zoonosis.ir

بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

مقاله پژوهشی

بررسی میزان شیوع سرمی و مولکولی *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای سقط کرده گاوداری صنعتی زاگرس شهرکرد به روش الایزا و PCR

محمد عباسیان [۱]، تقی تکتاز هفشجانی [۲*]، حسن ممتاز [۳]

۱. واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲. استادیار واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۳. استادتمام واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

***نویسنده مسئول:** taghi_taktaz@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۴/۰۵ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۵/۱۰

چکیده

تب کیو از بیماری‌های مشترک (زئونوز) با انتشار جهانی می‌باشد که به وسیله یک ریکتسیای داخل سلولی به نام *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود. هدف از این مطالعه، بررسی میزان شیوع سرمی و مولکولی *کوکسیلا بورنتی* در گاوهای سقط کرده گاوداری صنعتی زاگرس شهرکرد به روش الایزا و PCR بود. به این منظور از مهر ماه ۱۳۹۵ تا تیر ماه ۱۳۹۶ از ۹۶ رأس گاو با سابقه سقط در گاوداری که حداقل دو ماه از سقط آن‌ها گذشته بود نمونه سرم تهیه شد. همچنین تعداد ۷۲ نمونه شیر شامل ۲۰ نمونه از شیر تانک مخزن که به فاصله هر دو هفته یکبار، و ۵۲ نمونه شیر انفرادی از همان گاوهایی که سرم خون آنها اخذ گردید، گرفته شد. برای شناسایی آنتی بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* در سرم خون از کیت تشخیصی الایزا و همچنین جهت ردیابی جرم *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر از روش مولکولی (Nested-PCR) استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان شیوع کلی آلودگی *کوکسیلا بورنتی* در گاوداری صنعتی زاگرس استان چهار محال و بختیاری به روش الایزا ۴۱/۶درصد (۴۰ نمونه مثبت) و میزان شیوع مولکولی به روش PCR در شیر تانک مخزن پنج درصد (یک نمونه مثبت) و میزان شیوع مولکولی به روش PCR در نمونه‌های شیر انفرادی ۲۳/۰۷درصد بود. نتایج این مطالعه نشان داد که تب کیو در استان چهارمحال و بختیاری دارای شیوع بالا و احتمالاً اندمیک است و گاوهای به ظاهر سالم می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش داشته باشند.

کلمات کلیدی: کوکسیلوزیس (تب کیو)، سقط، الایزا، PCR، شیر گاو.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

مقدمه

کوکسیلا بورنتی عامل یک بیماری مشترک بین انسان و دام است. بیماری حاصل از آلودگی با آن در انسان، تب کیو و در حیوانات *کوکسیلوزیس* نامیده می‌شود (۱).

کوکسیلا بورنتی بیشتر در نشخوارکنندگان وجود دارد، اما می‌تواند از حیوانات وحشی و حیوانات خانگی نیز جداسازی شود.کنه‌ها ناقل بیماری هستند و *کوکسیلا بورنتی* می‌تواند از طریق مدفوع، ادرار و شیر در حیوانات آلوده دفع شود (۲). عفونت در انسان‌ها غالبا در کسانی که در تماس با گاو، گوسفند و بز هستند، رخ می‌دهد و اغلب انسان‌ها در مقابل بیماری بسیار حساس هستند و با ورود تعداد اندکی باکتری به بدنشان از راه تنفسی و استنشاق ذرات آلوده بیمار می‌شوند (۳).

انتقال ارگانیسم از سه راه تنفسی (ائروسل‌های تنفسی)، گوارشی (خوردن لبنیات آلوده) و پوستی (گزش کنه) است. حیوانات وحشی و چهارپایان (بز، گوسفند، گاو و...) مخزن اولیه و طبیعی باکتری هستند. و حیوانات خانگی (سگ و گربه و ...) مخزن ثانویه می‌باشند (۴). این بیماری توسط بندپایانی مانند کنه و ساس، شپش، کک، مگس و پشه انتقال می‌یابد (۴و۵). انتقال از حیوان به انسان معمولا با انتقال ذرات تنفسی از مایع آمینوتیک یا جفت، همچنین پشم یا مو یا مواد منتقل شده با فضولات وابسته به آن نیز رخ می‌دهد (۶). پس با توجه به اهمیت اقتصادی و بهداشتی این بیماری و افزایش وقوع این بیماری بر اساس گزارش‌های به دست آمده از نقاط مختلف کشور و دنیا بر آن شدیم تا میزان شیوع آن را در گاوداری صنعتی شهرکرد به روش PCR و ELISA بررسی کنیم.

