنوان یک روش مطمئن و سریع جهت تشخیص *کوکسیلا بورنتی* از طرف بسیاری از محققین پیشنهاد شده است (Guatteo *et al*., 2006). بنابه اهمیت این بیماری و ذکر این مهم که اطلاعات پایه و اپیدمی پیرامون این بیماری، ناکافی و ناکارآمد است و در حال حاضر تقسیم‌بندی شدت بیماری بر اساس مناطق جغرافیایی هنوز مبهم است، مطالعه حاضر با هدف تعیین میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مخازن جمع‌آوری شیر گاو، دامداری‌های استان گیلان با Nested-PCR انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

**- روش نمونه‌گیری**

در این پژوهش میدانی به مدل مطالعه مقطعی-توصیفی، تعداد ۲۰٤ نمونه شیر از مخازن جمع‌آوری شیر گاوهای بومی استان گیلان به روش نمونه‌برداری خوشه‌ای-تصادفی طی تابستان ۱۳۹۵ تا بهار ۱۳۹٦ جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها طی چهار فصل (تابستان ۳۳ نمونه، پاییز ٦۸ نمونه، زمستان ۷۳ نمونه، بهار۳۰ نمونه) از شهرستان‌های استان گیلان اخذ گردید و در شرایط بهداشتی و با حفظ زنجیره سرما به آزمایشگاه منتقل شدند.

**- بررسی حضور *کوکسیلابورنتی***

برای ردیابی و بررسی حضور *کوکسیلابورنتی* در نمونه‌های شیر از روش Nested PCR و مطابق روش قبلی استفاده شد (Berri *et al*., 2003). پس از جداسازی چربی نمونه‌ها با کمک دستگاه سانتریفوژ، از رسوب باقی‌مانده در ته لوله‌ها، استخراج DNA با استفاده از کیت (سیناژن، ایران) انجام گردید. کیفیت و میزان DNA خالص به روش اسپکتوفتومتری (Biophotometer, Germany) به احتساب طول موج ۲٦۰ به ۲۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت (Marrie and Raoult, 1997). محصول به‌دست آمده تا انجام PCR در قسمت فریزر با دمای ۲۰- نگه‌داری شد. از روش Nested-PCR جهت ردیابی DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* استفاده شد. سکانس پرایمرهای مورد استفاده برای ازدیاد ژن Com1، کد کننده پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* (OMP) در نظر گرفته شد (Zhang *et al*., 1998; Frets *et al*., 2007). غلظت مطلوب مواد به‌کار رفته در مرحله اول PCR، ۲۵ میکرولیتر و شامل: ۵ میکرولیتر DNA الگو، ۱ میکرومول از هر پرایمر OMP1-OMP2، ۰/۵ واحد آنزیم Taq DNA polymerase، ۰/۲ میکرومولار مخلوط dNTP بود. دو تا سه قطره روغن سترون جهت جلوگیری از آلودگی و

تبخیر اضافه شد و تیوپ‌ها به درون دستگاه ترموسایکر منتقل شد (Mastercycler Gradient, Eppendrof, Germany). تنظیمات دمایی به‌صورت: دمای ۹٤ درجه سلسیوس، ۵ دقیقه؛ ۳۵ الی ٤۰ سیکل با دمای ۹۵ درجه سلسیوس ۳ دقیقه؛ دمای ۷۲ درجه سلسیوس، ۸ تا ۱۰ دقیقه و دمای ٤ تا ۱۰ درجه سلسیوس، ۱۰ دقیقه بود.

