zoonosis.ir

بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مقاله کوتاه

بررسی میزان شیوع باکتری *کوکسیلا بورنتی* در نمونه های شیر خام و پنیر محلی گوسفندی عرضه شده در شهرستان فارسان از توابع استان چهارمحال بختیاری به روش PCR

عبدالجلیل ریگی*، مائده سجادیان، عیسی عباسی بیرگانی، مهدی بهمن دهکردی، مجتبی زنگنه، هلن حنایی اهواز

گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول:** rigi.jalil@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۱/۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۱/۳۰

چکیده

تب کیو در انسان بیماری بدون علامت و خود محدود شونده است و معمولا نیازی به درمان ندارد. با این وجود تب کیو بیماری مزمنی است که برای درمان طولانی مدت به آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز دارد زیرا عفونت می‌تواند به اندوکاردیت یا هپاتیت گرانلوماتوز تبدیل گردد. از آنجایی که این بیماری یکی از بیماری‌های باکتریایی زئونوتیک می‌باشد و احتمال انتقال آن از محصولات دامی به انسان خصوصا محصولات لبنی خام و فراوری شده محلی وجود دارد این مطالعه طراحی و انجام شد. در این بررسی تعداد ۲۰ نمونه شیر و ۲۰ نمونه پنیر محلی تهیه شده از شیر گاو در شهرستان فارسان، استان چهار محال بختیاری اخذ گردید و پس از استخراج DNA بررسی ژنوم باکتری *کوکسیلا بورنتی* با روش PCR انجام شد. از تعداد ۲۰ نمونه DNA استخراج شده شیرخام و از تعداد ۲۰ نمونه DNA استخراج شده از نمونه‌های پنیر هیچ ژنومی برای *کوکسیلا بورنتی* ردیابی نشد. علی رغم ردیابی نشدن ژنوم این باکتری در مطالعه حاضر در شهرستان فارسان امکان حضور این باکتری و یا انتقال آن توسط جابه‌جایی دام‌های آلوده به ظاهر سالم امکان پذیر است.

کلمـات کلیدی: *کوکسیلا بورنتی*، تب کیو، PCR

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]

مقدمه

کوکسیلا بورنتی عامل بیماری تب Q است که جزء بیماری‌های مشترک بین انسان و دام می‌باشد و با خطر آلودگی از طریق تنفس ذرات آئروسل آلوده همراه است (۱). *کوکسیلا بورنتی* یک کوکو باسیل گرم منفی اجباری داخل سلولی است. یک بیماری زئونوز با پراکندگی جهانی است (۲). کنه‌ها مخازن اولیه *کوکسیلا بورنتی* (*Coxiella burnetii*) و مسئول انتشار عفونت در بین حیوانات وحشی و اهلی می‌باشند و گاو، گوسفند و بز به عنوان منابع اصلی و ناقلین بدون علامت این پاتوژن به انسان‌ها گزارش شده (۳). گونه‌های حیوانی زیادی به این عفونت حساس‌اند اما در نشخوارکنندگان بیشتر شایع است (۴) 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* هستند. حیوانات آلوده به 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 راه های دفع *کوکسیلا بورنتی* به محیط شیر دام‌های آلوده می‌باشد (۵). عامل بیماری تب کیو از طریق ذرات آئروسل، کنه‌های خون‌خوار یا از راه غذایی وارد شده و به ماکروفاژهای میزبان متصل و واردشان می‌شود. *کوکسیلا بورنتی* در داخل سلول ساختار خاصی به نام واکئول‌های انگلی را توسط فاگوسیتوز درست می‌کند بنابراین درون سلول زنده باقی می‌ماند (۶). در طول یک دوره از سال ۲۰۱۵ تا ۲۰۱۹ تعداد کیس‌های بیماری تب کیو در اتحادیه اروپا از ۸۲۲ تا ۹۵۰ عدد در سال معادل ۰/۱۹کیس در جمعیت ۱۰۰ هزار نفره بوده است (۷) داده‌های اندکی از عفونت تب کیو قطعا ثابت می‌کند که این بیماری از طریق شیر غیر پاستوریزه و محصولات لبنی آلوده انتشار پیدا می‌کند. بیماری در هر دو جامعه روستایی و شهری اتفاق می‌افتد، لیکن بخش وسیعی از موارد در بین افراد شاغل در صنعت دامپروری از جمله پرورش دهندگان حیوانات، شیردوشان، کارگران کشتارگاه، کارکنان صنایع لبنی و شاغلین کارخانه‌های چرم، روغن و صنایع نقل و انتقال حیوانات اتفاق می‌افتد (۸). تب کیو در انسان بیماری بدون علامت و خود محدود شونده است و معمولا نیازی به درمان ندارد. با این وجود تب کیو بیماری مزمنی است که برای درمان طولانی مدت به آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز دارد زیرا عفونت می‌تواند به اندوکاردیت یا هپاتیت گرانلوماتوز تبدیل گردد. علاوه بر آن عفونت با *کوکسیلا بورنتی* می‌تواند منجر به سقط جنین و مرده‌زایی در خانم‌های آبستن گردد، همچنین به عنوان یک عامل سرطان‌زا در گروه B عوامل سرطان‌زا طبقه بندی شده است (۸). به طور خلاصه کیفیت شیر و محصولات شیر فاکتورهای گوناگونی مانند سلامت حیوان، کیفیت میکروبی شیر و تکنیک‌های فرآوری محصولات غذایی بستگی دارد. مطالعات اولیه بر شیوع *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای شیری بیشتر بر اساس آزمایشات سرولوژیک بوده و در تعداد کمی از مطالعات برای جستجوی این میکروارگانیسم بیماری‌زا از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) استفاده شده است (۹). اگر چه مطالعات محدودی در ایران میزان شیوع آلودگی شیر و محصولات شیر به این پاتوژن را حدود شش درصد نشان می‌دهد. با توجه به اهمیت این موضوع، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام و پنیر محلی با روش واکنش زنجیره پلی مراز (PCR) در شهرستان فارسان در استان چهارمحال بختیاری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]