مواد و روش‌ها

جمع آوری نمونه ها

در این مطالعه که در گاوداری صنعتی زاگرس شهرکرد انجام شد، در فاصله مهرماه ۹۵ تا تیرماه ۹۶، تعداد ۹۶ نمونه خون از گاوهایی با سابقه سقط که دو ماه از سقط آن‌ها گذشته بود، وهمچنین تعداد ۷۲ نمونه شیر شامل: ۲۰ نمونه از شیرتانک مخزن که به فاصله هر دو هفته یکبار اخذ شده بود، و ۵۲ نمونه شیر انفرادی به طور تصادفی از همان جمعیت گاوهای سقط کرده (۹۶ راس) که سرم خون آنها اخذ شده بود،گرفته شد.

نمونه‌های خون پس از ضد عفونی محل ورید وداج، به کمک سرنگ‌های ۱۰ سی‌سی استریل انجام شد ونمونه‌ها درون لوله‌های یکبار مصرف نگه‌داری شدند. پس از لخته شدن نمونه‌های خون، در کنار یخ به آزمایشگاه بیمارستان دامپزشکی دانشگاه ارسال شدند و سپس با سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه و به مدت هشت دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم خون‌ها پس از جدا شدن در میکروتیوب‌ها در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان تکمیل جامعه‌ی آماری فریز شدند تا بعدا به روش الایزا مورد بررسی قرار گیرند.۵۲ نمونه شیر انفرادی نیز در شرایط استریل در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شد همچنین ۲۰ نمونه شیر تانک مخزن گاوداری هر دو هفته یکبار تحت شرایط استریل داخل سرنگ ۲۰ سی‌سی، در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های شیر نیز به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند سپس خامه روی نمونه‌ها دور ریخته شد و از رسوب انتهای لوله برای تست مولکولی جدا سازی به عمل آمد.

انجام روش PCR و تخلیص DNA

قبل از انجام کار، نمونه‌های شیر در دور ۴۰۰۰ و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند سپس مایع رویی یا همان سرم شیر دور ریخته شد و از رسوبات ته لوله برای تخلیص DNA استفاده شد.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

به منظور استخراج DNA از رسوبات جدا شده از نمونه‌های مورد مطالعه از روش فنل-کلروفرم استفاده شد. برای این منظور ۲۵۰ میکرولیتر بافر لیز کننده (Nacl EDTA , SDS , Proteinase K , Tris-Hcl) به مقدار ۲۵۰ میکرولیتر از هر نمونه اضافه و به مدت دو-سه ساعت در دمای ۵۷ درجه سانتی گراد قرار داده شد. به ۵۰۰ میکرولیتر نمونه لیز شده مرحله قبل مقدار ۲۵۰ میکرولیتر فنل، ۲۴۰ میکرولیتر کلروفرم و ۱۰ میکرولیتر ایزوآمیل الکل اضافه و به مدت ۳۰ ثانیه ورتکس گردید. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور سانتریفوژ و فاز آبی (رویی) با دقت جدا و به یک تیوب جدید انتقال داده شد. هم حجم فاز آبی جدا شده (حدوداً ۴۰۰ میکرولیتر) اتانول مطلق سرد اضافه و بعد از ۱۰ ثانیه ورتکس به مدت ۱۰ دقیقه در ۷۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید (در این مرحله DNA به شکل یک نقطه سفید رنگ در انتهای تیوب رسوب می‌کند). رسوب حاصله با اضافه کردن ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول ۷۵ درصد سرد شست و شو داده شد، بعد از وارونه گذاشتن تیوب‌ها و خشک شدن رسوب، DNA در ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر DNase free حل گردید. جهت انجام PCR از پرایمرهای معرفی شده با توالی‌های جدول ۱ استفاده شد (۷).

جدول ۱. توالی‌های پرایمرهای استفاده شده

Protocol	Sequence	Gene	Size (bp)
Trans PCR		IS1111	687
Trans 1	TATGTATCCACCGTAGCCAGT		
Trans 2	CCCAACAACACCCTCCTTATTC		
Nested PCR		IS1111	203
261F	GAGCGAACCATTGGTATCG		
463R	CTTTAACAGCGCTTGAACGT		

جهت انجام آزمایش Nested PCR، واکنش PCR در دو مرحله انجام گرفت:

مرحله اول با استفاده از زوج پرایمرهای Trans1 و Trans2 در حجم ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10X، سه میلی مول Mgcl2، ۲۰۰ میکرومول dNTP mix، ۵/. میکرومول از زوج پرایمرهای فوق اولیه آنزیم Tag DNA Polymerase و دو میکرولیتر از DNA مربوط به هر نمونه تنظیم شد.

