



## Prevalence of *Coxiella burnetii* in goats of Lorestan province

Farzad Kianmehr<sup>1</sup> , Mahmood Mohammadi<sup>2</sup> , Ava Zivdari<sup>3</sup> 

1. Master's student of Bacteriology, Microbiology and food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2. Masters Of Bacteriology, Microbiology and food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
3. DVM student in veterinary medicine, Department of Microbiology and Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Iran

### ABSTRACT

**Background and Aim:** The present study was performed to determine the prevalence of *Coxiella burnetii* in goat milk and serum samples collected from the Lorestan province. A total of 200 milk samples and 200 serum samples were randomly collected from goat herds belonging to four different geographical areas of Lorestan province.

**Materials and Methods:** Milk and serum samples were collected during 1399 and, the age of the animals was recorded. DNA was extracted from all milk and serum samples. Then Nested-PCR was used to detect *C. burnetii* based on the gene responsible for encoding a bacterial outer membrane protein (Com1) weighing 27 kDa. A 438 bp fragment of the *Com1* gene was amplified.

**Results:** The results showed that out of 400 milk and serum samples, 34 samples (17%) were positive for *C. burnetii* infection. Also, out of 200 milk samples, 26 samples (13%), and out of 200 serum samples, eight samples (4%) were infected with *C. burnetii*. There was a significant difference ( $p < 0.05$ ) in the excretion of *C. burnetii* through milk, based on season, geographical area, and age groups, but there was no significant difference between infected sera. Bacterial excretion in milk was very common in summer based on the season (21 samples (39.5%)) and also the highest level of infection based on the geographical area in the east (14 samples (27.5%)) and based on age groups in the group. Age over 7 years (16 specimens (21%)) was observed. Conclusion Due to the importance of *C. burnetii*, its rapid and accurate diagnosis is very important.

**Conclusion:** Nested-PCR molecular technique can be very effective due to its high accuracy, sensitivity, and high speed in the detection process. Therefore, localization of molecular techniques, especially Nested-PCR in the country is recommended to diagnose Q fever. Also, the goat milk and goat population in Lorestan province should be considered as an important factor in the epidemiology of Q fever and consequently general health.

**Keywords:** Goat milk, Goat Sera, *Com1* gene, Nested-PCR, Lorestan province

Received: 05.04.2024

Accept: 09.06.2024

Final Edit: 20.06.2024

Online Publish: 28.06.2024

**Corresponding Information:** Farzad Kianmehr, Master's student of Bacteriology, Microbiology and food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Email: [kianmehr.fa@fv.lu.ac.ir](mailto:kianmehr.fa@fv.lu.ac.ir)



**Cite this article:** Kianmehr, Farzad; Mohammadi, Mahmood; Zivdari, Ava. (2024). Prevalence of *Coxiella burnetii* in goats of Lorestan province. *Animal health and infectious diseases*. 2(1), 74-81.



## بررسی شیوع کوکسیلا بورتتی در بزآن استان لرستان

فرزاد کیان مهر<sup>۱</sup>، محمود محمدی<sup>۲</sup>، آوا زیوداری<sup>۳</sup>

۱. دانشجو کارشناس ارشد باکتری شناسی، میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۲. کارشناس ارشد باکتری شناسی، میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
۳. دانشجوی دکتری دامپزشکی، گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** پژوهش حاضر برای تعیین میزان شیوع کوکسیلا بورتتی در نمونه‌های شیر و سرم بز جمع‌آوری شده از استان لرستان انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** تعداد کلی ۲۰۰ نمونه شیر و ۲۰۰ نمونه سرم به‌طور تصادفی از گله‌های بز متعلق به چهار منطقه مختلف جغرافیایی لرستان، جمع‌آوری شد. نمونه‌های شیر و سرم طی سال ۱۳۹۹ جمع‌آوری و همچنین سن حیوانات ثبت شد. از همه نمونه‌های شیر و سرم DNA استخراج شد. سپس برای تشخیص کوکسیلا بورتتی براساس ژن مسئول کدکننده یک پروتئین غشای بیرونی باکتری به نام (*Com1*) با وزن ۲۷ کیلو دالتون، از روش Nested-PCR استفاده شد. قطعه‌ای در اندازه ۴۳۸ جفت باز از ژن (*Com1*) تکثیر شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که از مجموع ۴۰۰ نمونه شیر و سرم ۳۴ نمونه (۱۷ درصد) از نظر آلودگی به کوکسیلا بورتتی مثبت بودند. همچنین از مجموع ۲۰۰ نمونه شیر بررسی شده ۲۶ نمونه (۱۳ درصد) و از مجموع ۲۰۰ نمونه سرم (۴ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتتی بودند. تفاوت معنی‌داری ( $p < 0.05$ ) در دفع کوکسیلا بورتتی از طریق شیر، براساس فصل، منطقه جغرافیایی و گروه‌های سنی، بزآن وجود داشت، اما تفاوت معنی‌داری بین سرم‌های آلوده وجود نداشت. دفع شدن باکتری در شیر، براساس فصل در تابستان بسیار شایع بود (۲۱ نمونه، ۳۹/۵ درصد) همچنین بیشترین میزان آلودگی براساس منطقه جغرافیایی در غرب (۱۴ نمونه ۲۷/۵ درصد) و براساس گروه‌های سنی در گروه سنی بالای ۷ سال (۱۶ نمونه ۲۱ درصد) مشاهده شد.

