Bi-quarterly Journal of
Animal health and infectious diseases
Volume 1, Number 2
Journal homepage: https://jahid.lu.ac.ir/

Prevalence of *Coxiella burnetii* in gaots of Lorestan province

Farzad kianmehr[1], Mahmood Mohammadi[2] Ava Zivdari[3]

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 Nasted-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: 2024.08.16 **Accept: 2024.08.29** **Online Publish:2024.08.29**

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

Copyright © 2023, This is an original open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribution of the material just in noncommercial usage with proper citation.

دو فصلنامه
بهداشت و بیماری های عفونی دام
سال ۱ ، شماره ۲
صفحه مجله: https://jahid.lu.ac.ir/

بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در بزان استان لرستان

فرزاد کیان مهر[۱]، محمود محمدی[۲] آوا زیوداری[۳]

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 بورنتی* در نمونه‌های شیر و سرم بز جمع‌آوری‌شده از استان لرستان انجام شده است.

مواد و روش ها: 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 همهٔ نمونه‌های شیر و سرم DNA استخراج شد. سپس برای تشخیص *کوکسیلا بورنتی* براساس ژن مسئول کدکنندهٔ یک پروتئین غشای بیرونی باکتری به نام (*Com1*) با وزن ۲۷ کیلو دالتون، از روش Nested-PCR استفاده شد. قطعه‌ای در اندازهٔ ۴۳۸ جفت باز از ژن (*Com1*) تکثیر شد.

یافته ها: نتایج نشان داد که از مجموع ۴۰۰ نمونه شیر و سرم ۳۴ نمونه (۱۷درصد) ازنظر آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند. همچنین از مجموع ۲۰۰ نمونه شیر بررسی‌شده ۲۶ نمونه (۱۳درصد) و از مجموع ۲۰۰ نمونه سرم ۸ نمونه (۴درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* بودند. تفاوت معنی‌داری ($p <$ ۰/۰۵) در دفع *کوکسیلا بورنتی* ازطریق شیر، براساس فصل، منطقهٔ جغرافیایی و گروه‌های سنی، بزان وجود داشت، اما تفاوت معنی‌داری بین سرم‌های آلوده وجود نداشت. دفع شدن باکتری در شیر، براساس فصل در تابستان بسیار شایع بود (۲۱ نمونه، ۳۹/۵درصد) همچنین بیشترین میزان آلودگی براساس منطقهٔ جغرافیایی در غرب (۱۴ نمونه ۲۷/۵درصد) و براساس گروه‌های سنی در گروه سنی بالای ۷ سال (۱۶ نمونه ۲۱درصد) مشاهده شد.

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

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

دریافت: ۱۴۰۳/۰۵/۲۶ **پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۸** **انتشار آنلاین:۱۴۰۳/۰۶/۰۸**

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

حق چاپ © ۲۰۲۳، این یک مقاله با دسترسی آزاد اصلی است که تحت شرایط Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License توزیع شده است که اجازه کپی و توزیع مجدد مطالب را فقط در استفاده غیرتجاری با استناد مناسب می دهد.

مقدمه

بیماری تب کیو را اولین‌بار 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 بریسبن 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 بورنت (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 به‌علت خفیف بودن علائم و نشانه‌های بالینی و مشکلات تشخیصی موارد گزارش‌شده بسیار کم است. به‌دلیل 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 بورنتی* عبارت‌اند از: ۱- انتقال ازطریق آئروسل‌ها یا (ریز قطرات موجود در هوا)؛ طبق تحقیقات و شواهد تجربی و اپیدمیولوژیک، آئروسل‌های موجود در هوا می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* نقش مهمی داشته باشند. ۲- مسیر دهانی؛ به‌دلیل دفع *کوکسیلا بورنتی* ازطریق 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 ازطریق بندپایان؛ بندپایانی مانند کنه‌ها می‌توانند در انتقال *کوکسیلا بورنتی* 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 بورنتی* در طبیعت محسوب می‌شوند. ارگانیسم به‌راحتی ازطریق شیر، ادرار، مدفوع و ترشحات رحمی گاو، گوسفند و بز آلوده دفع می‌شود و دورهٔ دفع *کوکسیلا بورنتی* در گوسفند کوتاه‌تر از گاو است. *کوکسیلا بورنتی* به‌وفور در مایع آمنیونی، جفت و پرده‌های جنینی میش، بز و گاو پس از زایمان حضور دارد. نشخوارکنندگان در هنگام زایمان یا سقط مقادیر بسیار زیادی از ارگانیسم را به محیط دفع می‌کنند ازاین‌رو 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 بورنتی*‌اند. این حاملان بی‌نشان، باکتری را در ترشحات رحمی، شیر، مدفوع و ادرار دفع می‌کنند. ارگانیسم به‌طور منظم از حیوانات دفع نمی‌شود و زمان آن محدود به دورهٔ زایمان است. تخمین زده شده است که هر گرم بافت جفت عفونی حاوی یک میلیارد باکتری است. در گاو حداکثر دورهٔ 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 بورنتی* 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 ۷۰درصد 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 مرحلهٔ بعدی نمونه‌ها درکنار یخ داخل جعبه مخصوص نمونه به آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی انتقال داده شدند.