برنامه حرارتی مورد استفاده عبارت بود از:

مرحله اول:یک سیکل ۹۵ درجه پنج دقیقه، پنج سیکل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، یک سیکل ۶۱ تا ۶۶ درجه یک دقیقه، یک سیکل ۷۲ درجه یک دقیقه، ۳۵ سیکل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، یک سیکل ۶۱ درجه ۳۰ ثانیه، یک سیکل ۷۲ درجه یک دقیقه، و در آخر یک سیکل ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه. وجود قطعه ۶۷۸ جفت باز در این واکنش نشانگر مثبت بودن نمونه در مرحله اول آزمایش بود. دومین واکنشPCR در حجم ۲۵ میکرولیتر واجد ۲/۵ میکرولیتر PCR buffer 10X، ۱/۵ میلی مول Mgcl2، ۱۵۰ میکرومول dNTP mix، ۰/۵ میکرومول از زوج پرایمرهای 261F و 463R، یک واحد آنزیم Tag پلی مراز و یک میکرولیتر از محلول PCR مثبت مرحله قبل انجام شد.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

مرحله دوم:یک سیکل ۹۵ درجه سه دقیقه، ۳۵ سیکل ۹۴ درجه ۳۰ ثانیه، یک سیکل ۵۰ درجه ۴۵ ثانیه، یک سیکل ۷۲ درجه یک دقیقه و در آخر یک سیکل ۷۲ درجه ۱۰ دقیقه استفاده شد. در این مرحله وجود قطعه ۲۰۳ جفت بازی نشانگر مثبت بودن نمونه در آزمایش Nested-PCR بود.

الکتروفورز

جهت ارزیابی کیفی و کمی DNA تخلیص شده از هر نمونه ، از ژل آگاروز یک درصد استفاده شد. بعد از اتمام زمان الکتروفورز (حدودا نیم ساعت) توسط دستگاه تصویر بردار از ژل، عکس مربوطه بر روی کاغذ حساس به حرارت ثبت گردید.

انجام تست الایزا

انجام تست الایزا طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام پذیرفت. کیت الایزای استفاده شده در این تحقیق ساخت شرکت ID.vet فرانسه بود. این کیت بر اساس الایزای غیر مستقیم طراحی شده و در آن به عنوان آنتی ژن، از فاز I و II *کوکسیلا بورنتی* جدا شده از جفت یک گاو سقط کرده در فرانسه استفاده شده است. این کیت قادر به شناسایی آنتی بادی‌های ترشح شده ضد *کوکسیلا بورنتی* در سرم و پلاسمای انسان و گونه‌های مختلف حیوانات می‌باشد. مراحل مختلف آزمایش الایزا طبق توصیه شرکت سازنده انجام گرفت و میزان جذب نوری (OD) کنترل‌های مثبت و منفی و نمونه‌های سرمی مورد آزمایش در طول موج ۴۵۰ نانومتر توسط دستگاه قرائت کننده الایزا، قرائت و ثبت گردید. طبق دستور العمل شرکت سازنده کیت اگر مقدار (value) متوسط جذب نوری کنترل مثبت بیشتر از ۰/۳۵ و نسبت مقدار متوسط جذب نوری کنترل مثبت و کنترل منفی بیشتر از سه باشد، صحت انجام الایزا تایید می‌شود که در این صورت برای هر نمونه در صد S/P بر اساس تقسیم (جذب نوری کنترل منفی- جذب نوری نمونه) بر (جذب نوری کنترل منفی- جذب نوری کنترل مثبت) ضرب در ۱۰۰ محاسبه و تفسیر و نمونه‌های که در صد S/P آن‌ها بیش از ۵۰ بود مثبت تلقی شدند.

نتـــایج

نمونه سرم خون از نظر آنتی بادی علیه *کوکسیلا بورنتی* توسط تست الایزا و نمونه‌های شیر جهت ردیابی جرم *کوکسیلا بورنتی* توسط تست PCR مورد بررسی قرار گرفتند. از ۹۶ نمونه سرم،۴۰ نمونه مثبت (۴۱/۶درصد)، به روش الیزا و از ۲۰ نمونه شیر تانک مخزن،یک نمونه مثبت (۵ درصد)، به روش PCR و از ۵۲ نمونه شیر انفرادی ۱۲ نمونه مثبت (۲۳/۰۷)، به روش PCR آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* گزارش شد (جدول ۲).