**نتیجه‌گیری:** نتیجه‌گیری شد که با توجه به اهمیت باکتری کوکسیلا بورتتی، تشخیص سریع و دقیق آن بسیار حائز اهمیت است. تکنیک مولکولی زنجیره‌ای پلیمرز آشیانه‌ای به‌علت حساسیت، دقت بالا و سرعت زیاد در روند تشخیص می‌تواند بسیار مؤثر باشد. بنابراین بومی‌سازی تکنیک‌های مولکولی، به‌ویژه زنجیره‌ای پلیمرز آشیانه‌ای در کشور برای تشخیص عامل تب کیو توصیه می‌شود. همچنین شیر بز و جمعیت بزآن در استان لرستان بایستی به‌عنوان عامل مهمی در اپیدمیولوژی تب کیو و در نتیجه سلامت عمومی در نظر گرفته شود.

**کلیدواژه‌ها:** شیر بز، سرم بز، ژن *Com1*، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز آشیانه‌ای، استان لرستان

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۱۷ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۲۰ ویرایش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۳۱ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۴/۰۸

**اطلاعات نویسنده مسئول:** فرزاد کیان مهر، دانشجوی کارشناسی ارشد باکتری شناسی، گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده

دامپزشکی، دانشگاه لرستان، ایران. Email: [kianmehr.fa@fv.lu.ac.ir](mailto:kianmehr.fa@fv.lu.ac.ir)

**استناد:** کیان مهر، فرزاد، محمدی، محمود؛ زیوداری، آوا (۱۴۰۳). بررسی شیوع کوکسیلا بورتتی در بزآن استان لرستان. بهداشت و بیماری

های عفونی دام، ۲ (۱)، ۷۴-۸۱.



## مقدمه

بیماری تب کیو را اولین بار در سال ۱۹۳۷ فردی به نام ادوارد دریک ( Edward Derrick ) مطرح کرد (۱). در سال ۱۹۳۵ از ادوارد دریک برای بررسی شیوع بیماری تب‌دار در بریسین دعوت شد. ادوارد دریک بعد از بررسی‌ها و مطالعات خود متوجه شد که بندپایان ناقل احتمالی این بیماری‌اند. در مطالعاتی هم‌زمان با ادوارد دریک فردی به نام فرانک مک فارلن بورت ( Frank Macfarlane Burnet ) منشأ ریکتزیایی احتمالی این بیماری را در سال ۱۹۳۷ ارائه داد (۱).

بیماری تب کیو در تمام دنیا پراکنده است، تنها مناطق عاری از بیماری تب کیو نیوزلند و قطب شمال بودند. از بعد همه‌گیری بیماری تب کیو از کشوری به کشور دیگر متفاوت است. برای نمونه فرم هپاتیت در فرانسه و پنومونی در کانادا بیشتر تظاهر دارد (۲).

این بیماری در نقاط مختلف دنیا گزارش شده است، ولی به علت خفیف بودن علائم و نشانه‌های بالینی و مشکلات تشخیصی موارد گزارش شده بسیار کم است. به دلیل اینکه این بیماری، بیماری مرتبط با شغل است، کشاورزان، دام‌پزشکان، کارکنان صنایع گوشت و صنایع شیر بیشتر در معرض خطرند (۳، ۴).

مهم‌ترین مسیرهای انتقال کوکسیلا بورتی عبارت‌اند از: ۱- انتقال از طریق آئروسول‌ها یا (ریز قطرات موجود در هوا)؛ طبق تحقیقات و شواهد تجربی و اپیدمیولوژیک، آئروسول‌های موجود در هوا می‌توانند در انتقال کوکسیلا بورتی نقش مهمی داشته باشند. ۲- مسیر دهانی؛ به دلیل دفع کوکسیلا بورتی از طریق شیر، شیر خام می‌تواند منبع مهمی برای آلودگی باشد. بنابراین خوردن محصولات لبنی پاستوریزه‌نشده می‌تواند از عوامل خطر ابتلا به این بیماری باشد. ۳- انتقال از طریق بندپایان؛ بندپایانی مانند کنه‌ها می‌توانند در انتقال کوکسیلا بورتی به حیوانات اهلی نقش داشته باشند. ۴- انتقال فرد به فرد؛ انتقال عامل بیماری تب کیو از انسان به انسان نادر است. ولی در مواردی در کشور آلمان گزارش شده است (۱، ۵).