جدول (۱)- پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در شیر، به روش Nested-PCR

| پرایمر | توالی | نام ژن | اندازه قطعه (bp) |
|---|---|---|---|
| Omp1 | 5´-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-3´ | *Com1* | ۵۰۱ |
| 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´ | | |

مرحله دوم PCR: پرایمرهای این مرحله شامل: OMP3,OMP4 بوده و تمام مراحل به روش مرحله اول می‌باشد، با این تفاوت که DNA مدل، ۲ میکرومول از محصول PCR مرحله اول می‌باشد که به نسبت ۱/۲۰۰ رقیق و به واکنش اضافه گردید. محصول مرحله دوم در ژل آگارز ۲ درصد دارای محلول اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و با امواج نور ماورای بنفش (اولتراویوله) مشاهده، مورد بررسی و تفسیر قرار گرفت. کنترل مثبت این مطالعه DNA ژنومی *کوکسیلابورنتی* (Biotechnology AG, Duisburg, Germany Serial Genekam Number: 3154;) و کنترل منفی شامل کلیه واکنش‌گرهای PCR و مواد، بدون حضور DNA که به‌جای DNA، از آب مقطر سترون استفاده شد (Rodolakis *et al*., 2007).

یافته‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS (SPSS Inc, Chicago, IL) نسخه ۲۰ و آزمون مربع کای مورد تحلیل و تفسیر آماری قرار گرفتند. سطح اطمینان در مطالعه حاضر ۹۵ در صد در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

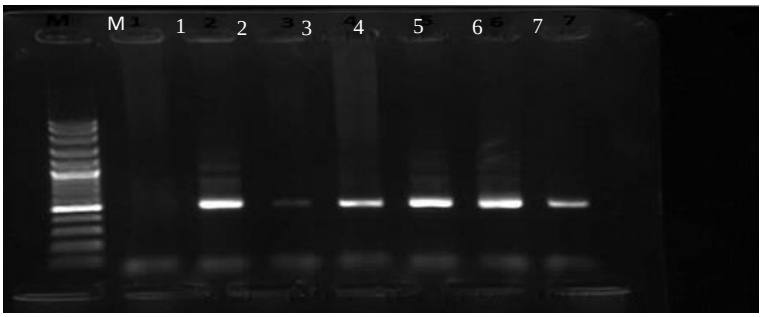
از مجموع ۲۰٤ نمونه شیر مورد آزمایش ۲۱ نمونه (۱۰/۲۹٪) مثبت و آلوده به پاتوژن *کوکسیلا بورنتی* بود. بالاترین میزان فراوانی در شهرستان‌های لاهیجان و رودبار مشاهده شد جدول (۲). هیچ مورد مثبتی در شهرستان‌های رشت، تالش، آستانه و ماسال گزارش نشد. شیوع آلودگی در شهرستان‌های مختلف استان، اختلاف آماری معنی‌دار را نشان داد. شیوع فصلی در مطالعه حاضر نشان داده شد که بیشترین درصد فراوانی آلودگی مربوط به فصل پاییز (۱۷/٦۵٪) است، هر چند، اختلاف آماری معنی داری بین میزان شیوع آلودگی *کوکسیلا بورنتی* و فصل های سال وجود نداشت جدول (۳). نتایج نمونه‌های شیر آلوده به *کوکسیلا بورنتی*، نمونه‌های مثبت، نمونه‌های منفی و همچنین ستون مارکر در شکل (۱) و شکل (۲) نشان داده‌شده است.

جدول (۲)- شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مخازن شیر گاوداری‌های سنتی شهرستان‌های استان گیلان

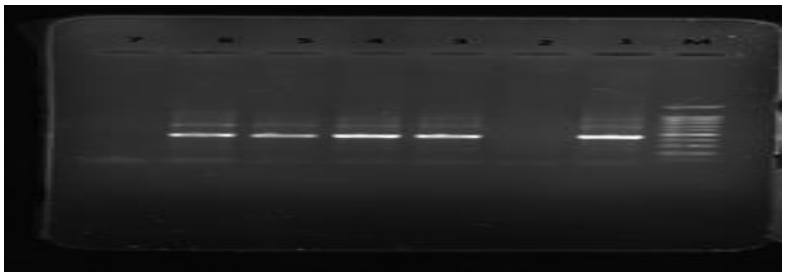
| شهرستان‌های استان گیلان | تعداد نمونه مورد بررسی | فراوانی نمونه‌های آلوده به *کوکسیلا بورنتی* | درصد نمونه‌های آلوده به *کوکسیلا بورنتی* |
|---|---|---|---|
| رشت | ۳٤ | ۰ | ۰ |
| رودبار | ۱۷ | ۵ | ٪۲۹/٤۱ |
| منجیل | ۲۲ | ۱ | ٪٤/۵۵ |
| شفت | ۳۷ | ۱ | ٪۲/۷۰ |
| لنگرود | ۸ | ۱ | ٪۱۲/۵۰ |
| رودسر | ۱۷ | ٤ | ٪۲۳/۵۳ |
| فومن | ۱۷ | ۱ | ٪۵/۸۸ |
| لاهیجان | ٦ | ۲ | ٪۳۳/۳۳ |
| صومعه‌سرا | ۲۲ | ۵ | ٪۲۲/۷۳ |
| املش | ۱۵ | ۱ | ٪٦/٦۷ |
| تالش | ۵ | ۰ | ۰ |
| ماسال | ۱۰ | ۰ | ۰ |
| آستانه | ۳ | ۰ | ۰ |
| کل | ۲۰٤ | ۲۱ | ٪۱۰/۲۹ |