جمع‌آوری نمونه‌های خون

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

با استفاده از ظروف استریل فاقد مادهٔ ضدانعقاد گرفته و روی یخ به آزمایشگاه منتقل شد. سپس فوراً سرم را با سانتریفیوژ کردن در دور g ۱۵۰۰ به‌مدت 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	۶۰	۱۲۰
	۴–۷	۶۴	۶۴	۱۲۸
	>۷	۷۶	۷۶	۱۵۲
فصل	بهار	۴۷	۴۷	۹۴
	تابستان	۵۳	۵۳	۱۰۶
	پاییز	۴۶	۴۶	۹۲
	زمستان	۵۴	۶۰	۱۱۴
منطقه	شمال	۴۸	۴۸	۹۶
	مرکز	۴۹	۴۹	۹۸
	جنوب	۵۱	۵۱	۱۰۲
	غرب	۵۲	۵۲	۱۰۴

جدول ۱: تعداد نمونه‌های شیر و سرم جمع‌آوری‌شده از بزان 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 به‌مدت ۱۰ دقیقه در g۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و رسوب به‌دست‌آمده در چند مرحله با آب دیس شست‌وشو داد شد. در مرحلهٔ بعد رسوب به‌دست‌آمده در ۳۰۰ میکرولیتر آب دیس حل شد و به‌مدت ۵ دقیقه در g۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس مایع رویی دور ریخته شد. در این مرحله رسوب به‌دست‌آمده با ۳۰۰ میکرولیتر آب دیس مخلوط و ورتکس شد و به‌مدت ۵ دقیقه در g۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد، و به‌مانند مرحلهٔ قبل مایع رویی دور ریخته شد. در دومین مرحله شست‌وشو، رسوب در ۲۰۰ میکرولیتر آب دیس حل شد و به‌مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد، سپس نمونه‌ها برروی یخ سرد شد، در مرحلهٔ پایانی میکروتیوب حاوی نمونه به‌مدت ۵ دقیقه در g۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ شد و مایع رویی به میکروتیوب جدید انتقال داده شد و به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. و درنهایت DNA به‌دست‌آمده تا زمان انجام مراحل PCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد فریز شد.

مراحل انجام PCR و Nested-PCR ژن Com1

به‌منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* 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 بورنتی* در نمونه‌ها، از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورداستفاده برای تکثیر ژن *com1* که کدکننده پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* است که براساس مطالعهٔ Zhang و همکاران (۱۹۹۸) و Fretz و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب شد (۹, ۱۰) (جدول ۲–۳). برای انجام PCR مرحلهٔ اول، غلظت بهینهٔ مواد به‌کاررفته در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به‌صورت 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 به‌صورت آماده (Ampliqon, Denmark)، سپس به هر نمونه ۵/۵ میکرولیتر آب مقطر اضافه شد. و درنهایت میکروتیوب‌ها در داخل دستگاه ترموسایکلر (Quanta Biotech, England) قرار داده شدند و برنامهٔ دمایی براساس جداول (۲)، (۳) تنظیم شد.

برای PCR مرحلهٔ دوم از پرایمرهای OMP3-OMP4 استفاده شد. در این مرحله همهٔ شرایط ازقبیل مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامهٔ زمانی و دمایی مطابق مرحلهٔ اول اجرا شد. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحلهٔ دوم در ژل آگارز ۱/۵درصد 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 بورنتی* استاندارد (*Coxiella burnetii* standard Nine Mile strain (RSA 493)) و کنترل منفی شامل مخلوط همهٔ واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به‌جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد.