در این بررسی تعداد ۲۰ نمونه های شیر و ۲۰ نمونه پنیر محلی گوسفندی تهیه شده از شیر گاو در شهرستان فارسان، استان چهارمحال بختیاری اخذ گردید. این تعداد نمونه‌ها از گاوهای به ظاهر سالم و در ظرف سترون در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند(۵) .به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها از روش Berri و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد. 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. DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای بررسی حضور DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها از واکنش زنجیره ای پلی مراز آشیانه ای (Nested PCR) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن coml که کدکننده 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 برای انجام PCR مرحله اول غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. پنج میکرولیتر DNA الگو نانوگرم DNA الگو در هر واکنش ۵/۰ میلی مولار MgCl (میکرومول از هر پرایمر پرایمرهای OMPI-(OMP2، ۵/۰ واحد آنزیم DNA پلی مراز Ting و ۲۰۰ میکرومولار dNTPs Mix سپس دو تا سه قطره روغن معدنی سترون برای جلوگیری از آلودگی و تبخیر، به 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 چهار دقیقه ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ درجه سانتی‌گراد هر یک به مدت یک دقیقه و در ادامه مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت پنج 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 دو میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول می‌باشد که به نسبت یک 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 - MP1 0MP2 و OMP3-OMP4 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز می‌باشد در این، مطالعه کنترل مثبت DNA ژنومی *Coxiella burnetti* استاندارد (Genekam Biotechnology ;3154 :Duisburg, Germany Serial Number) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به جای DNA آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد. سپس داده‌های حاصل به کمک نسخه شانزدهم نرم افزار SPSS Inc., Chicago, IL SPSS و آزمون مربع،کای، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند مرز معنی داری در p <۰/۰۵ تعیین گردید.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در جستجوی *کوکسیلا بورنتی* در شیرخام گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای. هدف تکثیر و مشاهده محصول PCR مرحله دوم است که ۴۳۸ جفت باز می‌باشد.

نام پرایمر	توالی	وزن‌محصول (bp)
OMP1	5'-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-3'	501
OMP2	5'-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G-3'	
OMP3	5'-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC-3'	438
OMP4	5'-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG-3'	

نتـایج

از تعداد ۲۰ نمونه DNA استخراج شده شیر و ۲۰ نمونه DNA استخراج شده از پنیر محلی در این پژوهش هیچ نمونه مثبتی برای *کوکسیلا بورنتی* ردیابی نشد.

بحث

از آنجایی که *کوکسیلا بورنتی* عامل بیماری تب کیو و جزء بیماری‌های مهم زئونوتیک می‌باشد تحقیقات گوناگونی بر روی این باکتری‌ها انجام شده است. در سال ۲۰۱۷ شیوع تب کیو در میان کارکنان صنایع لبنی در دو ناحیه در جنوب کشور شیلی گزارش شد که پیرو آن مطالعه‌ای به منظور بررسی حضور *کوکسیلا بورنتی* در تانک‌های حمل شیر خام از فارم‌های درگیر در شیوع تب کیو گزارش شده انجام گرفت. در این بررسی *کوکسیلا بورنتی* در دو نمونه (۱/۲درصد) از ۱۰۵ نمونه آنالیز شده با تکنیک Real-Time PCR ردیابی شد (۱). در مطالعه‌ای در شهرکرد در بررسی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در ۵۰ نمونه از ۵۰ مخزن شیر گاو که در دو فصل زمستان و بهار جمع‌آوری گشت، مجموع ۱۶ نمونه مثبت بود (۱۰). کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲ ، تعداد ۱۰۰ نمونه‌ی تهیه شده از شیر گاو را در شهرستان جهرم بررسی کردند که میزان شیوع آلودگی را ۱۱ درصد گزارش نموده اند (۱۱). رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی ۲۴۷ نمونه شیر از ۱۸۶ گله گاو شیری در استان اصفهان میزان شیوع آلودگی را ۲/۳درصد (هشت مورد) گزارش نمودند (۱۲). از مطالعات فوق مشخص می‌شود که شیر خام و محصولات لبنی می‌تواند جزء مخازن بالقوه انتقال آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در مناطق مختلف باشد اما در مطالعه حاضر در هیچ یک از نمونه ها ژنوم *کوکسیلا بورنتی* ردیابی نشد.