جدول (۳)- شیوع فصلی *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاوداری‌های سنتی استان گیلان

| فصل | تعداد نمونه | تعداد نمونه مثبت | درصد آلودگی |
|---|---|---|---|
| تابستان | ۳۳ | ۳ | ٪۹/۱ |
| پاییز | ٦۸ | ۱۲ | ٪۱۷/٦۵ |
| زمستان | ۷۳ | ۲ | ٪۲/۷٤ |
| بهار | ۳۰ | ٤ | ٪۱۳/۳۳ |
| کل | ۲۰٤ | ۲۱ | ٪۱۰/۲۹ |




شکل (۱)- نتایج Nested- PCR مرحله اول بر اساس باند ۵۰۱ نمونه‌ها در ژل آگارز ۲؛ ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱: کنترل منفی (آب مقطر استریل شده)، ستون۲: کنترل مثبت (Genekam Biotecnology; 3154: serial No AG, Duisburg, Germany)، ستون‌های ۳، ٤، ٥، ٦ و ۷: نمونه‌های مثبت و آلوده به *کوکسیلا بورنتی*



شکل (۲) – نتایج Nested- PCR مرحله دوم بر اساس باند ٤۳۸ نمونه‌ها در ژل آگارز ۲٪، ستون M: مارکر، ستون ۱: کنترل مثبت، ستون ۲: کنترل منفی (آب مقطر استریل)، ستون‌های ۳، ٤، ٥ و ٦ نمونه‌های مثبت و آلوده به *کوکسیلا بورنتی* (عامل پاتوژن)، نمونه ۷: نمونه منفی.

## بحث و نتیجه‌گیری

*کوکسیلابورنتی* پاتوژنی با توان بیماری‌زایی و حدت بالا، مقاومت بسیار زیاد به سایر شرایط سخت محیطی (مواد ضدعفونی، خشکی، دما و از این قبیل) و فرم شبه اسپوری است. عامل تب کیو در دام و انسان، باعث ناتوانی، عوارض و هزینه‌های زیاد اقتصادی می‌شود. اگرچه تب کیو به‌عنوان بیماری شغلی مطرح است، ولی مصرف شیر و فرآورده‌های شیری آلوده به *کوکسیلا بورنتی* در اپیدمیولوژی بیماری نقش برجسته‌ای دارد (Berri *et al*., 2003; Hirai *et al*., 2005). در مطالعه حاضر ۱۰/۲۹٪ از نمونه‌های شیر حامل *کوکسیلا بورنتی* بوده است که نتایج آن با دو تحقیقی که به روش PCR بر روی نمونه‌های شیر گاوداری‌های جهرم (Kargar *et al*., 2012) و تهران (Ahmadizadeh *et al*., 2015) انجام شده و ۱۱٪ می‌باشد، مطابقت دارد. در پژوهشی دیگر میزان آلودگی شیر به *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای سنتی و صنعتی شمال غرب ایران ۲۹/٤٪ اعلام شده است (Sakhaee and Khalili, 2010). نتایج گزارشی در آمریکا شیوع *کوکسیلا بورنتی* را بیشتر و۹٤٪ گزارش نموده که مغایر با بررسی حاضر می‌باشد (Kim *et al*., 2005).

