پژوهنده (مجله پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی)
سال بیست و یکم، شماره ۱، پی‌درپی ۱۰۹، صفحات ۵۲ تا ۵۷
فروردین و اردیبهشت ۱۳۹۵

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۳/۱۰/۲۶
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۲/۱

جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های مخزن شیر گاو در شهرکرد

اصغر کریمیان[*1]*، دکتر محمدرضا محزونیه*[2]*، دکتر عزیزاله ابراهیمی کهریزسنگی*[3]

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

چکیده

سابقه و هدف: تب کیو، بیماری مشترک انسان و دام با انتشار جهانی است که توسط یک باکتری گرم منفی، اجباری داخل سلولی به نام *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود. گاو، گوسفند و بز منابع اصلی عفونت انسانی هستند و ارگانیسم را از طریق شیر دفع می‌کنند، از این رو مصرف شیر خام می‌تواند منبع عفونت باشد. این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام جمع‌آوری شده از مخازن شیر گاوداری‌های سنتی در شهرستان شهرکرد انجام شد.

مواد و روش‌ها: این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی در فصل زمستان ۱۳۹۲ و فصل بهار ۱۳۹۳ انجام شد. در مجموع ۵۰ نمونه شیر گاو از مخزن شیر ۵۰ گاوداری سنتی به طور تصادفی جمع‌آوری و از نظر حضور *کوکسیلا بورنتی*، به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested PCR) مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته‌ها: در این مطالعه، در مجموع ۱۶ نمونه از ۵۰ نمونه (۳۲٪)،از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بود. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های فصل زمستان ۳۶٪ و در نمونه‌های فصل بهار ۲۸٪ بود.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد که شیر گاو می‌تواند یکی از مخازن بالقوه *کوکسیلا بورنتی* در منطقه مورد مطالعه باشد.

واژگان کلیدی: تب کیو، کوکسیلا بورنتی، شیر گاو، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:
Karimian A, Mahzounieh MR, Ebrahimi Kahrizsangi A. Genomic detection of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples by Nested-PCR method in Shahrekord, Iran. Pejouhandeh 2016;21(1):52-57.

مقدمه

تب کیو، یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که برای اولین بار در سال ۱۹۳۵ به دنبال شیوع یک بیماری شبیه آنفلوآنزا در کارکنان کشتارگاهی در بریسبین استرالیا مورد توجه قرار گرفت. این بیماری در سراسر جهان به جز نیوزلند گزارش شده است. عامل بیماری یک میکروارگانیسم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل سلولی اجباری به نام *کوکسیلا بورنتی* (*Coxiella burnetii*) است (۲،۱) .این میکروارگانیسم بر خلاف بسیاری از اجرام غیرهاگ‌دار، نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر دمای بالا، خشکی و بسیاری از ضدعفونی‌کننده‌ها مقاوم بوده و دوز عفونت‌زایی پایینی دارد (۳). *کوکسیلا بورنتی*، انسان، حیوانات اهلی، حیوانات وحشی، حیوانات خانگی، بندپایان به ویژه کنه‌ها، ماهی و پرندگان را می‌تواند آلوده کند. گاو، گوسفند و بز از منابع اصلی آلودگی انسان هستند (۶-۴).

بیماری در حیوانات بیشتر به شکل تحت بالینی است، اما امکان بروز نشانه‌ی بالینی به ویژه اختلالات تولید مثلی نظیر سقط جنین، مرده‌زایی و ناباروری وجود دارد (۸،۷،۱). به دنبال عفونت، *کوکسیلا بورنتی* در رحم و غدد پستانی پستانداران ماده متمرکز می‌شود و طی زایمان طبیعی یا غیرطبیعی از طریق مایعات و پرده‌های جنینی و همچنین از طریق ادرار، شیر و مدفوع به محیط دفع می‌شود (۱).

مدت زمان دفع باکتری توسط حیوان آلوده بسته به راه دفع و گونه‌ی حیوان متفاوت است، در میش تا ۸ روز و در گاو تا ۱۳ ماه می‌تواند در شیر دفع شود. سایر پستانداران نیز *کوکسیلا بورنتی* را در شیر دفع می‌کنند، از این رو مصرف شیر خام می‌تواند منبع عفونت باشد (۹،۳).

کوکسیلا بورنتی می‌تواند در دمای ۴ تا ۶ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۲ ماه در شیر زنده بماند.