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

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

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

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

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

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

الکتروفورز

در این مرحله با توجه به اندازهٔ آمپلیکون‌ها، ژل آگاروز ۱/۵درصد تهیه شد که برای این منظور ۰/۸ گرم آگاروز به ۴۰ سی‌سی 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. درنهایت مخلوط حاصل، در زیر هود داخل قالب‌های مخصوص ژل الکتروفورز ریخته شد. با ژله‌ای و سفت شدن مخلوط، ژل آگاروز برای انجام الکتروفورز استفاده شد.

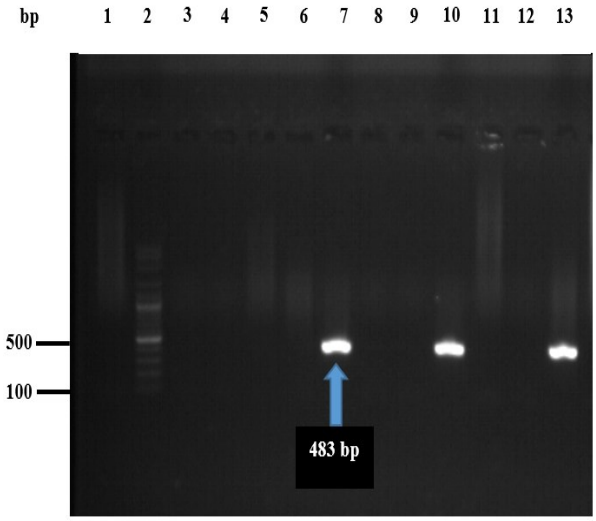
آنالیز آماری داده‌ها

آنالیز آماری داده‌ها با استفاده از روش آماری کای (Chi-square Tests) دو انجام شد. از برنامهٔ 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

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



شکل ۲: آزمایش Nested-PCR شیر و سرم بز مطالعه‌شده
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 به‌دست‌آمده براساس 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 نمونهٔ مثبتی مشاهده نشد، اما از مجموع ۱۰۶ نمونه سرم به ترتیب، از ۴۶ نمونه سرم پاییز تعداد ۳ نمونه (۶/۵درصد) مثبت بود و از ۶۰ نمونه زمستان تعداد ۳ نمونه (۵درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* بودند. از ۹۴ نمونه شیر و سرم در فصل بهار درمجموع ۸ نمونه مثبت بود، ۵ نمونه شیر (۱۷درصد) و ۳ نمونه سرم (۴/۲درصد) مثبت بودند. بررسی نتایج نشان می‌دهد شیوع بیماری در فصول مختلف تفاوت

معنی‌داری دارد (p< ۰/۰۵). به‌طوری‌که فراوانی آلودگی شیر و سرم به این باکتری به ترتیب در فصول تابستان و بهار بیشتر از سایر فصل‌ها بوده است (جدول ۱–۴).

نتایج به‌دست‌آمده براساس منطقهٔ جغرافیائی

بیشترین میزان آلودگی نمونه‌های شیر گرفته‌شده در منطقهٔ غرب مشاهده شد. یعنی از مجموع ۵۱ نمونه شیر ۱۴ نمونه (۲۷/۵درصد) و از مجموع ۵۱ نمونه سرم ۳ نمونه (۵/۹درصد) ازنظر آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند. از مجموع ۹۸ نمونه، ۴۹ نمونه شیر و ۴۹ نمونه سرم گرفته‌شده در منطقهٔ جنوب، تعداد ۴ نمونه شیر (۸/۱درصد) و ۱ نمونه سرم (۲درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* مشاهده شد و از تعداد ۹۶ نمونه شیر و سرم گرفته‌شده در منطقهٔ شمال استان لرستان، تعداد ۴ نمونه شیر (۸/۳درصد) و ۲ نمونه سرم (۶/۲درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* بودند، درنهایت از تعداد ۱۰۴ نمونه شیر و سرم گرفته‌شده در منطقهٔ شرق، تعداد ۴ نمونه شیر (۷/۷درصد) و ۲ نمونه سرم (۳/۸درصد) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند (جدول ۴–۱). بررسی نتایج این مطالعه نشان می‌دهدکه اختلاف معنی‌داری بین فراوانی آلودگی شیر در مناطق شمال، مرکز و جنوب استان وجود دارد (p< ۰/۰۵). ازاین‌رو می‌توان نتیجه گرفت که منطقهٔ جغرافیایی بر میزان عفونت به *کوکسیلا بورنتی* و دفع ازطریق شیر در بزان استان لرستان تفاوت معنی‌داری داشته است (p< ۰/۰۵).