همچنین در تحقیق انجام شده برای مقایسه نتایج دو آزمایش الایزا و PCR، ازتعداد ۹۶ گاوی که سابقه سقط داشتند، ۵۲ راس انتخاب گردید که علاوه بر نمونه سرم خون ، نمونه شیر انها نیز اخذ گردید،که به ترتیب در تست‌های الایزا و PCR قرار داده شدند. نتایج نشان داد که از ۵۲ نمونه سرم خون،۱۶ نمونه مثبت (۳۰/۷درصد)، و از ۵۲ نمونه شیر انفرادی انها، ۱۲ نمونه مثبت (۲۳/۰۷درصد) بودند (جدول ۳).

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

جدول۲. میزان شیوع سرمی و مولکولی آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* به روش الایزا و PCR در گاوهای سقط کرده گاوداری صنعتی استان چهارمحال و بختیاری.

نوع نمونه	تعداد نمونه ها	تعداد و درصد نمونه‌های مثبت	تعداد و درصد نمونه‌های منفی
خون (الایزا)	۹۶	۴۰(۴۱/۶درصد)	۵۶ (۵۸/۳۳ درصد)
شیر انفرادی (PCR)	۵۲	۱۲(۲۳/۰۷ درصد)	۴۰(۷۶/۹۲ درصد)
شیر تانک مخزن (PCR)	۲۰	۱(۵ درصد)	۱۹(۹۵ درصد)

جدول ۳. مقایسه تست الایزا و PCR در ۵۲ نمونه انفرادی خون و شیر

نوع نمونه	اشتراک الایزا و PCR	تعداد نمونه ها	تعداد و درصد نمونه‌های مثبت	تعداد و درصد نمونه‌های منفی
خون(الایزا)	۰	۵۲	۱۶(۳۰/۷ درصد)	۳۶(۶۹/۲۹ درصد)
شیر(PCR)	۰	۵۲	۱۲(۲۳/۰۷ درصد)	۴۰(۷۶/۹۲ درصد)

*با عدم وجود هیچ اشتراکی بین تست الایزا و PCR، ارجعیت همیشه با تست PCR می‌باشد.

بحث

تب کیو به عنوان یک زئونوز نوپدید و باز پدید در بسیاری از کشورها از جمله ایران مطرح است. اگرچه این بیماری جنبه شغلی داشته و در افرادی که در تماس با حیوانات و محصولات آن‌ها هستند فراوانی بیشتری دارد، اما با توجه به مقاومت بالای عامل بیماری‌زا در محیط و انتقال آن از طریق هوا امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد و امروزه به عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان به صورت طبیعی و غیر طبیعی (بیوتروریسم) مطرح می‌باشد (۸).

در مطالعه حاضر که در استان چهارمحال بختیاری در گاوداری صنعتی زاگرس شهرکرد انجام شده است، شیوع سرمی *کوکسیلوزیس* در گاوهای سقط کرده و همچنین ردیابی جرم *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاوهای سقط کرده و شیر تانک مخزن گاوداری بررسی شده است، که از ۹۶ نمونه سرم ۴۱/۶درصد به روش الایزا واز ۲۰ نمونه شیر تانک مخزن پنج درصد به روش PCR واز ۵۲ نمونه شیر انفرادی ۲۳/۰۷درصد به روش PCR آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* گزارش شد.

نتایج مطالعه مشابهی در سوئیس به وسیله فرتز و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان داد از ۳۵۹ نمونه شیر تانک مخزن گاو مورد مطالعه به روش PCR، ۱۷ نمونه (۴/۷درصد) آلوده به پاتوژن *کوکسیلا بورنتی* بوده است، این محققین عامل این درصد از آلودگی را در طول زمان در گله‌های گاو از مزارع اعلام کردند (۹).

طی بررسی که عریفو رحمان[1]و همکاران (۲۰۱۶) در بنگلادش بر روی ۱۱۱ نمونه شیر تانک مخزن و۹۴ نمونه سرم و ۲۳ پرده‌ی جنینی سقط شده گاو، گوسفند و بز انجام دادند. نمونه‌های شیر تانک مخزن و نمونه‌های سرم به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفتند که میزان شیوع سرمی تب کیو در گوسفند۹/۵۲درصد در بز ۳/۳۳درصد و در گاو ۳/۵۷ درصد بیان شد و از ۲۳ نمونه پرده‌های جنینی سقط شده فقط یک نمونه گوسفندی به روش PCR مثبت گزارش شد، همچنین دلیل آلودگی را در فصل خشک،که گاو چراندن آزادانه و در مرتع برای تقریبا شش ماه (دسامبر تا ماه مه) باقی می‌ماند. به عنوان یک عامل بسیار

1_ Arifur Rahman

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

مهم آلودگی گله در این دوره رخ می‌دهد .مخلوط کردن گاوها از صاحبان مختلف ممکن است باعث انتقال عفونت در گله‌های گاو شیر شود (۱۰).