*نویسنده مسؤول مکاتبات: **اصغر کریمیان**؛ کارشناس ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد؛ **پست الکترونیک:** asgharkarimi90@yahoo.com

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

انسان عمدتاً از طریق استنشاق آیروسل‌های آلوده یا مصرف شیر و محصولات لبنی تازه مبتلا می‌شود. افراد در تماس نزدیک با حیوانات مانند کشاورزان، دامپزشکان و کارکنان کشتارگاه و کارکنان آزمایشگاه، در معرض خطر ابتلا به عفونت قرار دارند (۱۱).

تب‌کیو در انسان اغلب بدون علامت است، اما بیماری حاد نظیر تب طولانی، ذات‌الریه، هپاتیت، درگیری قلبی یا بیماری مزمن مانند اندوکاردیت می‌تواند رخ دهد. همچنین در زنان باردار *کوکسیلا بورنتی* می‌تواند باعث سقط جنین، مرده‌زایی یا زایمان زودرس شود (۱۲،۵،۱). به دلیل قدرت سرایت بالای این باکتری که ناشی از دوز عفونی‌کننده‌ی پایین آن است (LD50≤۱۰) و پایداری بالای ذرات عفونی، این باکتری از سوی مرکز پیشگیری و کنترل بیماری‌ها (CDC: Centers for Disease Control and Prevention) در دسته B عوامل بیوتروریستی قرار گرفته است (۱۳). تشخیص زودهنگام بیماری، در مدیریت، جلوگیری و درمان آن مؤثر است. روش‌های مختلف مانند جداسازی باکتری در کشت سلول، روش‌های سرولوژیکی و مولکولی برای تشخیص *کوکسیلا بورنتی* استفاده شده است اما تکنیک‌های مولکولی از حساسیت، اختصاصیت، ایمنی و سرعت بالایی برخوردار هستند. طی سال‌های اخیر آزمایشات تشخیصی مختلفی براساس تکنیک‌های مولکولی بر پایه PCR، برای تشخیص باکتری *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های مختلف، توسعه یافته است (۱۵،۱۴). مطالعه‌ی حاضر با هدف تعیین شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های مخزن شیر گاو به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested PCR) در شهرستان شهرکرد انجام شد.

مواد و روش‌ها

منطقه مورد مطالعه. مطالعه‌ی حاضر در شهرستان شهرکرد روی نمونه‌های شیر گاو گرفته شده از مخزن شیرگاوداری‌های سنتی انجام شد. این شهرستان مرکز استان چهارمحال و بختیاری و از جمله مناطق کوهستانی جنوب غربی ایران است.

شکل ۱. محل جمع‌آوری نمونه‌های شیر جهت مشخص شدن وضعیت شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شهرستان شهرکرد، ایران.

نمونه‌گیری. در این پژوهش به صورت مقطعی- توصیفی، در مجموع ۵۰ نمونه شیر گاو از مخزن شیر ۵۰ گاوداری سنتی در فصل زمستان ۱۳۹۲ و فصل بهار ۱۳۹۳ در مناطق مختلف شهرستان شهرکرد جمع آوری شد. تعداد نمونه‌های اخذ شده در فصل زمستان ۲۵ و در فصل بهار نیز ۲۵ نمونه بود. نمونه‌ها در ظروف سترون و در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند. پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها و جداسازی چربی، از رسوب حاصل برای استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج Gene All Clinic SV mini 250 p DNA (محصول شرکت Bioneer کره جنوبی) طبق دستورالعمل سازنده استفاده شد. DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریز ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) از روش Berri و همکاران استفاده شد (۱۶). توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *com1* که کدکننده‌ی پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد (به‌شرح جدول ۱)، براساس مطالعه‌ی Zhang و همکاران (۱۹۹۸) و Fretz و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت (۱۷،۱۴).

در مرحله‌ی اول PCR، از پرایمرهای OMP1-OMP2 استفاده شد. در این مرحله، غلظت بهینه‌ی مواد به کار رفته

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر خام گاو به روش Nested-PCR.

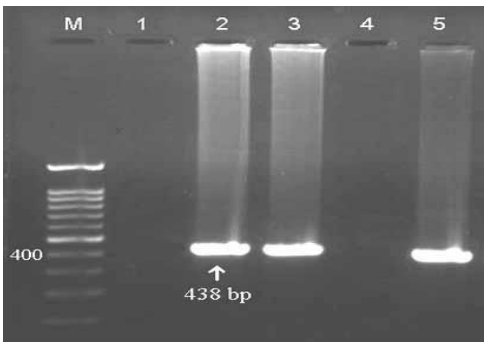
پرایمر	توالی پرایمر ′۳→′۵	اندازه قطعه (bp)
OMP1	AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG	۵۰۱
OMP2	TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG	
OMP3	GAAGCGCAACAAGAAGAACAC	۴۳۸
OMP4	TTGGAAGTTATCACGCAGTTG	

در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر بود: مستر میکس آماده ساخت کشور دانمارک (Ampliqon CO., Denmark) به حجم ۱۲/۵ میکرولیتر، ۲ میکرولیتر DNA نمونه‌ی مشکوک، ۱ میکرومول از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول و مابقی حجم آب مقطر استریل اضافه شد و برنامه‌ی دمایی به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۵۶ درجه سانتی‌گراد و ۷۲ درجه سانتی‌گراد هر یک به مدت ۴۵ ثانیه و در ادامه مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه تنظیم و اجرا گردید.