اگرچه انتقال خوراکی یا دهانی تب کیو به انسان از طریق شیر آلوده هنوز بحث‌برانگیز است، بااین‌حال به‌دلیل افزایش مصرف محصولات شیری غیرپاستوریزه

خطر عفونت به *کوکسیلا بورنتی* نباید نادیده گرفته شود (Eldin *et al*., 2017). نتیجه تحقیقات یونان شیوع پاتوژن فوق را بسیار متفاوت (محدوده ۰ تا ۹۵٪) دانسته و اعلام نمودند، خطر عفونت کوکسیلا بورنتی با مصرف شیر غیرپاستوریزه و محصولات شیری خام را نباید بی‌اهمیت و نادیده گرفت ( Pexara *et al*., 2018). در بررسی که در بناب بر روی شیر انجام‌شده ضمن اعلام شیوع ۲۱/٦٦٪، شیر گاو را مخزن بالقوه *کوکسیلا بورنتی* دانست و تشخیص سریع پاتوژن در نمونه‌ها را، در کنترل و تشخیص مؤثر دانسته و بومی‌سازی تکنیک‌های مولکولی را تأکید نمودند (Khademi *et al*., 2015). در بررسی شیوع سرمی و فاکتور خطر *کوکسیلا بورنتی*، نواحی مرکزی ایران، شیوع سرمی عفونت *کوکسیلا بورنتی* در جمعیت در معرض خطر بالا اعلام شده است (Nokhodian *et al*., 2017).

در تحقیقاتی بر روی نمونه مخازن تانک‌های شیری گاو و گوسفند در ترکیه طی روش الایزا به‌ترتیب میزان آلودگی به کوکسیلا بورنتی را ۱۰/۲۸٪ و ۱٦/۸٪ گزارش گردید (Gulmez Saglam and Shahin, 2016). یافته‌های مطالعه‌ای بر روی نمونه‌ی شیر گاوداری‌های روستاهای مونترای کلمبیا و نمونه خون کارگران مزارع پرورش دام ضمن ردیابی پاتوژن *کوکسیلا بورنتی*، با برآورد آلودگی ٤٥٪ نمونه شیر و ٦١٪ نمونه‌ی خون بیان نمودند، آلودگی بالا در دام‌ها نشان از عیار بالای عفونت در کارگران دارد (Contrevas *et al*., 2015). نتایج پژوهش انجام‌شده در کارخانجات لبنیات سازی در ایتالیا تأکید بر گستردگی حضور *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو و گوسفند دارد ( Guidi *et al*., 2017). در بررسی بر روی نمونه‌ی دام‌های مختلف استان اصفهان، اعلام گردید، احتمال آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* رو به افزایش است (Rahimi *et al*., 2011) و تحقیق استان چهارمحال و بختیاری، میزان آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاو را ٦/٢ ٪ برآورد نمود (Rahimi *et al*., 2009). نتایج مطالعه‌ای در ایران (استان‌های چهارمحال و بختیاری، یزد و اصفهان) حاکی از آن است که *کوکسیلا بورنتی* در فراورده‌های شیری تولید شده در استان چهارمحال و بختیاری بالا است، و شیر خام می‌تواند از منابع مهم این میکروارگانیسم باشد (Kazemeini, 2018). ضمن ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای شیری کشور پرتغال میزان آلودگی ۳۰/۹٪ گزارش شده است و نقش برجسته شیر را به‌عنوان منبع عفونت در کارگران کارخانه‌های شیر غیرقابل چشم‌پوشی می‌باشد (Anastacio *et al*., 2016).