نتایج این بررسی‌ها با نتایج بدست آمده از مطالعه ما روی شیر تانک مخزن تقریبا مشابه و هم راستا است. در مطالعه‌ای رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۹، هشت نمونه از ۲۴۷ نمونه شیر گاو در اصفهان مثبت بود (۳/۲ درصد) شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف سال متفاوت بود. بالاترین میزان وقوع در فصل زمستان مشاهده شد. در حالی که تمام ۶۵ نمونه تابستان منفی بود. 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 (۱۱).

کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲، ۱۰۰ نمونه تهیه شده از شیر گاو را در شهرستان جهرم به روش Nested-PCR بررسی کردند که میزان شیوع آلودگی را ۱۱ درصد گزارش نمودند (۱۲).

در مطالعه‌ای که اصغر کریمیان،محمدرضا محزونیه و همکاران در سال ۱۳۹۳، در مجموع ۵۰ نمونه شیر از مخزن شیر ۵۰ گاوداری سنتی به طور تصادفی جمع آوری و از نظر حضور *کوکسیلا بورنتی*،به روش Nested PCR مورد آزمایش قرار گرفت، که در مجموع ۱۶ نمونه از ۵۰ نمونه (۳۲درصد)، از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بود. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های فصل زمستان ۳۶درصد و در نمونه‌های فصل بهار ۲۸ درصد بود (۱۳).

همچنین در مطالعات خارج کشور در سال ۲۰۰۶،Akikko و همکاران در بررسی ۲۴۴ نمونه شیر جمع آوری شده از سوپرمارکت‌های توکیو با روشNested-PCR وجود *کوکسیلا بورنتی* را در ۱۳۱ نمونه ۵۳/۷ درصد نشان دادند (۱۴).

در سال ۲۰۱۱ Ryan و همکاران در جمهوری ایرلند، نمونه شیر مخزن ۲۹۰ گله گاو شیری را که به صورت تصادفی جمع آوری شده بودند از نظر وجود آنتی بادی ضد باکتری *کوکسیلا بورنتی* بررسی نمودند که در مجموع ۳۷/۹ درصد آنها مثبت بود (۱۵).

در مطالعه مشابهی که توسط Kim و همکاران طی یک دوره سه ساله از ژانویه ۲۰۰۱ تا دسامبر ۲۰۰۳ در ایالات متحده آمریکا روی ۳۱۶ نمونه شیر تانک مخزن از گله‌های گاو شیری انجام شد، شیوع *کوکسیلا بورنتی* را بسیار بالاتر و بیش از ۹۴درصد گزارش نمودند. این مطالعه نشان می‌دهد که عفونت در گله‌های شیری در سراسر ایالات متحده، مزمن و رایج است، و مصرف شیر خام با نرخ شیوع سرمی بالا مرتبط است. (۱۶). همچنین Muskens و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور هلند با بررسی نمونه شیر مخزن۳۴۱ گله گاو شیری به روش ELISA و Real-time PCR گزارش نمودند که نمونه شیر ۲۶۸ گله ۷۸/۶ درصد حاوی آنتی بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* و نمونه شیر ۱۹۳ گله ۵۶/۶ درصد حاوی این باکتری می‌باشد (۱۷).

مهم‌ترین دلایل اختلاف بین شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو در مناطق مختلف دنیا را می‌توان به گوناگونی موقعیت جغرافیایی، وضعیت مدیریت، چگونگی و نوع روش بررسی، نوع، تعداد و حجم نمونه‌های اخذ شده، فصل و نمونه‌گیری در گله‌های آلوده و غیر آلوده نسبت داد (۱۸و۱۹).

اختلاف مشاهده شده در مطالعات ایران نیز ممکن است به علت متفاوت بودن شرایط آب و هوایی مناطق باشد انتقال *کوکسیلا بورنتی* عمدتا از طریق آئروسل‌های آلوده انجام می‌گیرد، آئروسل در مناطق خشک و نیمه خشک ایران به علت از دست دادن آب و سبک شدن وزن، برای مدت طولانی در هوا معلق مانده و مسافت طولانی تری را طی کرده و موجب آلودگی می‌شود. ضمناً حجم نمونه و وضعیت مدیریت نیز میتواند در این اختلاف تأثیر داشته باشد.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

در استان چهارمحال و بختیاری به سبب وجود ارتفاعات قابل توجه و ذخایر آبی، رطوبت هوا در فصول پر بارش در شرایط نسبتاً مناسبی قرار دارد. وجود رطوبت بالا، باعث جذب آب به وسیله آئروسل‌ها و رسوب آنها می‌شود پس یکی از عوامل کاهش آلودگی است، با این حال با بالا بودن رطوبت در منطقه مورد بررسی نتیجه می‌گیریم که رطوبت اثر چندانی در کاهش درصد آلودگی نداشته است.