برای PCR مرحله‌ی دوم از پرایمرهای OMP3-OMP4 استفاده شد. در این مرحله، همه‌ی شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه‌ی زمانی و دمایی مطابق مرحله‌ی اول اجرا شد با این تفاوت که DNA الگو در این مرحله، ۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول بود. طول مورد انتظار از قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP1-OMP2 و OMP3-OMP4 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز است. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله‌ی دوم در ژل آگارز ۱٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با نور ماورای بنفش (UV) مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت. در این بررسی، کنترل مثبت DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* استاندارد (K047, Genekam Biotechnology AG, Germany) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه‌ی واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد. سپس داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزار SPSS و آزمون مربع کای مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مرز معنی‌داری در $P<۰/۰۵$ قرار داده شد.

یافته‌ها

در این مطالعه در مجموع از ۵۰ نمونه شیر مورد بررسی، ۱۶ نمونه (۳۲٪) از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت بود. در الکتروفورز محصولات مرحله دوم PCR در ژل آگاروز باند مورد انتظار با طول ۴۳۸ جفت باز در نمونه‌های مثبت مشاهده شد (شکل ۲).



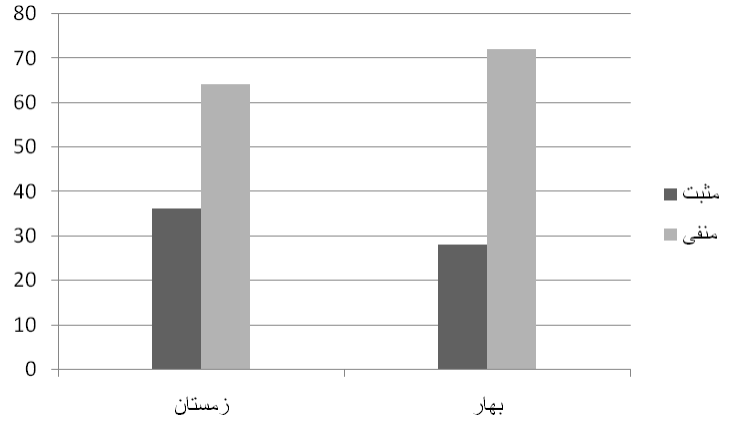
شکل ۲. نتایج Nested-PCR نمونه‌ها در ژل آگاروز ۱ درصد. ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱: کنترل منفی، ستون ۲: کنترل مثبت *کوکسیلا بورنتی*، ستون ۳ و ۵: نمونه‌های مثبت، ستون ۴: نمونه منفی.

میزان آلودگی در بین نمونه‌های فصل زمستان، ۹ عدد (۳۶٪) و در بین نمونه‌های فصل بهار ۷ عدد (۲۸٪) بود (نمودار ۱). بررسی نتایج، اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در دو فصل زمستان و بهار نشان نداد ($P>۰/۰۵$).

بحث

تحقیق حاضر نشان داد که به طور کلی ۳۲ درصد نمونه‌های شیر مخزن مورد بررسی، از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت بود. رحیمی و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی ۲۴۷ نمونه شیر از ۱۸۶ گله گاو شیری در استان اصفهان میزان

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]



نمودار ۱. میزان درصد مثبت و منفی آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در شیر گاوهای منطقه‌ی شهرکرد بر اساس فصل.

شیوع آلودگی را ۳/۲٪ (۸ مورد) گزارش نمودند. در مطالعه‌ی ایشان، از ۱۴۰ نمونه‌ی گوسفندی ۸ مورد (۵/۷٪)، از ۱۱۰ نمونه‌ی بزی ۵ مورد (۴/۵٪) و از ۷۰ نمونه‌ی شتر یک مورد (۱/۴٪) مثبت بود (۲۰).

