پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال نوزدهم، شماره ۳، پی در پی ۹۹، صفحات ۱۶۶ تا ۱۷۲
مرداد و شهریور ۱۳۹۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱/۱
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۳/۵/۲۰

جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* (*Coxiella burnetii*) در شیر بز به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای در شهرستان خرم آباد، ایران

پیمان خادمی[*1]، دکتر محمدرضا محزونیه[2]، دکتر عزیزاله ابراهیمی کهریزسنگی[3]، عماد شادروان[4]

۱. کارشناس ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۲. دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۳. استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد
۴. کارشناس ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد

چکیده

سابقه و هدف: تب کیو، یک بیماری گسترده‌ی جهانی است که دارای مراحل حاد و مزمن بوده و توسط باکتری *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود. گلّه‌های گاو، گوسفندان و بزها، مخازن اصلی این بیماری هستند، ولی بسیاری از گونه‌های جانوری دیگر هم می‌توانند آلوده شده و ارگانیسم را از طریق شیر دفع کنند. از دیگر راه‌های انتقال بیماری به انسان، خوردن شیر یا محصولات لبنی پاستوریزه نشده می‌باشد. این مطالعه، با هدف تعیین میزان شیوع فصلی *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام جمع‌آوری شده از بزها در خرم‌آباد انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی، از اردیبهشت ۱۳۹۲ تا دی ماه ۱۳۹۲ انجام شد. در مجموع، ۵۴ نمونه‌ی شیر از ۸ گله بز به صورت تصادفی از روستاها جمع‌آوری شده و از نظر حضور *کوکسیلا بورنتی*، به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested PCR) مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این مطالعه، از مجموع ۵۴ نمونه‌ی بز، ۲۶ نمونه (۴۸٪) از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بود. تعداد نمونه‌های فصل بهار، ۲۰ نمونه و فصل پاییز، ۳۴ نمونه بود. تعداد نمونه‌های مثبت در فصل بهار ۱۸ (۹۰٪) و تعداد نمونه‌های مثبت در فصل پاییز ۸ (۲۳٪) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به جدول آمار توصیفی در مورد کل داده‌های گردآوری شده در فصول و مناطق مختلف، مشاهده شد که حدود ۴۸ درصد آنها مثبت بوده است. فصل و منطقه، روی میزان باکتری دفع شده تأثیر داشت. در مجموع، نتایج این پژوهش نشان داد که شیر بز می‌تواند یکی از مخازن بالقوه *کوکسیلا بورنتی* در ایران باشد.

واژگان کلیدی: تب کیو، *کوکسیلا بورنتی*، شیر بز، خرم‌آباد، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Khademi P, Mahzounieh MR, Ebrahimi Kahrizsangi A, Shdravan E. Genomic detection of *Coxiella burnetii* in goat milk samples in animal farms Khorramabad Township, Iran. Pejouhandeh 2014;19(3):166–172.

مقدمه

تب کیو یا آنفلوانزای بزی، یک بیماری مشترک بین انسان و حیوان، با گسترش جهانی است که توسط باکتری گرم منفی میله‌ای داخل سلولی اجباری، به نام *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود. *کوکسیلا بورنتی* از عوامل بیوتروریسم بوده و کشت و دستکاری نمونه‌های آلوده به آن بایستی در آزمایشگاه‌های با سطح ایمنی زیستی ۳ صورت گیرد. این میکروارگانیسم، برخلاف بسیاری از اجرام غیر هاگ‌دار نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر دمای بالا، خشکی و بسیاری از ضد عفونی‌کننده‌ها، مقاوم بوده و دوز عفونت‌زایی پایینی دارد. از بین حیوانات اهلی، گاوهای شیری، گوسفند و بز، به عنوان مهم‌ترین مخازن این باکتری به شمار می‌روند. رحم و غدد پستانی حیوان، اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* هستند. این میکروارگانیسم به میزان زیاد از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت حیوانات آلوده به ویژه در طی زایمان، به

*نویسنده مسؤول مکاتبات: پیمان خادمی؛ گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد ؛ تلفن: ۰۹۱۶۹۶۹۶۷۱۴۸؛ پست الکترونیک: Pey_kh2003@yahoo.com

محیط دفع می‌شود. یکی دیگر از مهم‌ترین راه‌های دفع *کوکسیلا بورنتی* به محیط، شیر دام‌های آلوده است. از این رو، مصرف شیر غیر پاستوریزه آلوده، منبع انتقال عفونت به انسان است. این ارگانیسم در محیط به فرم شبه اسپور تبدیل شده و به علت مقاومت به خشکی، حرارت و ضد عفونی کننده‌ها، قادر است برای مدت طولانی در محیط زنده بماند (۴-۱).