در بررسی انجام‌شده روی نمونه‌های شیر آلوده به *کوکسیلا بورنتی* در استان گیلان می‌توان بین شهرستان‌ها و میزان شیوع ارتباطی معنی‌داری در نظر گرفت. از دلایل اصلی اختلاف بین شیوع کوکسیلا در مناطق مختلف دنیا می‌توان به موقعیت‌های جغرافیایی و آب و هوایی متفاوت، روش‌های تشخیص آزمایشگاهی، نوع و حجم نمونه، روش نمونه‌گیری، فصل سال و نمونه‌گیری در گله‌های آلوده و سالم اشاره کرد ( Banazis *et al*., 2010). در مطالعه حاضر میزان آلودگی مخازن جمع‌آوری شیر گاوهای بومی استان گیلان در شهرستان‌های لاهیجان، رودبار، رودسر و صومعه‌سرا بالای ۲۰٪ بود. از طرفی میزان آلودگی در شهرستان‌های تالش، ماسال، آستانه و رشت منفی بود. هم‌چنین در این مطالعه میزان شیوع آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر مورد مطالعه در فصل پاییز بیشتر از سایر

فصـول بود، اگرچه اختلاف آماری معنی‌داری مشـاهده نشـد. به‌طور مشابهی در تحقیق در استان اصفهان، فصل سـرد سال بالاترین موارد آلودگی دیده شده (۸/۶٪)، که دلیل آن را زایمان‌های بیشـتر در فصـل زمسـتان و علت احتمالی آن را دفع میکروب از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شـیر دام‌ها در زمان زایمان که بیشتر فصول پاییز و زمسـتان اسـت، دانسـته‌اند (Rahimi *et al*., 2010). مطالعه حاضـر اولین گزارش از وضعیت شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شـیر گاوهای بومی اسـتان گیلان می‌باشـد و جهت بررسـی دقیق‌تر و اعلام نظر قطعی در خصـوص تعمیم نتـایج این تحقیق، بـه نظر مطـالعـات تکمیلی (رعایت تمام جوانب)، با حجم نمونه بالاتر نیاز اسـت. در مجموع میزان شـیوع کوکسـیلا در مخازن جمع‌آوری شـیر گاوهای بومی اسـتان گیلان در مقایسـه با مطالعه گذشـته در ایران مشابه بوده است و این مطلب حاکی از آن است که شیر خام می‌تواند به‌عنوان یکی از منابع مهم آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در جوامع انسانی باشد.

نتـایج تحقیق میـدانی انجام‌شـده، بیانگر آن اسـت که اختلاف معنی‌داری بین میزان شـیوع *کوکسـیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو و فصول سال وجود ندارد، بااین‌حال، ارتباط معنی‌داری، بین شـیوع آلودگی و شـهرسـتان‌های استان مشاهده می‌شود. میزان ۱۰/۳٪ آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* نشان و تأکیدی بر آلوده بودن منطقه گیلان به این پاتوژن اسـت و این‌که شـیر گاو آلوده مخزن بالقوه این پاتوژن می‌باشد، و از آن‌جایی‌که نمونه‌های مثبت مربوط به گاوهای فاقد علامت بالینی بودند، شـیر آلوده به عامل *کوکسـیلا بورنتی* در دام‌هـا می‌تواند، عامل انتشـار و گسترش بیماری در جمعیت انسانی و دامی باشد.

## سپاسگزاری

از کلیه پرسـنل شـرکت تعاونی دامداران مسـتقر در شهرستان‌های استان گیلان، تشکر و قدردانی می‌گردد.

## تعارض منافع

نویسـنـدگـان هیچ‌گونـه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

## منابع


- Ahmadizadeh, C., Jamshidian, M. and Mosakhani, F. (2015). Phylogenetic analysis of *Coxiella burnetii* isolates from dairy cow Tehran province. Journal of Comparative Pathobiology, Scientific and Research Branch of Islamic Azad University, Science and Research, 3(50): 1669-1676. [In Persian]
- Anastacio, Sab., Pimenta, L.C., Simoes, J.D., Alegria, N.D., Rabico, A.C., SidiBoumedine, KE. *et al*., (2016). da Silva GJA. *Coxiella burnetii* is present in milk from dairy cattle herds in The Northwest Portugal. Experimental Pathology and Health Sciences, 8(1): 13-14.
- Arricau-Bouvery, N. and Rodolakis, A. (2005). Is Q fever an emerging or re-emerging zoonoses? Veterinary Research, 36(3): 327-349.
- Banazis, M.J., Bestball, A.S., Reid, S.A. and Fenwick, S.G. (2010). A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of *Coxiella burnetii*. Veterinary Microbiology, 143: 337-345.