از میان حیوانات اهلی نشخوارکنندگانی چون گاو، بز و گوسفند بیشترین مخازن کوکسیلا بورتی در طبیعت محسوب می‌شوند. ارگانسیم به‌راحتی از طریق شیر، ادرار، مدفوع و ترشحات رحمی گاو، گوسفند و بز آلوده دفع می‌شود و دوره دفع کوکسیلا بورتی در گوسفند کوتاه‌تر از گاو است. کوکسیلا بورتی به‌وفور در مایع آمیونی، جفت و

پرده‌های جنینی میش، بز و گاو پس از زایمان حضور دارد. نشخوارکنندگان در هنگام زایمان یا سقط مقادیر بسیار زیادی از ارگانسیم را به محیط دفع می‌کنند از این‌رو این مواد اصلی‌ترین منابع آلودگی محسوب می‌شوند (۱، ۶). حیوانات اغلب به‌صورت مزمن عفونی می‌شوند، ولی علامتی نشان نمی‌دهند. رحم و غدد پستانی حیوانات ماده محل‌های عفونت مزمن کوکسیلا بورتی‌اند. این حاملان بی‌نشان، باکتری را در ترشحات رحمی، شیر، مدفوع و ادرار دفع می‌کنند. ارگانسیم به‌طور منظم از حیوانات دفع نمی‌شود و زمان آن محدود به دوره زایمان است. تخمین زده شده است که هر گرم بافت جفت عفونی حاوی یک میلیارد باکتری است. در گاو حداکثر دوره دفع باکتری مطابق با زایمان و دو هفته بعد از آن است. گاوهای شیری عفونی باکتری را در شیر برای ماه‌ها بعد از زایمان دفع می‌کنند. اما به نظر می‌رسد که در استرالیای غربی نشخوارکنندگان اهلی مهم‌ترین مخازن کوکسیلا بورتی نیستند و کانگورو در این منطقه شیوع بیشتری از عفونت کوکسیلا را نشان می‌دهد و خطر جدی برای انتقال آن به حیوانات اهلی و انسان هستند. حیوانات خانگی شامل گربه، خرگوش و سگ نیز نشان داده شده که می‌توانند منابع بالقوه‌ی شیوع در شهرها باشند (۷).

## نمونه‌گیری

این بررسی که به‌صورت توصیفی در سال ۱۳۹۹ انجام شد. تعداد ۲۰۰ نمونه شیر و ۲۰۰ نمونه سرم بز از استان لرستان جمع‌آوری شد. تعداد نمونه‌های جمع‌آوری‌شده براساس فصول و مناطق مختلف جغرافیایی در جدول ۱ و شکل ۲ آورده شده است.

## جمع‌آوری نمونه‌های شیر

نمونه‌های شیر براساس موقعیت جغرافیایی از شمال، جنوب، شرق و غرب جمع‌آوری شدند. برای گرفتن نمونه شیر ابتدا سرپستانک‌های هر دام با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی شدند و سپس چند قطره از شیر پستان دور ریخته شد و از شیر میانی مقدار ۱۵ میلی‌لیتر نمونه شیر به‌داخل لوله‌های فالکن استریل ریخته شد. در مرحله بعدی نمونه‌ها در کنار یخ داخل جعبه مخصوص نمونه به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی انتقال داده شدند.

## جمع‌آوری نمونه‌های خون

برای بررسی شیوع مولکولی کوکسیلا بورتی در سرم، ۲۰۰ نمونه خون جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون در شرایط آسپتیک از ورید وداج

### مراحل انجام PCR و Nested-PCR ژن Com1

به منظور ردیابی کوکسیلا بورتی در نمونه‌ها از روش Berri و همکاران استفاده شد (۸). پس از سانتریفیوژ کردن نمونه‌ها و جداسازی چربی، از رسوب حاصل برای استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA استفاده شد. DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریز منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. برای بررسی حضور DNA ژنومی کوکسیلا بورتی در نمونه‌ها، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز آشیانه‌ای (Nested-PCR) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *com1* که کدکننده پروتئین غشای خارجی کوکسیلا بورتی است که براساس مطالعه Zhang و همکاران (۱۹۹۸) و Fretz و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب شد (۹، ۱۰) (جدول ۲-۳). برای انجام PCR مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کاررفته در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. مقدار پنج میکرولیتر DNA الگو (۱۰ نانوگرم DNA الگو در هر واکنش)، یک میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۲۵ میکرومولار (OMP1, OMP 2)، ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس به صورت آماده (Ampliqon, Denmark)، سپس به هر نمونه ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. و در نهایت میکروتیوب‌ها در داخل دستگاه ترموسایکلر (Quanta Biotech, England) قرار داده شدند و برنامه دمایی براساس جداول (۲)، (۳) تنظیم شد.

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. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله دوم در ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی رنگ safe stain (Smobio, Taiwan) شد و با دستگاه تصویربرداری از ژل یا ژل‌داک (Gel Doc) مشاهده و بررسی شد. در این بررسی، کنترل مثبت DNA ژنومی کوکسیلا بورتی استاندارد (Coxiella burnetii standard) (Nine Mile strain (RSA 493)) و کنترل منفی شامل مخلوط همه واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد.