بیماری در حیوانات فاقد علایم بالینی، مشخص نیست. اما با این وجود، سقط جنین، تولد نوزاد نارس و ناباروری از مهم‌ترین عوارض بیماری است که در بین حیوانات اهلی گزارش شده است (۴). علایم بیماری در انسان بسیار متغیر بوده و حدود ۶۰ درصد از افراد با تیتر سرمی مثبت، علایم بالینی مشخصی از خود بروز نمی‌دهند. تب کیو در شکل حاد، به صورت بیماری آنفلوانزا، پنومونی یا هپاتیت غیر واضح بروز می‌کند. این بیماری وقوع ناگهانی داشته و در اصل یک بیماری شغلی محسوب می‌شود و معمولاً 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. *کوکسیلا بورنتی* تهاجم زیادی داشته و ممکن است حتی یک سلول آن از طریق تنفس، انسان را بیمار کند. 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 (۵ و ۶).

شیر به رغم فواید بسیار، می‌تواند منبع و وسیله‌ی انتقال بسیاری از بیماری‌ها باشد. شیر با داشتن صفات ممتاز غذایی، به سرعت در معرض آلودگی‌های گوناگون قرار دارد و در صورتی که بهداشت از مرحله‌ی دوشش تا مصرف رعایت نشود، بیماری‌هایی از حیوان به انسان و از انسان به انسان منتقل می‌کند. از مهم‌ترین این بیماری‌ها می‌توان به تب مالت (بروسلوز)، سل، لیستریوز (سقط جنین و عوارض چشمی)، سالمونلوز (حصبه، شبه حصبه)، تب کیو یا آنفلوانزا بزی، اسهال‌های خونی و ناراحتی‌های گوارشی اشاره کرد (۷).

در برخی مطالعات انجام شده در نقاط مختلف جهان و ایران، درصدهای متفاوتی از آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* گزارش شده است. در سال ۱۹۹۸، Lyytikainen و همکاران در آلمان، بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به *کوکسیلا بورنتی* را در طول فصول زمستان و بهار گزارش کردند (۸). در سال ۲۰۱۲، Astobiza و همکاران، در مطالعه‌ای که روی ۱۷۸ گله در کشور اسپانیا انجام دادند، نشان دادند که از بین ۱۷۸ گله، ۱۱۹ گله از نظر حضور آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی*، مثبت می‌باشد (۹). در سال ۲۰۰۹، در مطالعه‌ی خلیلی و سخایی در کرمان، تمام گله‌های بز از نظر حضور آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* مثبت بوده و از نظر فردی نیز بیش از ۶۵ درصد از نمونه‌های سرمی بزها، مثبت تشخیص داده شدند. در آن مطالعه، ارتباط مستقیمی بین مقادیر بالای (overdose) آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* و شدت سروپازیتویتی (seropositivity) با سقط، مشاهده شد. این امر می‌تواند نشان دهنده‌ی نقش احتمالی بز در این مناطق به عنوان مخزن مهم باکتری برای انسان باشد (۱۰).

در سال ۲۰۱۰، در مطالعه‌ی سرولوژیک انجام شده توسط خلیلی و همکاران که روی بیماران تب‌دار مشکوک به بروسلوز در بردسیر (یکی از شهرهای دامپروری کرمان) انجام شد، ۲۴ درصد از موارد، از نظر آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* فاز یک و ۳۶ درصد از نظر آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* فاز دوم، مثبت بودند. نکته‌ی جالب تحقیق آن بود که شیوع سرولوژیک تب کیو از شیوع سرمی تب مالت به طور معنی‌داری بیشتر بود (۱۱).