نتایج به‌دست‌آمده براساس سن حیوان

در این مطالعه سه گروه سنی به ترتیب (۴–۱ 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 هیچ‌کدام از نمونه‌ها آلوده به *کوکسیلا بورنتی* نبودند. از تعداد ۱۲۸ نمونه شیر و سرم در گروه سنی ۴ تا ۷ سال ۱۰ نمونه شیر (۱۵/۶درصد) و ۳ نمونه سرم (۴/۷درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* مشاهده شد. از تعداد ۷۶ نمونه شیر و ۷۶ نمونه سرم در گروه سنی بالای ۷ سال، ۱۶ نمونه شیر (۲۱درصد) و ۵ نمونه سرم (۶/۶درصد) آلوده به *کوکسیلا بورنتی* بودند. بررسی نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* و سن بز مشاهده شد، بنابراین مشخص شد که بین سن بز با بروز عفونت ناشی از *کوکسیلا بورنتی* در بزان استان لرستان ارتباط معنی‌داری وجود دارد (p< ۰/۰۵) (جدول ۵).

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

جدول ۵: شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر و سرم جمع‌آوری‌شده از بزان براساس سن، فصول و مناطق مختلف استان لرستان

بحث

تب کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که به‌صورت نوپدید و بازپدید در بسیاری از کشورها ازجمله ایران مطرح است. اگرچه این بیماری جنبهٔ 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 ازطریق هوا امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد و امروزه به‌عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان مطرح است. تب کیو در بزان استان لرستان ایران وجود دارد. آلودگی محیطی در مزارع آلوده ازطریق دفع باکتری به‌وسیلهٔ حیوانات آلوده ازطریق جفت، مایعات جنین، ترشحات واژن، مدفوع، ادرار و شیر منشأ می‌گیرد. در حیوانات شیوع تب کیو در ماده‌ها بیشتر از دام‌های نر است که به‌دلیل حساسیت بیشتر دام‌های ماده نسبت‌به دام‌های نر است. علاوه‌براین، حاملگی یک عامل مهم در بروز تب کیو است و شیوع سرمی بیشتر این بیماری در دام‌ها در دوران بارداری گزارش شده است. فعال‌سازی مجدد عفونت تب کیو در پستانداران ماده در دوران بارداری اتفاق می‌افتد. تب کیو باعث سقط‌جنین در بزها می‌شود.

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

آن است که بزان و گوسفندان ایران حدود ۱۰درصد کل شیر گوسفندهای جهان را تولید می‌کنند و از این حیث بعد از کشور فرانسه و ترکیه در ردهٔ سوم جهانی هستند. همچنین ازلحاظ بهره‌وری تولید شیر بز و گوسفند، بعد از کشورهای یونان و ایتالیا در ردهٔ سوم جهانی قرار دارند. این درحالی است که ۱۰ کشور حاشیهٔ دریای مدیترانه که دارای بهترین نژادهای گوسفند دنیا و نیز صادرکنندگان عمدهٔ محصولات شیری گوسفندند، حدود ۶۶درصد کل شیر گوسفند و بز دنیا را تولید می‌کنند. بدین‌ترتیب پرداختن به تولید و کیفیت شیر گوسفند اهمیت ویژه‌ای دارد.

با توجه به اینکه بیماری تب کیو به‌طور 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 درخصوص *کوکسیلا بورنتی* عامل تب کیو در حیوانات انجام شده است. اما ناآگاهی از این بیماری منجربه تشخیص ندادن و کم گزارش شدن موارد تب کیو می‌شود. *کوکسیلا بورنتی* دارای قدرت عفونت‌زایی بسیار بالا است (۱۰, ۱۱). به‌دلیل گزارشات مکرر از سرتاسر جهان و با توجه به اینکه شیوع تب کیو ازلحاظ جغرافیایی بومی‌شده و محدود به یک قسمت خاصی است. همچنین به‌علت اهمیت تب کیو در تأثیر سلامت عمومی نیاز به شناسایی منبع و تأیید ارتباط با بیماری انسان لازم است (۱۲).