با استفاده از ظروف استریل فاقد ماده ضدانقباض گرفته و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس فوراً سرم را با سانتریفیوژ کردن در دور ۱۵۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق جدا کرده و تا زمان انجام PCR در فریز منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

حیوان	شیر	سرم	جمع
گروه سنی	۱-۴	۶۰	۱۲۰
	۴-۷	۶۴	۱۲۸
	>۷	۷۶	۱۵۲
فصل	بهار	۴۷	۹۴
	تابستان	۵۳	۱۰۶
	پاییز	۴۶	۹۲
	زمستان	۵۴	۱۱۴
منطقه	شمال	۴۸	۹۶
	مرکز	۴۹	۹۸
	جنوب	۵۱	۱۰۲
	غرب	۵۲	۱۰۴

جدول ۱: تعداد نمونه‌های شیر و سرم جمع‌آوری شده از بز استان لرستان براساس سن، فصل، منطقه جغرافیایی استان لرستان

### استخراج DNA از شیر و سرم

ابتدا یک سی‌سی نمونه به میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری انتقال داد شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ شد و رسوب به دست آمده در چند مرحله با آب دیس شست‌وشو داد شد. در مرحله بعد رسوب به دست آمده در ۳۰۰ میکرولیتر آب دیس حل شد و به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی دور ریخته شد. در این مرحله رسوب به دست آمده با ۳۰۰ میکرولیتر آب دیس مخلوط و ورتکس شد و به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ شد، و به مانند مرحله قبل مایع رویی دور ریخته شد. در دومین مرحله شست‌وشو، رسوب در ۲۰۰ میکرولیتر آب دیس حل شد و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس نمونه‌ها بر روی یخ سرد شد، در مرحله پایانی میکروتیوب حاوی نمونه به مدت ۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰g سانتریفیوژ شد و مایع رویی به میکروتیوب جدید انتقال داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. و در نهایت DNA به دست آمده تا زمان انجام مراحل PCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد.

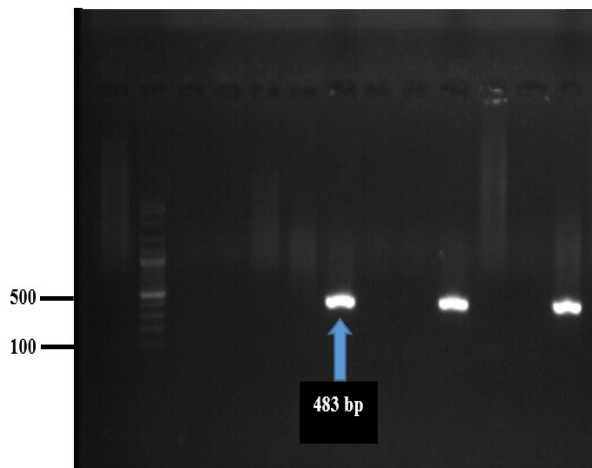
دو انجام شد. از برنامه آماری SPSS نسخه ۲۲ (IBM, USA) برای انجام آزمون آماری استفاده شد.

## نتایج

### نتایج آزمایش DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی در شیر بز و سرم بز

در مجموع از ۴۰۰ نمونه شیر و سرم بز تعداد ۱۵ نمونه (۳/۷ درصد) مثبت بودند. همچنین تعداد نمونه‌های آلوده به شیر و سرم به ترتیب ۱۰ نمونه (۵ درصد) و ۵ نمونه (۲/۵ درصد) از نظر وجود DNA کوکسیلا بورنتی مثبت بودند (شکل ۲).

bp 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13



شکل ۲: آزمایش Nested-PCR شیر و سرم بز مطالعه شده

ردیف ۱؛ کنترل منفی، ردیف ۲؛ مارکر استاندارد (۱۰۰bp): ردیف‌های ۳، ۴، ۵، ۶، ۸، ۹، ۱۱ و ۱۲ نمونه‌های منفی، ردیف‌های ۶ و ۱۰؛ نمونه‌های مثبت، شماره ۱۳ کنترل مثبت (*C. burnetii* standard Nine Mile strain RSA 493)

### نتایج به دست آمده بر اساس فصل (نمونه‌های شیر و سرم)

بیشترین میزان وقوع آلودگی در فصل تابستان مشاهده شد؛ یعنی از ۵۳ نمونه شیر ۲۱ نمونه (۳۹/۵ درصد) مثبت بودند و همچنین از ۵۳ نمونه سرم ۳ نمونه (۵/۶ درصد) مثبت بودند. از ۱۰۰ نمونه شیر در فصل پاییز و زمستان هیچ نمونه مثبتی مشاهده نشد، اما از مجموع ۱۰۶ نمونه سرم به ترتیب، از ۴۶ نمونه سرم پاییز تعداد ۳ نمونه (۶/۵ درصد) مثبت بود و از ۶۰ نمونه زمستان تعداد ۳ نمونه (۵ درصد) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند. از ۹۴ نمونه شیر و سرم در فصل بهار در مجموع ۸ نمونه مثبت بود، ۵ نمونه شیر (۱۷ درصد) و ۳ نمونه سرم (۴/۲ درصد) مثبت بودند. بررسی نتایج نشان می‌دهد شیوع بیماری در فصول مختلف تفاوت

محصول PCR (جفت باز)	سکانس ۳/-----۵/	نام پرایمر	پروتکل
۵۰۱	AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG	OMP1	Normal-PCR
	TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG	OMP2	
۴۳۸	GAAGCGCAACAAGAAGAACAC	OMP3	nested-PCR
	TTGGAAGTTATCACGCAGTTG	OMP4	

جدول ۲: پرایمرهای استفاده شده در روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای برای شناسایی ژن Com1 (۱۰).