در سال ۲۰۰۴، Motohiko و همکاران، از مطالعه‌ی خود در کشور ژاپن روی مقایسه‌ی میزان حساسیت دو روش PCR و Nested-PCR در تشخیص *کوکسیلا بورنتی* نتیجه گرفتند که روش Nested-PCR، ۱۰ برابر حساس‌تر از PCR می‌باشد (۱۲).

استان لرستان یکی از کانون‌های اصلی کشاورزی و دامپروری در ایران بوده و تولیدات دامی آن (گوشت قرمز و شیر خام) از شهرت خاصی برخوردار است. این استان با دارا بودن حدود ۶/۵ میلیون واحد دامی، ۵/۵ درصد جمعیت دامی کشور را در خود جای داده و دارای رتبه‌ی ششم در بین استان‌های کشور است. این شهر دارای آب و هوایی مدیترانه‌ای معتدل و نیمه مرطوب بوده و دارای میزان بارندگی بسیار، به خصوص در فصل بهار می‌باشد (۱۳). بالا بودن تعداد بز در گله‌های در حال پرورش و مطرح شدن این حیوان به عنوان گونه‌ی دامی مهم از نظر مخزن بودن برای انسان به ویژه در آب و هوای معتدل و مرطوب، این گمان را به وجود می‌آورد که احتمالاً باید آلودگی با باکتری *کوکسیلا بورنتی* در بین آنها وجود داشته باشد. از آن جا که اطلاعاتی در مورد نقش بز در پراکنده کردن این میکروارگانیسم در منطقه در دست نبوده و با توجه به اهمیت موضوع برای احتمال آلودگی انسان، مطالعه‌ی حاضر با هدف جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در شیر بز به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested PCR) در شهر خرم‌آباد انجام گرفت.

شکل ۱. محل جمع‌آوری نمونه‌های شیر (پلدختر، دوره چگنی) جهت مشخص شدن وضعیت شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مناطق ذکر شده.

مواد و روش‌ها

مناطق مورد مطالعه. هدف از این مطالعه، تعیین میزان شیوع فصلی *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام جمع‌آوری شده از بزها در خرم‌آباد بود. برای این منظور، دو شهرستان چگنی و پلدختر به عنوان دو منطقه‌ی متفاوت از نظر آب و هوایی برای نمونه‌گیری، انتخاب شدند. شهرستان چگنی دارای آب و هوایی گرم و معتدل است به نحوی که زمستانی معتدل و تابستانی نسبتاً گرم دارد. شهرستان پلدختر، در جنوبی‌ترین ناحیه‌ی استان لرستان و در مجاورت استان خوزستان و ایلام قرار دارد. پلدختر در قسمت نیمه خشک استان لرستان قرار دارد (۱۳).

تعداد نمونه و روش نمونه‌گیری. این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی، از بهار ۱۳۹۲ تا دی ماه ۱۳۹۲ انجام شد. در این پژوهش در مجموع، ۵۴ نمونه‌ی شیر از ۸ گله بز در مناطق مختلف شهرستان خرم‌آباد در دو فصل بهار و پاییز جمع‌آوری و مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۲۰ نمونه، در فصل بهار و ۳۴ نمونه در فصل پاییز گرفته شد. جهت نمونه‌گیری ابتدا سرپستانک‌های هر دام با الکل ۷۰٪ ضدعفونی و نمونه‌ی شیر تهیه می‌شد. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌های شیر و حذف چربی از لایه‌ی رویی آن، جهت استخراج DNA از رسوب حاصل با استفاده از کیت Gene All cell SV mini 250 p (محصول شرکت Bioneer کره جنوبی) طبق دستورالعمل سازنده استفاده شد. DNA استخراج شده تا زمان انجام آزمون PCR، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد، نگهداری گردید.

مواد و روش جستجوی ژنومی. به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر بز، از روش Berri و همکاران استفاده شد (۱۴). برای بررسی حضور DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها، روش آزمون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) به کار رفت. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن com1 که کدکننده‌ی پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد، بر اساس روش مطالعه‌ی Zhang و همکاران در سال ۱۹۹۸و Fretz و همکاران در سال ۲۰۰۷ بود (۱۵ و ۱۶). برای انجام PCR در مرحله‌ی اول، غلظت بهینه‌ی مواد به کار رفته در واکنش، میزان مواد واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر مطابق با جدول ۱ و همچنین سیکل‌های دمای مورد استفاده، مطابق با جدول ۲، به کار گرفته شدند.