از آنجا که *کوکسیلا بورنتی* بسیار مقاوم است و می‌تواند چند هفته در طبیعت زنده بماند و توسط باد منتشر شود حتی الگوهای وزش باد ممکن است باعث تفاوت در انتشار ارگانیسم‌ها در جهت باد شود.سرعت وزش باد نیز در شهرستان شهرکرد بر اساس آمار و اطلاعات اداره کل هواشناسی، به طور متوسط ۸۶ کیلومتر بر ساعت است که می‌تواند از عوامل تاثیر گذار در میزان آلودگی باشد.

در این بررسی بالاترین میزان شیوع آلودگی در بین نمونه‌های جمع آوری شده در فصل زمستان بود. در مطالعه رحیمی و همکاران در سال ۱۳۸۹، روی ۲۴۷ نمونه شیر گاو در اصفهان نشان داد که شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف سال متفاوت بود، که بالاترین میزان وقوع در فصل زمستان مشاهده شد (۲۰). همچنین مطالعه لتیکاین و همکاران در سال ۱۹۹۸ در آلمان بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به *کوکسیلا بورنتی* را در طول فصول زمستان و بهار نشان می‌دهد (۲۱). احتمال می‌رود 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.

مطالعه حاضر نشان می‌دهد که شیوع عامل تب کیو در جمعیت گاو در استان چهارمحال و بختیاری نسبتاً قابل توجه می‌باشد. بنابر این به عنوان یکی از عوامل احتمالی مسبب سقط در گاو، توسط دامپزشکان و سیاست گذاران بهداشتی مورد توجه قرار گیرد. واکسیناسیون، عامل بسیار مهمی در پیشگیری و کنترل بیماری محسوب می‌گردد. کارایی واکسیناسیون دام‌ها در کنترل تب کیو در مطالعات محققین به اثبات رسیده است به طوری که کاربرد واکسن تب کیو باعث کاهش سقط و کاهش و یا قطع دفع باکتری از راه ترشحات شده است (۲۲و۲۳).

مطالعه در امریکا نشان می‌دهد که تست سرولوژیک *کوکسیلا بورنتی* در افرادی که از شیر خام استفاده نموده‌اند ۱۰/۷ درصد می‌باشد. اما این میزان در افراداستفاده کننده از لبنیات پاستوریزه ۰/۷ درصد گزارش گردید. همچنین نتایج مشابهی درانگلستان، بلغارستان، اسلوواکی، و اسپانیا گزارش شده است (۲۴و۲۵).

اگرچه این بیماری جنبه شغلی داشته و در افرادی که در تماس با حیوانات و محصولات آن‌ها هستند فراوانی بیشتری دارد، اما با توجه به مقاومت بالای عامل بیماری‌زا در محیط و انتقال آن از طریق هوا امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد و امروزه به عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان به صورت طبیعی و غیرطبیعی(بیوتروریسم) مطرح می‌باشد. Senay و همکاران در سال۲۰۰۵، در ترکیه ۹۲ سرم انسانی جمع آوری شده از کشاورزان، ۱۹/۵درصد از نظر وجود آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند (۲۶).

این مطالعه و سایر مطالعات پراکنده انجام شده در ایران نشان می‌دهد که عامل 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 آنفولانزا، بسیار دست کم گرفته شده است.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

نتیجه‌گیری کلـــی و پیشنهادها

در مطالعه حاضر که در استان چهارمحال بختیاری در گاوداری صنعتی زاگرس شهرکرد انجام شده است، شیوع سرمی *کوکسیلوزیس* در گاوهای سقط کرده و همچنین ردیابی جرم *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاوهای سقط کرده و شیر مخزن گاوداری بررسی شده است، که از ۹۶ نمونه سرم ۴۱/۶ درصد به روش الایزا واز ۲۰ نمونه شیر تانک مخزن پنج درصد به روش PCR واز ۵۲ نمونه شیر انفرادی ۰/۷ درصد به روش PCR آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* گزارش شد.

نتایج این مطالعه و مطالعات سال‌های اخیر نشان داد که تب کیو در استان چهارمحال و بختیاری دارای شیوع بالا و احتمالاً اندمیک است و گاوهای به ظاهر سالم می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش داشته باشند. با این وجود، انجام پژوهش‌ها و مطالعات تکمیلی با تعداد نمونه بیشتر برای بررسی دقیق آلودگی و عوامل تأثیر گذار بر آن و همچنین برای تعیین شیوه‌های مدیریت در جهت کاهش آلودگی ضرورت دارد.