تعداد چرخه	زمان	دما	مرحله
۱	۳ دقیقه	۹۴	واشرت‌سازی اولیه
۳۰	۴۵ ثانیه	۹۴	واشرت‌سازی
	۴۵ ثانیه	۵۶	چسبیدن پرایمر
	۴۵ دقیقه	۷۲	توسعه
۱	۵ دقیقه	۷۲	توسعه نهایی

جدول ۳: برنامه و سیکل‌های دمایی PCR برای شناسایی ژن Com1 (۱۰).

تعداد چرخه‌ها	زمان	دما (°C)	مرحله
۱	۳ دقیقه	۹۴	واشرت‌سازی اولیه
۳۵	۴۵ ثانیه	۹۴	واشرت‌سازی
	۴۵ ثانیه	۵۶	چسبیدن پرایمر
	۴۵ دقیقه	۷۲	توسعه
۱	۷ دقیقه	۷۲	توسعه نهایی

جدول ۴: برنامه و سیکل‌های دمایی واکنش پلیمراز آشیانه‌ای برای شناسایی ژن Com1 (۱۰).

## الکتروفورز

در این مرحله با توجه به اندازه آمپلیکون‌ها، ژل آگاروز ۱/۵ درصد تهیه شد که برای این منظور ۰/۸ گرم آگاروز به ۴۰ سی سی TBE با غلظت ۰/۵X اضافه شد و تا شفاف شدن آن حرارت داده شد و در حین سرد شدن ۱/۵ میکرولیتر رنگ safe stain (Smobio, Taiwan) در زیر هود لامینار به محلول اضافه شد و خوب مخلوط شد تا ترکیب حاصل کاملاً یکنواخت شد. در نهایت مخلوط حاصل، در زیر هود داخل قالب‌های مخصوص ژل الکتروفورز ریخته شد. با زله‌ای و سفت شدن مخلوط، ژل آگاروز برای انجام الکتروفورز استفاده شد.

## آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از روش آماری کای (Chi-square Tests)

حیوان	دسته بندی	(درصد مثبت) و تعداد نمونه شیر	(درصد مثبت) و تعداد نمونه سرم	جمع کل (درصد مثبت ها) و کل نمونه ها
گروه سنی	۱-۴	۶۰ (درصد ۰)	۶۰ (درصد ۰)	۱۲۰ (درصد ۰)
	۴-۷	۱۵/۶ (درصد) ۶۴	۴/۷ (درصد) ۶۴	۱۲۸ (درصد ۱۰/۱)
	>۷	۲۱ (درصد) ۷۶	۶/۶ (درصد) ۷۶	۱۵۲ (درصد ۱۳/۸)
فصل	بهار	۱۰/۶ (درصد) ۴۷	۴/۲ (درصد) ۴۷	۹۴ (درصد ۷/۴)
	تابستان	۳۹/۵ (درصد) ۵۳	۵/۸ (درصد) ۵۳	۱۰۶ (درصد ۲۲/۶)
	پاییز	۴۰ (درصد) ۴۶	۶/۵ (درصد) ۴۶	۹۲ (درصد ۳/۳)
	زمستان	۴۰ (درصد) ۵۴	۵ (درصد) ۶۰	۱۱۴ (درصد ۲/۶)
منطقه	شمال	۸/۳ (درصد) ۴۸	۶/۲ (درصد) ۴۸	۹۶ (درصد ۷/۳)
	جنوب	۸/۱ (درصد) ۴۹	۲ (درصد) ۴۹	۹۸ (درصد ۵/۱)
	شرق	۲۷/۵ (درصد) ۵۱	۵/۹ (درصد) ۵۱	۱۰۲ (درصد ۱۶/۶)
	غرب	۷/۷ (درصد) ۵۲	۳/۸ (درصد) ۵۲	۱۰۴ (درصد ۵/۸)

جدول ۵: شیوع کوکسیلا بورتی در نمونه های شیر و سرم جمع آوری شده از بز استان لرستان بر اساس سن، فصول و مناطق مختلف استان لرستان

### بحث

تب کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که به صورت نوپدید و بازپدید 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 آن ها هستند فراوانی بیشتری دارد، اما با توجه به مقاومت بالای عامل بیماری زا 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 مطرح است. تب کیو در بز استان لرستان ایران وجود دارد. آلودگی محیطی در مزارع آلوده از طریق دفع باکتری به وسیله حیوانات آلوده از طریق جفت، مایعات جنین، ترشحات واژن، مدفوع، ادرار و شیر منشأ می گیرد. در حیوانات شیوع تب کیو در ماده ها بیشتر از دام های نر است که به دلیل حساسیت بیشتر دام های ماده نسبت به دام های نر است. علاوه بر این، حاملگی یک عامل مهم در بروز تب کیو است و شیوع سرمی بیشتر این بیماری در دام ها در دوران بارداری گزارش شده است. فعال سازی مجدد عفونت تب کیو در پستانداران ماده در دوران بارداری اتفاق می افتد. تب کیو باعث سقط جنین در بزها می شود.