جدول ۱. حجم مواد مورد استفاده در واکنش PCR.

حجم	مواد
۱/۵میلی‌مولار	$MgCl_2$
۱ میکرولیتر با غلظت ۱۰ پیکومول	پرایمر
۰/۳ واحد	Taq DNA پلی‌مراز
۱ میکرولیتر	dNTP

برای PCR مرحله دوم، از پرایمرهای OMP3 و OMP4 استفاده شد. در این مرحله، همه‌ی شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه‌ی زمانی و دمایی، مطابق مرحله اول اجرا شد. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله‌ی دوم، در ژل آگارز ۱٪ حاوی اتیدیوم بروماید، الکتروفورز گردید و با دستگاه تصویربرداری از ژل (UVitec, UK) مشاهده و بررسی شد.

جدول ۲. سیکل‌های دمای مورد استفاده در انجام PCR.

	زمان	دما (سانتی‌گراد)
باز شدن اولیه دو رشته (Denaturation)	۳ دقیقه	۹۴
	۴۵ ثانیه جهت باز شدن دو رشته	۹۴
۳۰ چرخه دمایی	۴۵ ثانیه اتصال پرایمرها به توالی هدف (Annealing)	۵۶
	۴۵ ثانیه	۷۲
مرحله نهایی جهت طویل شدن رشته‌های جدید (Extension)	۵ دقیقه	۷۲

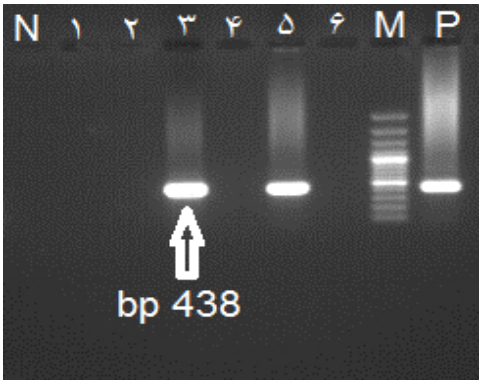
طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP3-OMP4 و OMP1-OMP2 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز بود (جدول ۳). در این بررسی، کنترل مثبت DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* استاندارد از کیت تشخیصی تجاری (K047, Genekam Biotechnology AG, Germany) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه‌ی واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته شد که در آن به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه گردید. داده‌های حاصل، به کمک نسخه‌ی نوزدهم نرم‌افزار SPSS و با انجام آزمون آماری خی‌دو، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. مرز معنی‌داری در $P<۰/۰۵$ قرار داده شد.

جدول ۳. پرایمرهای مورد استفاده در روش Nested-PCR برای جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر بز (۱۶ و ۱۷).

	پرایمر	توالی پرایمر ′۳ → ′۵	اندازه قطعه (bp)
مرحله اول	OMP1	AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG	**۵۰۱**
	OMP2	TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG	
مرحله دوم	OMP3	GAAGCGCAACAAGAAGAACAC	**۴۳۸**
	OMP4	TTGGAAGTTATCACGCAGTTG	

یافته‌ها

نتایج بررسی الکتروفورز محصولات مرحله‌ی دوم PCR در ژل آگاروز نشان داد از مجموع ۵۴ نمونه‌ی شیر بز، ۲۶ نمونه از نظر وجود توالی اختصاصی ژن com1 در *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بودند. در نمونه‌های مثبت، باند ۴۳۸ جفت بازی مشاهده شد (شکل ۲).



شکل ۲. نتایج Nested-PCR نمونه‌ها در ژل ۱ درصد. ستون N: کنترل منفی، ستون‌های ۱، ۲، ۴ و ۶: نمونه‌های منفی، ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی و ستون‌های ۳ و ۵: نمونه‌های مثبت باند مورد نظر در این مرحله ۴۳۸ می‌باشد. ستون P: کنترل مثبت *کوکسیلا بورنتی*.