تقـــدیر و تشـــکر

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]. Maurin, M. and Raoult, D. (1999). Qfever. Journal of Clincal Microbiology Revoiution. 12: 518-553. https://doi.org/10.1128/CMR.12.4.518

[2]. Kazemeini H, Asna Ashari E, Khoshbakht R. (2021) .Genomic Detection of Coxiella Burnetii in Raw Cow, Sheep and Goat Milk Samples Using PCR Assay and Two Types of Primers in Mazandaran Province, Iran: A Preliminary Study. Iranian J Nutr Sci Food Technol; 16 (3) :97-106.

[3]. Karami Mirazizi, H., POURMAHDI BORUJENI, M., Garibi, D., & Haji Hajikolaei, M. (2017). Serological survey of Q fever in goats and buffaloes in Ahvaz region using the ELISA method. Veterinary Clinical Pathology The Quarterly Scientific Journal, 11(1 (41) Spring), 25-35.

[4]. Rahravani M, Moravedji M, Mostafavi E, Mohammadi M, Seyfi H, Baseri N, Mozoun MM, Latifian M, Esmaeili S. (2022).The epidemiological survey of Coxiella burnetii in small ruminants and their ticks in western Iran. BMC Vet Res.;18(1):292. doi: 10.1186/s12917-022-03396-0. PMID: 35902914; PMCID: PMC9336079. https://doi.org/10.1186/s12917-022-03396-0

[5]. Howe, D. and mallavia, L.P. (2000). Coxiella burnetii exhibits morphologival change and delays Phagolysosomal fusion after internalization by J774A.1 Cells.infect immune. 68(7):3815. https://doi.org/10.1128/IAI.68.7.3815-3821.2000.

[6]. Bashiribod, H., Rahbarian, N., Eslami, G., Kazemi, B., Jannatsharif, E. and Mahmoudirad, M. (2003-4). [Prevalence of Coxiella burnetii in Human,Animal host and hard ticks in west Mazandaran Province Iran,2003-4] Pejouhesh. 32:253-7.[Persian].

[7]. Shahrbabaki, F.B., A Rezaei, M., Khalili, M., Abiri, Z.(2018). Detection of C. burnetii in Uterine Samples Collected from Referred Dogs to the Veterinary Hospital of Shahid Bahonar University of Kerman by Nested Trans-PCR. Acta Vet Eurasia 44: 26-30. https://doi.org/10.5152/actavet.2018.006

[8]. Pape, M., Bouzalas, E.G., Koptopoulos, G.S., Gandraveli, K., Arvanitidou-Vagiona, M., Nikolaidis, P. and Alexio-Daniel, S. (2009). The serological prevalence of Coxiella burnetii antibodies in sheep and goat in northen Greece. Clin Microbiol Infect. 15(suppt2): 146-47. https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2008.02159.x

[9]. Fertz, R., Schaeren, W., Tanner, M. and Baumgartner, A. (2007). Screening of various Foodstuffs for Occurrence of Coxiella Burnetii in Switzerland. International Journal of Food Microbiology. 116:919-418. https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.03.001

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]

[10]. Arifur Rahman, M.D., Fazlul Haque Bhuiyan, A.K. and Anisur Rahman, A.K.M. (2016). Serological and molecular evidence of Q fever in domestic ruminant in Bangladesh. Veterinary medicine international. Article ID 9098416, 7. https://doi.org/10.1155/2016/9098416

[11]. Rahimi, E., Torki Baghbadorani, Z., & Doosti, A. (2010). An assay to determine the Seasonal Prevalence of Coxiella burnetii in Cow Milk Using Nested PCR. Journal of Microbial World, 3(1), 56-62.

[12]. Karegar, M., Rashidi, A. and Doosti, A. (2013). Prevalence of Coxiella burnetii in bovine bulk milk samples in southern Iran. Comparative Clinical Pathology. 22: 331-334. https://doi.org/10.1007/s00580-012-1406-9

[13]. Karimian, A., Mahzounieh, M. and Ebrahimi Kahrizsangi, A. (2016). Genomic detection of Coxiella burnetii in bulk tank milk samples by nested- PCR method in Shahrekord,Iran.Pajoohandeh Jornal. 21(1):52-57

[14]. Akikko, H., Naoto, I. and Megumi, O. (2006). Detection of coxiella burnetii contamination in commercial milk and PCR method for the detection of Coxiella burnetii in egg, Japan. Journal of clinical microbial. 44: 790-795.