- Berri, M., Arricau-Bouvery, N and Rodolakis, A. (2003). PCR based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples in: sachse K, Frey J. (Eds.), Methods in molecular biology. Humana press Inc, Totowa, New Jersey (NJ), 153-161.
- Bildfell, R.J., Thomas, G.W., Haines, DM., McEwen, B.J. and Smart, N. (2000). *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion by Modified acid-fast (MAF) & Immunohistochemical testing (IHC) in cases of bovine abortion. Journal Veterinary Diagnosis Investing, 12(5): 419-425.
- Capuano, F., Mancusi, A., Casalinuovo, F., Perugini, A., Proroga, Y., Guarino, A. *et al*., (2012). Real-time PCR-based detection of *Coxiella burnetii* in cheeses. European Food Research and Technology, 235: 1181-1186.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). (2015). Q fever. http://www.cdc.gov/qfever
- Cerf, O. and Condron, R. (2006). *Coxiella burnrtii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiology Infect, 134(5): 946- 951.
- Chin, J. (2000). Control of Communicable Diseases Manual. 17th edition, American Public Health Association, pp. 407- 410
- Contrevas, V., Mattar, S., Gonzalez,M., Alvarez, J. and Oteo, JA. (2015). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk and antibodies in fram workers at Monteria, Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 28(2): 181-187.
- Cutler, S.J., Bouzid, M. and Cutler, RR. (2007). Q fever. Journal Infection in New Zealand, 54(4): 313-318.
- David, W., Didier, R., Stephen, D. and Thomas, M. (2001). Rickettsia Mycoplasma and Chlamydia, Q fever, Harrisons Principles of Internal Medicine, pp. 1072-1073.
- Delsing, C.E. and Kullberg, B.J. (2008). Q fever in the Netherlands: a concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. Net Journal Medical, 66(9): 365-367.
- Ebrahimi, L., Khalili, M. and Abiri, Z. (2015). Investigation on the presrnce of antibody *Coxiella burnetii* in bulk milk. The 2nd National Conference on milk health from production to consumption and nutritional importance. Tehran Food and Drug Administration. Iran University of Medical Sciences. [In Persian]
- Eldin, C., Melenotte, C., Mediannikov, O., Ghigo, E., Million, M., Edouard, S. *et al*., (2017). From Q fever to *Coxiella burnetii* infection: a paradigm change. Clinical Microbiology Reverse, 30: 15-190.
- Fretz, R., Schaeren, W., Tanner, M. and Baumgartner, A. (2007). Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burneti*. Intrenational Journal food Microbiology, 116(3): 414 -418.
- Guatteo, R., Beaudeau, F., joly, A. and Seegers, H. (2006). Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows implications for detection and control. Veterinary Reserch, 37(6): 827-833.
- Guidi, F., Petruzzelli, A., Ciarrocchi, F., Duranti, A., Valiani, A., Amagliani, G. *et al*., (2017). Prevalence of *Coxiella burnetii* in cow's and ewe's bulk tank milk samples from selected dairy farms of Central Italy. Italian Journal of Animal Sience, 16(4): 673-676.
- Gulmez Saglam, A. and Sahin, M. (2016). *Coxiella burnetii* in samples from cattle hreds and sheep flocks. Veterinarni Medicina, 61: 17-22.
- Hatami, H. (2003). Clinical Epidemiology and control of diseases related to: Bioterrorism. (2th Edition), Ministry of Health and Maedical Education. Kerman University of Medical Science, Center for Diseases Management, pp. 277-293. [In Persian]
- Hilbert, A., Andres, T., Werner, R., Wehr, R., Frohlich, A., Conraths, F.J. *et al*., (2015). Detection of *Coxiella burnetii* in dairy cattle bulk tank milk and single tank milk samples. Berliner and Munchener tierarztliche Wochenschrift, 128: 271-277.
- Hirai, A., Kaneko, S., Nakama, A., Ishizaki, N., Odagiri, M., Kai, A. *et al*., (2005). Investigation and Detection of *Coxiella burnetii* contamination in commercial milk and egg. Shokhin Eiseigaku

Zasshi, 46: 86-92.