با توجه به جدول آمار توصیفی در مورد کل داده‌های گردآوری شده در فصول و مناطق مختلف، مشاهده شد که بیش از ۴۸ درصد نمونه‌ها، مثبت و حدود ۵۲٪ درصد آنها، منفی می‌باشند (نمودار ۱). میزان آلودگی در بین نمونه‌های مثبت در فصل بهار، ۱۸ عدد (۹۰٪) و در بین نمونه‌های مثبت در فصل پاییز، ۸ عدد (۲۳٪) بود. با توجه به نتایج به دست آمده، میزان آلودگی در فصل بهار بیشتر از فصل پاییز بود (نمودار ۲).

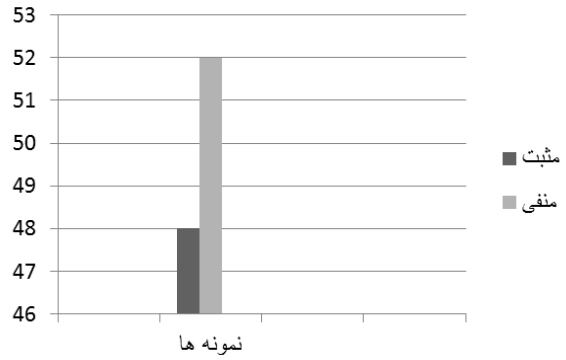
بررسی نتایج نشان می‌دهد اختلاف فراوانی عفونت کوکسیلایی در فصول مختلف، معنی‌دار بوده است ($P<۰/۰۵$). از این رو معلوم می‌گردد که فصل، روی فراوانی عفونت تأثیر دارد. درصد مثبت و منفی گله‌های مورد مطالعه در مناطق مختلف در جدول شماره ۴ نشان داده شده است.

بحث

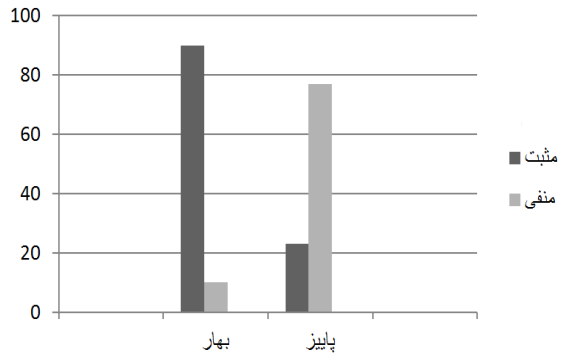
تب کیو به عنوان یک بیماری مشترک انسان و حیوان (زئونوز) نوپدید و بازپدید در بسیاری از کشورها از جمله ایران مطرح شده است. اگر چه این بیماری جنبه‌ی شغلی داشته و معمولاً در افرادی که در تماس با حیوانات و محصولات آنها هستند، فراوانی بیشتری دارد. اما با توجه به مقاومت بالای عامل بیماری‌زا در محیط و قابلیت انتقال آن از طریق هوا،

جدول ۴. درصد مثبت و منفی گله‌های مورد مطالعه در مناطق مختلف.

گله‌ها	منطقه	فصل	تعداد نمونه‌ها	مثبت	منفی
۱	دوره چگنی	بهار	۱۱	٪۸۱	٪۱۸
۲	دوره چگنی	بهار	۹	٪۷۷	٪۲۲
۳	دوره چگنی	پاییز	۷	۰	٪۱۰۰
۴	دوره چگنی	پاییز	۹	٪۳۳	٪۶۶
۵	پلدختر	پاییز	۱۰	٪۳۰	٪۷۰
۶	پلدختر	پاییز	۳	۰	٪۱۰۰
۷	پلدختر	پاییز	۲	٪۵۰	٪۵۰
۸	دوره چگنی	پاییز	۳	٪۱۰۰	۰



نمودار ۱. میزان درصد مثبت و منفی آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر بزهای منطقه‌ی خرم‌آباد.



نمودار ۲. میزان درصد مثبت و منفی آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر بزهای منطقه‌ی خرم‌آباد بر اساس فصل.

امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود داشته و امروزه به عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان به صورت طبیعی و غیر طبیعی (بیوتروریسم) مطرح می‌باشد (۱۴ و ۱۷)

مطالعه‌ی حاضر، نخستین مطالعه در استان لرستان می‌باشد. تعیین میزان شیوع بیماری و فاکتورهای خطر، باعث می‌شود که اهمیت این بیماری در جمعیت، برای مسؤولین بهداشتی نمایان گردیده و امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیشگیری و نیز اولویت‌های پژوهشی، مشخص شود. مطالعه‌ی حاضر، نشان داد که عفونت کوکسیلوزیس در بزهای شهرستان خرم‌آباد و اطراف آن وجود دارد و شیوع آن در بز، ۴۸٪ می‌باشد

در سال ۲۰۱۱، در مطالعه‌ای توسط عباسی و همکاران، از مجموع ۲۹۶ نمونه‌ی شیر، ۱۲ نمونه یعنی ۴/۱٪ مثبت بود (۱۸). در سال ۱۳۹۲، در مطالعه سرولوژیک که توسط بروجنی و همکاران در اهواز روی گله‌های گوسفند صورت گرفت، درصد شیوع سرمی تب کیو ۱۳/۱۸٪ اعلام شد که نشان‌دهنده‌ی آلودگی کمتر گوسفند نسبت به بز است (۳). در سال ۲۰۱۲، دوستی و همکاران مطالعه‌ای روی ۱۳۰ نمونه‌ی خون شتر ایرانی بین ماه‌های اوت و سپتامبر ۲۰۱۱ انجام دادند. در این مطالعه، در مجموع ۱۴ مورد (۱۰/۷۶٪) نمونه‌ی خون شتر با روش PCR از لحاظ حضور *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند که نشان می‌دهد شتر هم می‌تواند مخزن بالقوه‌ی آلودگی برای انسان باشد (۵). در سال۲۰۱۲، Gyuranecz و همکاران، مطالعه‌ای در کشور مجارستان روی ۲۱۵ نمونه از تانک‌های شیر انجام دادند که ۶۶/۷٪ از آنها از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند که مشابه نتایج بدست آمده در این مطالعه است (۱۹). در بررسی کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲، روی ۱۰۰ نمونه‌ی تهیه شده از شیر گاو در شهرستان جهرم، میزان شیوع آلودگی ۱۱ درصد گزراش شد (۲۰). در سال ۲۰۱۳، در مطالعه‌ای توسط خانزادی و همکاران در خراسان رضوی روی ۲۳ نمونه‌ی شیر گوسفند، ۸ نمونه (۳۴/۷۸٪) مثبت بود (۲۱). در سال ۲۰۱۳، در مطالعه‌ی دیگری که توسط قلیانچی و همکاران در استان قم انجام شد، ۱۴ نمونه از مجموع ۱۰۰ نمونه (۱۴٪) مثبت بود (۲۲). همچنین در سال ۱۳۸۹، در مطالعه‌ی رحیمی و همکاران روی ۲۴۷ نمونه‌ی شیر گاو در اصفهان، ۸ نمونه از ۲۴۷ نمونه

(۳/۲٪) مثبت بود. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف سال نیز متفاوت بود. بالاترین میزان وقوع (۸/۶٪) در فصل زمستان مشاهده شد، در حالی که تمام ۶۵ نمونه‌ی تابستان، منفی بود (۱۷). مطالعات دیگر، طیف‌های مختلفی از وجود *کوکسیلا بورنتی* را در شیر گزارش کرده‌اند که به عنوان مثال در کشور ژاپن ۵۳/۷ درصد و در کشور ترکیه ۱۴/۳ درصد مثبت بودند (۲۳ و ۲۴). نتایج مطالعات داخلی و بین المللی، میزان شیوع آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* را از ۴ تا ۵۳ درصد گزارش کرده‌اند. اختلافات مشاهده شده ممکن است به علت متفاوت بودن گونه‌ی حیوانی، محل جغرافیایی و در نتیجه، شرایط آب و هوایی مناطق و نحوه‌ی مدیریت باشد. انتقال *کوکسیلا بورنتی* به طور عمده از طریق آیروسل‌های آلوده انجام می‌گیرد (۲ و ۱۷) و ممکن است پایین بودن رطوبت نسبی هوا و شرایط آب و هوایی نسبتاً گرم و خشک به خصوص در شهرستان پلدختر در لرستان باعث شود که این آیروسل‌ها به علت از دست دادن آب و سبک شدن برای مدت طولانی در هوا معلق مانده و مسافت طولانی‌تری را طی کنند و در نتیجه موجب آلودگی سایرین شوند. از طرف دیگر، وجود رطوبت بالا باعث جذب آب توسط آیروسل‌ها و رسوب سریع آنها می‌شود.