امروزه به دلیل رونق صنعت شیر در کشور، کمتر به خصوصیات و کیفیت شیمیایی و میکروبی شیر بز پرداخته می شود. اما آمارها حاکی از

معنی داری دارد ( $P < 0/05$ ). به طوری که فراوانی آلودگی شیر و سرم به این باکتری به ترتیب در فصول تابستان و بهار بیشتر از سایر فصل ها بوده است (جدول ۱-۴).

### نتایج به دست آمده بر اساس منطقه جغرافیایی

بیشترین میزان آلودگی نمونه های شیر گرفته شده در منطقه غرب مشاهده شد. یعنی از مجموع ۵۱ نمونه شیر ۱۴ نمونه (۲۷/۵ درصد) و از مجموع ۵۱ نمونه سرم ۳ نمونه (۵/۹ درصد) از نظر آلودگی به کوکسیلا بورتی مثبت بودند. از مجموع ۹۸ نمونه، ۴۹ نمونه شیر و ۴۹ نمونه سرم گرفته شده در منطقه جنوب، تعداد ۴ نمونه شیر (۸/۱ درصد) و ۱ نمونه سرم (۲ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتی مشاهده شد و از تعداد ۹۶ نمونه شیر و سرم گرفته شده در منطقه شمال استان لرستان، تعداد ۴ نمونه شیر (۳/۳ درصد) و ۲ نمونه سرم (۲/۲ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتی بودند، در نهایت از تعداد ۱۰۴ نمونه شیر و سرم گرفته شده در منطقه شرق، تعداد ۴ نمونه شیر (۷/۷ درصد) و ۲ نمونه سرم (۳/۸ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتی بودند (جدول ۱-۴). بررسی نتایج این مطالعه نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین فراوانی آلودگی شیر در مناطق شمال، مرکز و جنوب استان وجود دارد ( $P < 0/05$ ). از این رو می توان نتیجه گرفت که منطقه جغرافیایی بر میزان عفونت به کوکسیلا بورتی و دفع از طریق شیر در بز استان لرستان تفاوت معنی داری داشته است ( $P < 0/05$ ).

### نتایج به دست آمده بر اساس سن حیوان

در این مطالعه سه گروه سنی به ترتیب (۱-۴ سال، ۴ تا ۷ سال و بالای ۷ سال) در نظر گرفته شد. از مجموع ۶۰ نمونه شیر و ۶۰ نمونه سرم در گروه سنی ۱ تا ۴ سال هیچ کدام از نمونه ها آلوده به کوکسیلا بورتی نبودند. از تعداد ۱۲۸ نمونه شیر و سرم در گروه سنی ۴ تا ۷ سال ۱۰ نمونه شیر (۱۵/۶ درصد) و ۳ نمونه سرم (۴/۷ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتی مشاهده شد. از تعداد ۷۶ نمونه شیر و ۷۶ نمونه سرم در گروه سنی بالای ۷ سال، ۱۶ نمونه شیر (۲۱ درصد) و ۵ نمونه سرم (۶/۶ درصد) آلوده به کوکسیلا بورتی بودند. بررسی نتایج این مطالعه نشان می دهد که اختلاف معنی داری بین آلودگی به کوکسیلا بورتی و سن بز مشاهده شد، بنابراین مشخص شد که بین سن بز با بروز عفونت ناشی از کوکسیلا بورتی در بز استان لرستان ارتباط معنی داری وجود دارد ( $P < 0/05$ ) (جدول ۵).

براساس مطالعه مولکولی Esmaeili و همکاران شیوع کوکسیلا بورتی در شیر بز (۷/۸ درصد) در ایران برآورد شده است. شیوع کوکسیلا بورتی در شیر بز از کشورهای مختلف دنیا از (۰ درصد) تا (۳۲/۹ درصد) گزارش شده است: (۰ درصد) در عربستان سعودی (Mohammad و همکاران ۲۰۱۴)، (۰ درصد) در سوئیس (Fretz و همکاران ۲۰۰۷)، (۳،۴ درصد) در لهستان (Cisak و همکاران ۲۰۱۷)، (۱۴ درصد) در مصر (Khalifhe و همکاران ۲۰۱۶) و (۳۲،۹ درصد) در هلند (Van den Brom و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به مطالعات انجام شده به نظر می‌رسد بزها مخزن اصلی عفونت انسان در ایران هستند، اما برای اثبات این موضوع مطالعات بیشتری نیاز است (۱۳، ۱۴).