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 نمودند (۲۱). مطالعه‌ی قلیانچی و باباخانی (۲۰۱۱) در استان قم نشان داد که از ۱۰۰ نمونه‌ی شیر جمع‌آوری شده از مزارع گاو شیری ۱۴ نمونه (۱۴٪) به *کوکسیلا بورنتی* آلوده بود (۲۲). Fretz و همکاران (۲۰۰۷) نیز در کشور سوئیس با بررسی ۳۵۹ نمونه شیر گاوی میزان شیوع آلودگی را ۷/۴٪ (۱۷ مورد) گزارش نمودند (۱۴). نتایج هر چهار پژوهش از نتایج مطالعه‌ی حاضر کمتر است که علت آن انجام بررسی روی نمونه‌های شیر انفرادی است در حالی که مطالعه‌ی حاضر روی مخازن شیر انجام شده و با توجه به حساسیت بالای روش Nested PCR اگر در یک گله، یک رأس گاو آلوده باشد، نتیجه‌ی آزمایش مخزن شیر را مثبت خواهد کرد.

واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) روشی اختصاصی، حساس و مفید برای تشخیص *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های مختلف می‌باشد (۱۴،۴). در سال ۲۰۰۴ ماتوهیکو (Motohiko) و همکاران، در کشور ژاپن از ارزیابی میزان حساسیت دو روش PCR و Nested-PCR در تشخیص *کوکسیلا بورنتی* گزارش نمودند که روش Nested-PCR، ۱۰ برابر حساس‌تر از PCR است (۲۳).

در مطالعه‌ای که توسط Kim و همکاران طی یک دوره‌ی ۳ ساله از ژانویه ۲۰۰۱ تا دسامبر ۲۰۰۳ در ایالات متحده آمریکا روی ۳۱۶ نمونه شیر مخزن از گله‌های گاو شیری انجام شد، شیوع *کوکسیلا بورنتی* را بسیار بالاتر و بیش از ۹۴٪ گزارش نمودند (۵). همچنین Muskens و همکاران در سال ۲۰۱۱ در کشور هلند، با بررسی نمونه‌ی شیر مخزن ۳۴۱ گله گاو شیری گزارش نمودند که نمونه‌ی شیر ۲۶۸ گله (۷۸/۶٪) حاوی آنتی‌بادی ضد *کوکسیلا بورنتی* و نمونه‌ی شیر ۱۹۳ گله (۵۶/۶٪) حاوی این باکتری می‌باشد (۲۴). نتایج هر سه مورد، از نتایج پژوهش حاضر بالاتر است. اختلافات مشاهده شده ممکن است به علت گوناگونی موقعیت جغرافیایی، وضعیت مدیریت، زمان نمونه‌گیری، چگونگی و نوع روش بررسی، تعداد نمونه‌های اخذ شده و نمونه‌گیری در گله‌های آلوده و غیرآلوده نسبت داد (۲۷،۲۶،۲۵،۵).

در این بررسی بالاترین میزان شیوع آلودگی در بین نمونه‌های جمع‌آوری شده در فصل زمستان بود. نتایج مطالعه‌ی کارگر و همکاران (۲۰۱۲) در جنوب ایران نیز نشان داد که تمام ۱۱ نمونه‌ی شیر خام آلوده به *کوکسیلا بورنتی* مربوط به فصل زمستان بوده است (۵). همچنین، Lyytikainem و همکاران (۱۹۹۸) در آلمان، بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به *کوکسیلا بورنتی* را در طول فصول زمستان و بهار گزارش کردند (۲۶).

به طور مشابهی Fretz و همکاران (۲۰۰۷) میزان شیوع آلودگی شیر گاو در فصل زمستان را به مراتب بیشتر از سایر فصول گزارش نمودند (۱۴). شاید دلیل شیوع بیشتر *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های گرفته شده از فصل زمستان، دفع این میکروارگانیسم بیماری‌زا از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شیر در زمان زایمان به محیط باشد. چون که معمولاً تعداد زایمان در زمستان بیشتر از سایر فصول است. بنابراین تشخیص *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های مخزن شیر تا حدی زیادی به زمان نمونه‌گیری وابسته است.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

نتایج این مطالعه نشان داد که عفونت کوکسیلوزیس با شیوع نسبتاً بالا (۳۲٪) در شهرستان شهرکرد وجود دارد و گاوهای به ظاهر سالم می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش داشته باشند. با این وجود، انجام پژوهش‌ها و مطالعات تکمیلی با تعداد نمونه‌ی بیشتر برای بررسی دقیق آلودگی و همچنین برای تعیین شیوه‌های مدیریت در جهت کاهش آلودگی ضرورت دارد. در همه‌ی بیماری‌های مشترک بین انسان و دام، کنترل بیماری در حیوانات، سطح شیوع بیماری در انسان‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد، بنابراین کنترل کوکسیلوزیس در گله‌های گاو از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین مصرف شیر پاستوریزه می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر پیشگیری از آلودگی این باکتری در مصرف‌کنندگان شیر باشد (۱۸،۸).