استان لرستان از لحاظ تراکم دام در کشور، رتبه اول را دارا می‌باشد به طوری که متوسط تراکم دام در واحد سطح در این استان، ۲۲۰ واحد دامی در کیلومتر مربع و در کشور معادل ۸۴ واحد دامی در کیلومتر مربع است (۲۵). لذا تراکم بالای حیوانات، احتمال انتشار را در بین آنها افزایش می‌دهد. همچنین، تردد عشایر کوچ نشین از مناطق مختلف کشور به استان لرستان بالا می‌باشد. شاید این عامل نیز در بالا بودن میزان آلودگی در استان لرستان و مناطق مطالعه شده، دخیل باشد. تفاوت مشاهده شده در میزان شیوع در نقاط مختلف جهان را می‌توان به گوناگونی موقعیت جغرافیایی، چگونگی و نوع روش بررسی، نوع و تعداد نمونه‌های گرفته شده، فصل سال و نمونه‌گیری در بین گله‌های آلوده و غیر آلوده نیز نسبت داد. با توجه به این که میزان سقط در مناطق مورد مطالعه بالا می‌باشد (۲ و ۱۷)، پیشنهاد می‌شود که در تحقیق دیگری اقدام به جستجوی *کوکسیلا بورنتی* در جنین‌های سقط شده با روش Nested-PCR گردد. نتایج مطالعات پراکنده انجام شده در ایران نشان می‌دهد که تب کیو، احتمالاً یک بیماری اندمیک در ایران بوده و نقش آن در تهدید سلامتی حیوانات و انسان، به دلیل فراوانی موارد تحت بالینی و عدم تمایز موارد بالینی از بیماری‌هایی نظیر تب مالت و آنفلوانزا، بسیار دست کم گرفته شده است (۳، ۵، ۱۷، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲).

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد که شیوع عامل تب کیو در جمعیت بزها، نسبتاً قابل توجه است. بنابراین لازم است به عنوان یکی از عوامل مسبب سقط در بز، توسط دامپزشکان و سیاست‌گذاران بهداشتی مورد توجه قرار گیرد. واکسیناسیون، عامل بسیار مهمی در پیشگیری و کنترل بیماری محسوب می‌گردد. نتایج این مطالعه نشان داد که بزهای به ظاهر سالم، می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش داشته باشند. با این وجود، برای بررسی دقیق آلودگی، انجام مطالعات تکمیلی با تعداد نمونه‌ی بیشتر، ضروری است. از طرفی، به منظور پیشگیری از انتشار عفونت در بین جمعیت‌های حیوانی و انسانی، کنترل کوکسلیوزیس در گله‌های بز، 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، مصرف شیر پاستوریزه می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر پیشگیری از آلودگی این باکتری در بین مصرف‌کنندگان باشد.

در کل، نتایج این پژوهش نشان داد که شیر بز می‌تواند یکی از مخازن بالقوه‌ی *کوکسیلا بورنتی* در ایران باشد. با توجه به اطلاعات به دست آمده در می‌یابیم که فصل و منطقه، روی میزان باکتری دفع شده، تأثیر دارد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش، برگرفته از پایان‌نامه‌ی دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد. مجریان پژوهش بر خود واجب می‌دانند که از مساعدت و همکاری پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک دانشگاه شهرکرد، سرکار خانم مهندس یکتنه، کارشناس پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک که در انجام مراحل استخراج DNA و PCR ما را یاری نمودند و همچنین، مدیریت مرکز جهاد کشاورزی شهر معمولان، مهندس زینیوند و مهندس مجتبی رشنو مسؤول امور دام، که ما را در جمع‌آوری نمونه‌ها همراهی نمودند، تقدیر و تشکر به عمل آوردند.

REFERENCES

1. Arricau N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonoses? J Vet Res 2005;36:327–50.

2. 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;12:419–25.