در مطالعه Mohammadi و Jafarpor (۱۳۹۴)، میزان آلودگی سرمی کوکسیلا بورتی در بز و گوسفند غرب استان مازنداران (۳/۲ درصد) گزارش شده است. همچنین در مطالعه Mir Azizi و همکاران (۱۳۹۶) میزان شیوع سرمی کوکسیلا بورتی در بز از اهواز (۳۴/۳۱ درصد) گزارش شده است. در مطالعات دیگر در استان خراسان رضوی میزان شیوع سرمی کوکسیلا بورتی در بز از این منطقه (۲۹/۸ درصد) بوده است. در تنها مطالعه انجام شده در جنوب شرقی ایران شیوع سرمی در بز از این منطقه به روش سرولوژی (۵/۷۸ درصد) گزارش شده است. مطالعات سرولوژی در دیگر کشورها میزان شیوع سرمی کوکسیلا بورتی را در بز (۱۲/۴ درصد) تا (۴۸ درصد) گزارش کرده است (۱۵).

اختلافات مشاهده شده ممکن است به علت تفاوت در تعداد نمونه، محل جغرافیایی و در نتیجه، شرایط آب‌وهوایی مناطق و نحوه مدیریت باشد. انتقال کوکسیلا بورتی به طور عمده از طریق آئروسول‌های آلوده انجام می‌گیرد و ممکن است پایین بودن رطوبت نسبی هوا و شرایط آب‌وهوایی نسبتاً گرم و خشک به خصوص در مناطق شرقی استان لرستان باعث شود که این آئروسول‌ها 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 آئروسول‌ها و رسوب سریع آن‌ها می‌شود.

انتشار کوکسیلا بورتی از حیوانات آلوده به محیط ممکن است از راه‌های مختلفی از جمله ترشحات واژن، مدفوع، ادرار، جفت یا مایعات جنینی و شیر روی دهد و این راه در حیوانات مختلف متفاوت است. مطالعات نشان می‌دهد گوسفندان آلوده به کوکسیلا بورتی عمدتاً این

آن است که بز و گوسفندان ایران حدود ۱۰ درصد کل شیر گوسفندهای جهان را تولید می‌کنند و از این حیث بعد از کشور فرانسه و ترکیه در رده سوم جهانی هستند. همچنین از لحاظ بهره‌وری تولید شیر بز و گوسفند، بعد از کشورهای یونان و ایتالیا در رده سوم جهانی قرار دارند. این در حالی است که ۱۰ کشور حاشیه دریای مدیترانه که دارای بهترین نژادهای گوسفند دنیا و نیز صادرکنندگان عمده محصولات شیری گوسفندند، حدود ۶ درصد کل شیر گوسفند و بز دنیا را تولید می‌کنند. بدین ترتیب پرداختن به تولید و کیفیت شیر گوسفند اهمیت ویژه‌ای دارد.

با توجه به اینکه بیماری تب کیو به طور اولیه یک بیماری شغلی محسوب می‌شود، ولی مصرف شیر و فرآورده‌های آلوده آن نیز می‌تواند نقش مهمی در اپیدمیولوژی بیماری در انسان داشته باشد. تا به امروز مطالعات متعددی در خصوص کوکسیلا بورتی عامل تب کیو در حیوانات انجام شده است. اما ناآگاهی از این بیماری منجر به تشخیص ندادن و کم گزارش شدن موارد تب کیو می‌شود. کوکسیلا بورتی دارای قدرت عفونت‌زایی بسیار بالا است (۱۰، ۱۱). به دلیل گزارشات مکرر از سرتاسر جهان و با توجه به اینکه شیوع تب کیو از لحاظ جغرافیایی بومی شده و محدود به یک قسمت خاصی است. همچنین به علت اهمیت تب کیو در تأثیر سلامت عمومی نیاز به شناسایی منبع و تأیید ارتباط با بیماری انسان لازم است (۱۲).

مطالعه حاضر اولین مطالعه اپیدمیولوژیک در مورد تب کیو در بز استان لرستان است. مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک نسبت به کوکسیلا بورتی در ۱۰/۷ درصد از افرادی که از شیر خام مصرف کرده‌اند مثبت بوده است؛ در حالی که این میزان در افرادی که به این شکل در معرض آلودگی نبوده‌اند ۰/۷ درصد گزارش شده است. نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلوواکی و اسپانیا گزارش شده است. نتایج مطالعه حاضر بیانگر آلودگی بالای شیر بز به کوکسیلا بورتی است. بزها یکی از مخازن مهم عفونت کوکسیلا بورتی در انسانند. براساس مطالعات انجام شده در سال‌های ۲۰۰۷-۲۰۰۱ بیش از ۴۰۰۰ مورد تب کیو انسانی در اثر مصرف شیر بز گزارش شده است. همچنین در استرالیا عفونت ناشی از تب کیو بیشتر مربوط به مصرف شیر بز است. تا به امروز ۶ مطالعه مولکولی در ۸ استان کشور ایران شیوع کوکسیلا بورتی را در شیر بز بررسی کرده‌اند. شیوع در مناطق مختلف جغرافیایی بسیار متغیر بود و استان‌های قم (۰ درصد) و لرستان (۴۴/۷ درصد) به ترتیب کمترین و بیشترین فراوانی کوکسیلا بورتی را در شیر بز نشان دادند (۱۳).