نتیجه‌گیری

به‌نظر می‌رسد که شیر گاو می‌تواند یکی از مخازن بالقوه‌ی *کوکسیلا بورنتی* در منطقه‌ی مورد مطالعه باشد. بنابراین مصرف شیر پاستوریزه و عدم استفاده از شیر خام و محصولات لبنی تازه می‌تواند در پیشگیری از آلودگی مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک دانشگاه شهرکرد، سرکار خانم مهندس یکتنه کارشناس پژوهشکده‌ی بیماری‌های مشترک و همچنین آقای مهندس پیمان خادمی به دلیل مساعدت و همکاری در موفقیت این کار پژوهشی، اعلام می‌دارند.

REFERENCES

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

2. Baca O, Dparetsky D. Q Fever and *Coxiella burnetii* a model for host-parasite interactionst. Microbiol Rev 1983; 47: 127–49.

3. Angelakis E, Raoult D. Q fever. Vet Microbiol 2010;140:297–309.

4. Berri M, Laroucau K, Rodolakis A. The detection of *Coxiella burnetii* from ovine genital swabs, milk and fecal samples by the use of a single touchdown polymerase chain reaction. J Vet Microbiol 2000;72:285–93.

5. Kim S, Kim E, Lafferty C, Dubovi E. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. J Emer Infect Dis 2005;11:619–21.

6. Parker N, Barralet J, Bell A. Q fever. Lancet 2006;367:679–88.

7. Cabassi CS, Taddei S, Donofrio G, Ghidini F, Piancastelli C, Flammini CF, *et al*. Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northen Italy. New Microbiol 2006;29:211–4.

8. Guatto 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.

9. Roest H, Tilburg J, Van der Hoek W, Vellema P, Van Zijderveld F, Klaassen C, *et al*. The Q fever epidemic in The Netherlands: history, onset, response and reflection. J Epid Infect 2011;139:1–12.

10. EFSA Panel on Animal Health and Welfare (AHAW) Scientific Opinion on Q Fever. Eur Food Saf Author J 2010; 8(5):1595.

11. Senay S, Zulal O, Ufuk D, Biray O. The seroprevalence of coxiellosis in farmers and cattle in Erzurum. Turk J Vet Animal Sci 2006;30:71–5.

12. Raoult D, Marrie T. Q fever. Clin Infect Dis 1995; 20:489–95.

13. Howe G, Loveless B, Norwood D, Craw P, Waag D, England M, *et al*. Real-time PCR for the early detection and quantification of *Coxiella burnetii* as an alternative to the murine bioassay. Mol Cell Probes 2009;23:127–31.

14. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. Int J Food Microbiol 2007;116:414–8.

15. Klee SR, Tyczka J, Ellerbrok H, Franz T, Linke S, Baljer G,*et al*. Highly sensitive real-time PCR for specific detection and quantification of *Coxiella burnetii*. BMC Microbiol 2006;6: 2.

16. Berri M, Arricau N, Rodolakis A. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. Methods Mol Biol 2003;216:153–61.

17. 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.

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

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]

19. Hirai A, Kaneko S, Nakama A, Ishizaki N, Odagiri M, Kai A, *et al*. Investigation of *Coxiella burnetii* contamination in commercial milk and PCR method for the detection of *C. burnetii* in egg. Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hyg Saf Sci) 2005;46:86–92. (Article in Japanese)

20. Rahimi E, Ameri M, Karim G, Doosti A. Prevalence of *Coxiella burnetii* in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, caprine, and camel herds in Iran as determined by polymerase chain reaction. Food Borne Path Dis 2011;8(2): 307–10.

21. 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.

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. Motohiko O, Agus S, Kozue S, Yan C, Sadashi S, Toshio K. Evaluation of PCR and Nested PCR assays currently used for detection of *Coxiella burnetii* in Japan. Natl Inst Infect Dis 2004;35:852–5.

24. Muskens J, van Engelen E, van Maanen C, Bartels C, Lam T. 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.

25. Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milkshedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. Zoonoses Public Health 2007;54:191–4.

26. 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.

27. Rodolakis A, Berri M, Hechard C, Caudron C, Souriau A, Bodier C, *et al*. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. J Dairy Sci 2007;90:5352–60.

[Downloaded from pajoohande.sbmu.ac.ir on 2026-05-10]