3. Borujeni PM, Gharibi D, Gouranejad S, Zamiri S. Seroprevalence of coxiellosis in Ahvaz sheep. Iran Vet J 2013; 9(1):11–8. (Full Text in Persian)

4. Cerf O, Condron R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? J Epidemiol Infect 2006;134:946–51.

5. Doosti A, Arshi A, Sadeghi M. Investigation of *Coxiella burnetii* in Iranian Camels. Comp Clin Pathol 2014,23:43–6.

6. Guatteo R, Beaudeau F, Berri M, Rodolakis A, Joly A, Seegers H. Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy Cows: implications for detection and control. Vet Res 2006;37:827–33.

7. Khorasan Razavi Veterinary Administration. [Internet] Available from: www.ivo-kh.ir/tabid.

8. Lyytikainen O, Ziese T, Schwartlander B, Matzdorff P, Kuhnhen C, Jager C, *et al*. An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. Eur J Epidemiol 1998;14:193–9.

9. Astobiza I, Ruiz-Fons F, Piñero A, Barandika JF, Hurtado A, García-Pérez AL. Estimation of *Coxiella burnetii* prevalence in dairy Cattle in intensive systems by serological and molecular analyses of bulk-tank milk samples. J Dairy Sci 2012;95:1632–8.

10. Khalili M, Sakhaee E. An update on a serologic survey of Q fever in domestic animals in Iran. Am J Trop Med Hyg 2009;80:1031–2.

11. Khalili M, Sakhaee E, Golchin M. Q fever serology in febrile patients in Southeast Iran. Trans R Soc Trop Med Hyg 2010;104(9):623–4.

12. Motohiko O, Setiyono A, Sato K, Cai Y, Shiga S, Kishimoto T. Evaluation of PCR and Nested PCR assays currently used for detection of *Coxiella burnetii* in Japan. Southeast Asian J Trop Med Public Health 2004;35(4):852–5.

13. Lorestan Investment Staff & Services Center. [Internet] Available from: www.Investlorestan.org/fa/lorestan _project.

14. Berri M, Arricau N, Rodolakis A. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. Methods Mol Biol 2003;12:153–61.

15. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various

s foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. Int J Food Microbiol 2007;116:414–8.

16. Zhang GQ, Nguyen SV, To H, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T, *et al*. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. J Clin Microbiol 1998;36:77–80.

17. Rahimi E, Torki Baghbadorani Z, Doosti A. An assay to determine the seasonal prevalence of *Coxiella burnetii* in cow milk using Nested PCR. J Microbiol World 2010;3:56–62.

18. Abbasi S, Farzan R, Momtaz H. Molecular detection of *Coxiella burnetii in* goat bulk milk samples in some provinces of Iran. Afr J Biotechnol 2011;10:18513–5.

19. Gyuranecz M, Dénes B, Hornok S, Kovács P, Horváth G, Jurkovich V, *et al*. Prevalence of *Coxiella burnetii* in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. Vector Borne Zoonotic Dis 2012;12: 650–3.

20. Kargar M, Rashidi A, Doosti A, Ghorbani-Dalini S, Najafi A. Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk samples in southern Iran. J Comp Pathol 2013;22:331–4.

21. Khanzadi S, Jamshidi A, Razmyar J, Borji SH. Identification of *Coxiella burnetii* by touch-down PCR assay in unpasteurized milk and dairy products in North-East of Iran. Iran J Vet Med 2014;8:15–9.

22. Ghlynchi LA, Babakhani R, Zolfaghari N, Majidzadeh KA, Morovvati A, Soleimani M. Detection of *Coxeilla brunetii* in bulk tank milk samples from dairy bovine farms using nested-PCR in Qom, Iran, 2011. Iran J Vet Med 2013; 7:207–11.

23. Maurin M, Raoult D, Q fever. J Clin Microbiol Rev 1999;12:518–53.

24. Ongor H, Cetinkaya B, Karahan M, Acik MN, Bulut H, Muz A. Detection of *Coxiella burnetii* by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in Turkey. J Vet Record 2004;154:570–2.

25. Ambassador to the people of Lorestan. [Internet] Available from: http://safireaflak.ir/fa/news/233.