- Kargar, M., Rashidi, A., Doosti, A., Ghorbani Dalini, S. and Najafi, A. (2012). Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk samples. Article in Comparative Clinical pathology, 22(3): 1406-1409. [In Persian]
- Kazemeini, H.R. (2018). Evaluation of Prevalence of *Coxiella burnetii* in cow's milk producted in Iran by two method Nested PCR & Real- time PCR. First International Conference on New Technology in Science in Amol.
- Khademi, P., Mahzonieh, M.R. and Esmaeili Kotahmer, M. (2015). Genomic Detection of *Coxiella burnetii* in cattle milk samples. Arak Medical University Journal, 18(4): 49-57. [In Persian]
- Kim, S.G., Kim, E.H., Lafferty, CJ. and Dubovi, E. (2005). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples from driry cattle. Emerging Infectious Diseases, 11(4): 619-621.
- Lang, G.H. (1990). *Coxiellosis* (Q fever) in anmals, CRC press, Boca Raton, Florida, pp. 23-48.
- Marrie, T and Raoult, D. (1997). Q fever a review and issues for the next centry. International Journal Antimicrobial Agent, 8(3): 145-161.
- Maurin, M and Raoult, D. (1999). Q fever. Clinical Microbiolgy Review, 12: 518-553.
- Nokhodian, Z., Ataei, B., Moradi, A., Yaran, M., Gaffari Hoseini, S., Feizi, A. *et al*., (2017). Seroprevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* infection among high-risk population, a neglected health problem. Acta Tropica, 169: 107-111. [In Persian]
- Parker, N.R., Barralet, JH. and Bell, AM. (2006). Q fever. Lancet, 367(9511): 679-688.
- Pexara, A., Solomakos, N. and Govaris, A. (2018). Q fever and prevalence of *Coxiella burnetii* in milk. Trends in Food Science & Technology, 71: 65-72.
- Rad, M.A. (2010). Common human and university diseases. Jahad University Press, (Tehran University Press Publishing House), pp. 71-75. [In Persian]
- Rahimi, E., Amrei, M., Karim, G. and Doosti, A. (2011). Prevalence of *Coxiella burnetii* bulk in milk sample from dairy bovine, ovine, caprine, and camel herds. Foodborne Pathogens and Disease, 8: 307-310. [In Persian]
- Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E and Sharifian, B. (2009). Detection of *Coxiella burnetii* in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds. Zoonoses Public Health, 57: 38 -41 .[In Persian]
- Rahimi, E.,Torki Baghbadorani, Z. and Doosti, A. (2010). An assay to determine the seasonal prevalence of *Coxiella burnetii* in cow milk using. Journal of Microbial World, 3(1): 56-62. [In Persian]
- Raoult, D. (1996). Q fever: still a query after all these years. Journal Medical Microbiology, 44: 77-78.
- Rodolakis, A., Berri, M., Hechard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, C.C. *et al*., (2007). Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. Journal of Dairy Science, 90: 5352-5360.
- Sakhaee, E. and Khalili, M. (2010). The first prevalence serologic of Q fever from sheep. Tropical Animal Health Product, 42: 1561-1564 [In Persian].
- To, H., Htwe, K.K., kako, N., Kim, H.J., Yamaguchi, T., Fukushi, H. *et al*., (1998). Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders. The Journal of Veterinary Medical Science, 60: 859-861.
- Zoghi, A. (1994). Bacterial, Rickettsial and Mycotic Zoonoses. (Translation). Authors: Steele, H.J. 2nd edition, Tehran University Jihad Publications, pp. 511-532. [In Persian]
- Zhang, G.Q., Nguyen, S.V., To, H., Ogawa, M., Hotta, A., Yamaguchi, T. *et al*., (1998). Clinical evalution of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum sample. Journal Clinical Microbiology, 36(1): 77-80.