[15]. Ryan, E., Kirby, M. and Collins, D. (2011). Prevalence of Coxiella burnetii antibodies in bovine serum and bulk-milk samples. Journal of Epidemiology and Infection. 139:1413-1417. https://doi.org/10.1017/S0950268810002530

[16]. Kim, S., Kim, E. and Lafferty, C. (2005). Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. Journal of Emerging Infectious Diseases. 11: 619-621. https://doi.org/10.3201/eid1104.041036

[17]. Muskens, J., Engelen, E. and Maanen, C. (2011). Prevalence of Coxiella burnetii infection in Dutch dairy herds based on testin bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. Veterinary Record. 168: 79. https://doi.org/10.1136/vr.c6106.

[18]. Rodolakis, A., Berri, M. and Hechard, C. (2007). Comparison of Coxiella burnetii shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. Journal of Dairy Science. 90: 5352-5360. https://doi.org/10.3168/jds.2006-815

[19]. Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A. and et al. (2007). Assessing the within-herd prevalence of Coxiella burnetii milkshedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. Zoonoses Public Health. 54: 191-194. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2007.01043.x

[20]. Rahimi, E., Ameri, M. and Karim, G. (2011). Prevalence of Coxiella burnetii in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, carpine, and camel herds in Iran as determined by polymerase Chaina reaction. Foodborne Pathogens and Disease. 8: 307-310. https://doi.org/10.1089/fpd.2010.0684

[21]. Lyytikainen, O., Ziese, T. and Schwartlander, B. (1998). An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. European Journal of Epidemiology. 14: 193-199. https://doi.org/10.1023/A:1007452503863

[22]. Angelakis, E. and Raoult, D. (2010). Q fever. Journal of Veterinary Microbiology. 140: 297-309. https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2009.07.016.

[23]. Gefenaite, G., Munster, R. and Hak, E. (2011). Effectiveness of the Q fever vaccine: A meta-analysis.vaccine. 29: 395-398. https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2010.11.008

[24]. Hirai, A., Kaneko, S. and Nakama, A. (2005). Investigation of Coxiella burnetii contamination in commercial milk and PCR method for the detection of C. burnetii in egg.Food Hygiene and Safety Science. 46:86-92. https://doi.org/10.3358/shokueishi.46.86

[25]. Cerf, O. and Condron, R. (2006). Coxiella buornetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle. Journal of Epidemiology and Infectious. 134: 946-951. https://doi.org/10.1017/S0950268806005978.

[26]. Senay, S., Zulal, O. and Ufuk, D. (2006). The Seroprevalence of Coxiella in Farmers and Cattle in Erzurum. Turkish Journal of Veterinary and animal Sciences. 30: 71-75.

"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 2025-08-18]

Research Article

Study on serological and molecular prevalence of *Coxiella burnetii* in aborted cows in Shahrekord industrial dairy herd by ELISA and PCR procedures

Mohammad Abbasian [1], Taghi Taktaz Hafshejani [1*], Hassan Momtaz [1]

1. Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

***Corresponding author:** taghi_taktaz@yahoo.com

Received: 2023/06/26 Accepted: 2023/08/01

Abstract

Q fever is a zoonosis with a worldwide distribution caused by an intracellular rickettsia known as *Coxiella burnetii*. This study aimed to determine the seroprevalence and molecular epidemiology of *C.burnetii* in bovine abortion cases in the Zagros dairy industry in Shahrekord, analyzed by ELISA and PCR methods. This study, conducted from September 2016 to July 2017, collected serum samples from 96 cows that had aborted at least two months prior to the study. Additionally, 72 milk samples were obtained, including 20 bulk tank milk samples at two-week intervals, and 52 individual milk samples from the cows whose blood serum was taken. Anti-*Coxiella burnetii* antibodies in blood serum were detected using an ELISA assay kit, and the genomic detection of *C. burnetii* in milk samples was confirmed by Nested-PCR method. The results showed that the overall prevalence of *C. burnetii* infection in the Zagros dairy industry in Chaharmahal and Bakhtiari Province was 41.6% ELISA positive (40 positive samples). The molecular epidemiology of *C. burnetii* infection tested by PCR was 5% in bulk tank milk (1 positive sample) and 23.07% in individual milk samples. These findings indicate that Q fever in Chaharmahal and Bakhtiari Province has a high prevalence and is likely endemic. Moreover, seemingly healthy cows can play a role in the transmission of *C. burnetii*..

Keywords: Coxiellosis (Q Fever), Abortion, ELISA , PCR, cow milk.

How to cite this article: Abbasian M, Taktaz Hafshejani T, Momtaz H. Study on serological and molecular prevalence of *Coxiella burnetii* in aborted cows in Shahrekord industrial dairy herd by ELISA and PCR procedures. Journal of Zoonosis. 2023; 3 (2): 1-10.

[Downloaded from zoonosis.ir on 2025-08-18]