4. Gozalan A, Rolain J, Ertek M, Angelakis E, Coplu N, Basbulut E, et al. Seroprevalence of Q fever in a district located in the west Black Sea region of Turkey. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*. 2010;29:465-9.
5. Hatchette T, Hudson R, Schlech W, Campbell N, Hatchette J, Ratnam S, et al. Caprine-associated Q fever in Newfoundland. 2000.
6. Fard SN, Khalili M. PCR-detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected from sheep and goats in southeast Iran. *Iranian journal of arthropod-borne diseases*. 2011;5(1):1.
7. Mertens K, Samuel JE. *Bacteriology of Coxiella. Rickettsial diseases*. 2007:269-82.
8. Berri M, Rousset E, Hechard C, Champion J, Dufour P, Russo P, et al. Progression of Q fever and *Coxiella burnetii* shedding in milk after an outbreak of enzootic abortion in a goat herd. 2005.
9. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. *International journal of food microbiology*. 2007;116(3):414-8.
10. Zhang G, Hotta A, Mizutani M, Ho T, Yamaguchi T, Fukushi H, et al. Direct identification of *Coxiella burnetii* plasmids in human sera by nested PCR. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(8):2210-3.
11. Loftis AD, Priestley RA, Massung RF. Detection of *Coxiella burnetii* in commercially available raw milk from the United States. *Foodborne pathogens and disease*. 2010;7(12):1453-6.
12. Signs KA, Stobierski MG, Gandhi TN. Q fever cluster among raw milk drinkers in Michigan, 2011. *Clinical infectious diseases*. 2012;55(10):1387-9.
13. Esmacili S, Mohabati Mobarez A, Khalili M, Mostafavi E, Moradnejad P. Molecular prevalence of *Coxiella burnetii* in milk in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Tropical animal health and production*. 2019;51:1345-55.
14. Esmacili S, Mobarez AM, Khalili M, Mostafavi E. High prevalence and risk factors of *Coxiella burnetii* in milk of dairy animals with a history of abortion in Iran. *Comparative immunology, microbiology and infectious diseases*. 2019;63:127-30.
15. Rezaei A, Gh D. Seroprevalence of Lyme disease and Q fever in referred dogs to Veterinary Hospital of Ahvaz. *Iranian Veterinary Journal*. 2016;11(4):34-41.

عامل را از مدفوع و ترشحات واژن به محیط دفع می‌کنند و بنابراین آلودگی شیر این حیوانات به کوکسیلا بورتی بیشتر ناشی از آلودگی مدفوعی شیر در زمان دوشش است و با رعایت اصول بهداشت در زمان دوشش می‌توان میزان آلودگی را به حداقل رساند. این پاتوژن در گاو عمدتاً از شیر و در بز از ترشحات رحمی، مدفوع و شیر به محیط دفع می‌شود.

در مطالعه حاضر مشخص شد که اختلاف معنی‌داری بین سن و دفع کوکسیلا بورتی از طریق شیر گاو وجود دارد ( $P < 0.05$ ). این یافته مطابق با گزارش قبلی است که در آن گزارش شده است، سن عامل خطر قابل توجهی برای دفع کوکسیلا بورتی از طریق شیر گاو بوده و شانس نتیجه مثبت با توجه به افزایش سن برای هر سال ۱/۶۷ برابر افزایش یافته است (۱۳). مطالعات انجام‌شده در ایران نشان می‌دهد که تب کیو در ایران، یک بیماری اندمیک بوده و نقش آن در تهدید سلامتی حیوانات و انسان، به‌خاطر فراوانی موارد تحت بالینی و عدم تمایز موارد بالینی از بیماری‌هایی نظیر تب مالت و آنفلوانزا، بسیار دست‌کم گرفته شده است.

### نتیجه‌گیری

پژوهش حاضر نشان داد که شیوع تب کیو در جمعیت بزها قابل توجه است. بنابراین، بایستی به‌عنوان یکی از عوامل عفونی زئونوز مهم، دام‌پزشکان و سیاست‌گذاران بهداشتی به آن توجه ویژه نشان دهند. واکسیناسیون، عامل بهداشتی مهمی در پیشگیری و کنترل بیماری محسوب می‌شود. کارایی واکسیناسیون دام‌ها علیه تب کیو در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است؛ به‌طوری که، کاربرد واکسن تب کیو باعث کاهش سقط و کاهش یا قطع دفع باکتری از راه ترشحات شده است. با توجه به اینکه راه آلودگی انسان و حیوانات تنفسی-گوارشی است، بایستی با واکسیناسیون حیوانات علیه تب کیو و به‌سازی محیط از پیدایش آئروسول‌های آلوده جلوگیری کرده و با پاستوریزاسیون شیر امکان انتقال باکتری از راه محصولات لبنی منتفی شود.

### منابع

1. Maurin M, Raoult Df. Q fever. *Clinical microbiology reviews*. 1999;12(4):518-53.
2. Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? *Veterinary research*. 2005;36(3):327-49.
3. Delsing C, Kullberg B. Q fever in the Netherlands: a concise overview and implications of the largest ongoing outbreak. 2008.