مطالعهٔ حاضر اولین مطالعهٔ اپیدمیولوژیک درمورد تب کیو در بزان استان لرستان است. مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک نسبت‌به *کوکسیلا بورنتی* در ۱۰/۷درصد از افرادی که از شیر خام مصرف کرده‌اند مثبت بوده است؛ درحالی‌که این میزان در افرادی که به این شکل در معرض آلودگی نبوده‌اند ۰/۷درصد گزارش شده است. نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلوواکی و اسپانیا گزارش شده است. نتایج مطالعهٔ حاضر بیانگر آلودگی بالای شیر بز به *کوکسیلا بورنتی* است. بزها یکی از مخازن مهم عفونت *کوکسیلا بورنتی* در انسانند. براساس مطالعات انجام‌شده 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 مطالعهٔ مولکولی در ۸ استان کشور ایران شیوع *کوکسیلا بورنتی* را در شیر بز بررسی کرده‌اند. شیوع در مناطق مختلف جغرافیایی بسیار متغیر بود و استان‌های قم (۰ درصد) و لرستان (۴۴/۷درصد) به ترتیب کمترین و بیشترین فراوانی *کوکسیلا بورنتی* را در شیر بز نشان دادند (۱۳).

براساس مطالعهٔ مولکولی Esmaeili و همکاران شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر بز (۷/۸درصد) در ایران برآورد شده است. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر بز از کشورهای مختلف دنیا از (۰درصد) تا (۳۲/۹درصد) گزارش شده است: (۰درصد) در عربستان سعودی (Mohammad و همکاران ۲۰۱۴) ، (۰درصد) در سوئیس (Fretz و همکاران ۲۰۰۷)، (۳.۴درصد) در لهستان (Cisak و همکاران ۲۰۱۷)) ، (۱۴درصد) در مصر (Khalifhe و همکاران ۲۰۱۶) و (۳۲.۹درصد) در هلند (Van den Brom و همکاران ۲۰۱۲). با توجه به مطالعات انجام‌شده به نظر می‌رسد بزها مخزن اصلی عفونت انسان در ایران هستند، اما برای اثبات این موضوع مطالعات بیشتری نیاز است (۱۳, ۱۴).

در مطالعهٔ Mohammadi و Jafarpor (۱۳۹۴)، میزان آلودگی سرمی *کوکسیلا بورنتی* در بز و گوسفند غرب استان مازندران (۳/۲درصد) گزارش شده است. همچنین در مطالعهٔ Mir Azizi و همکاران (۱۳۹۶) میزان شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در بزان اهواز (۳۴/۳۱درصد) گزارش شده است. در مطالعات دیگر در استان خراسان رضوی میزان شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در بزان این منطقه (۲۹/۸درصد) بوده است. در تنها مطالعهٔ انجام‌شده در جنوب شرقی ایران شیوع سرمی در بزان این منطقه به روش سرولوژی (۶۵/۷۸درصد) گزارش شده است. مطالعات سرولوژی در دیگر کشورها میزان شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* را در بز (۱۲/۴درصد) تا (۴۸درصد) گزارش کرده است (۱۵).

اختلافات مشاهده‌شده ممکن است به‌علت تفاوت در تعداد نمونه، محل جغرافیایی و درنتیجه، شرایط آب‌وهوایی مناطق و نحوهٔ مدیریت باشد. انتقال *کوکسیلا بورنتی* به‌طور عمده ازطریق آئروسل‌های آلوده انجام می‌گیرد و ممکن است پایین بودن رطوبت نسبی هوا و شرایط آب‌وهوایی نسبتا گرم و خشک به‌خصوص در مناطق شرقی استان لرستان باعث شود که این آئروسل‌ها به‌علت از دست دادن آب و سبک شدن برای مدت طولانی در هوا معلق مانده و مسافت طولانی‌تری را طی کنند و درنتیجه موجب آلودگی سایرین شوند. ازطرف‌دیگر، وجود رطوبت بالا باعث جذب آب توسط آئروسل‌ها و رسوب سریع آن‌ها می‌شود.

انتشار *کوکسیلا بورنتی* از حیوانات آلوده به محیط ممکن است از راه‌های مختلفی ازجمله 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 بورنتی* عمدتاً این

عامل را از مدفوع و ترشحات واژن به محیط دفع می‌کنند و بنابراین آلودگی شیر این حیوانات به *کوکسیلا بورنتی* 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 مطالعهٔ حاضر مشخص شد که اختلاف معنی‌داری بین سن و دفع *کوکسیلا بورنتی* ازطریق شیر گاو وجود دارد ($P<۰/۰۵$). این یافته مطابق با گزارش قبلی است که در آن گزارش شده است، سن عامل خطر قابل‌توجهی برای دفع *کوکسیلا بورنتی* ازطریق شیر گاو بوده و شانس نتیجهٔ 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 قابل‌توجه 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 آئروسل‌های 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.
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. Esmaeili 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. Esmaeili 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.