نتیجه‌گیری کلـی و پیشنهادها

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]

علی‌رغم ردیابی نشدن ژنوم این باکتری در مطالعه حاضر در شهرستان فارسان امکان حضور این باکتری و یا انتقال آن توسط جابه‌جایی دام‌های آلوده به ظاهر سالم امکان پذیر است.

تقــدیر و تشــکر

از تمامی کسانی که در جمع‌آوری نمونه همکاری کردند سپاسگزاریم.

تعارض منافع

هیچ‌گونه تضاد منافعی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

فهرست منابع

[1]. Cornejo, J., et al.(2020), Identification of Coxiella burnetii in tank raw cow milk: first findings from Chile. VectorBorne and Zoonotic Diseases,. 20(3): p. 228-230. https://doi.org/10.1089/vbz.2019.2535.

[2]. Keshavamurthy, R., et al. (2019), Prevalence of Coxiella burnetii in cattle and buffalo populations in Punjab, India. Preventive veterinary medicine,. 166: p. 16-20. https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.03.003.

[3]. Kim, S.G., et al. (2005), Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. https://doi.org/10.3201/eid1104.041036.

[4]. Banazis, M.J., et al. (2010), A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of Coxiella burnetii. Veterinary microbiology,. 143(2-4): p. 337-345. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.12.002

[5]. Kim, S.G., et al. (2005), Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. Emerging infectious diseases,. 11(4): p. 619. https://doi.org/10.3201/eid1104.041036.

[6]. Maurin, á. and D.f. Raoult.(1999), Q fever. Clinical microbiology reviews,. 12(4): p. 518-553. https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.518.

[7]. Authority, E.F.S., L.C. (2021).Cabrera, and P.M. Pastor, The 2019 European Union report on pesticide residues in food. EFSA Journal,. 19(4). https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6491.

[8]. Kirkan, Ş., et al. (2008), Detection of Coxiella burnetii in cattle by PCR. Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences,. 32(3): p. 215-220.

[9]. Cerf, O. and R. Condron.(2006).Coxiella burnetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiology & Infection,. 134(5): p. 946-951. https://doi.org/10.1017/S0950268806005978.

[۱۰]. کریمیان,(۲۰۱۶) ,جستجوی ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های مخزن شیر گاو در شهرکرد. نشریه پژوهنده,۵۲-۱.

[11]. Kargar, M., et al. (2013)., Prevalence of Coxiella burnetii in bovine bulk milk samples in southern Iran. Comparative clinical pathology,. 22(3): p. 331-334. https://doi.org/10.1007/s00580-012-1406-9 . [In Persian]

[12]. Rahimi, E., et al. (2011). Prevalence of Coxiella burnetii in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, caprine, and camel herds in Iran as determined by polymerase chain reaction. Foodborne pathogens and disease,. 8(2): p. 307-310. https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0684. [In Persian]

"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws". This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited Copyright © 2023 Zoonosis.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]

Short Communication Article

Investigating the prevalence of *Coxiella burnetii* in raw milk and local sheep cheese samples supplied in Farsan City of Chaharmahal Bakhtiari province by PCR method

Rigi A*, Sajadin M, Abbasibirgani E, Bahmandehkordi M, Zangeneh M, Hanaieahvaz H
Food Hygiene Department, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

***Corresponding author:** rigi.jalil@gmail.com

Received: 2023/04/19 Accepted: 2023/04/04

Abstract

Q fever in humans is an asymptomatic and self-limiting disease and rarely requirestreatment. However, Q fever is a chronic disease that requires antibiotics for long-term treatment because the infection can turn into endocarditis or granulomatous hepatitis. Since this disease is one of the zoonotic bacterial diseases and there is a possibility of its transmission from animal products to humans, incredibly raw and locally processed dairy products, this study was designed and conducted. This study obtained 20 samples of milk and 20 samples of local cheese prepared from cow's milk in Farsan City, Chahar Mahal Bakhtiari province. After DNA extraction, the genome of *Coxilla burnetii* was analyzed by PCR method. No genome for Coxiella burnetii was detected 20 raw milk DNA samples and from 20 cheese samples. Although the genome of this bacterium was not detected in the present study in Farsan City, this bacterium can bepresent or transmitted by moving infected and healthy animals.

Keywords: Coxiella burnetii, Q fever, PCR

How to cite this article: Rigim A,Sajadin M, Abbasibirgani E, Bahmandehkordi M, Zangeneh M, , Hanaieahvaz H. Investigating the prevalence of Coxiella burnetii in raw milk and local sheep cheese samples supplied in Farsan City of Chaharmahal Bakhtiari province by PCR method. Journal of Zoonosis. 2023; 3 (1): 12-17.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2026-06-13]