بررسی ژنومی کوکسیلا بورنتی در شیر خام و غیرپاستوریزه گاو در مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم‌آباد استان لرستان در سال ۱۳۹۴

لیدا اعتمادفر[۱]، نعمت شمس*[۲]، امین جایدری[۲]

۱- کارشناس ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

۲- استادیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران.

یافته/ دوره نوزدهم/ شماره ۲ / تابستان ۹۶/ مسلسل ۷۲

چکیده

دریافت مقاله: ۹۶/۱/۲۱ پذیرش مقاله: ۹۶/۲/۱۲

مقدمه: تب کیو یک بیماری مشترک با انتشار وسیع است که به‌وسیله یک ارگانیسم داخل سلولی اجباری به نام کوکسیلا بورنتی ایجاد می‌شود. شیر خام یا فرآورده‌های لبنی تولید شده از شیر غیرپاستوریزه ممکن است حامل کوکسیلا بورنتی عفونت زا باشد. هدف این مطالعه تعیین میزان شیوع کوکسیلا بورنتی در تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم-آباد بود.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی-توصیفی در مجموع ۱۲۰ نمونه از تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم‌آباد طی ماه‌های آبان و آذر سال ۹۴ جمع آوری شد و برای تعیین حضور کوکسیلا بورنتی از روش Nested PCR استفاده شد.

یافته‌ها: در این بررسی ۹ نمونه از ۱۲۰ نمونه تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو (۷/۵ درصد) از نظر کوکسیلا بورنتی مثبت شدند.

بحث و نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو مراکز فروش لبنیات سنتی یک منبع مهم کوکسیلا بورنتی در شهرستان خرم‌آباد می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تب کیو، شیر خام، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای، خرم‌آباد.

*آدرس مکاتبه : لرستان، خرم‌آباد، دانشگاه لرستان، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی.

پست الکترونیک: nematshams1386@yahoo.com

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

مقدمه

تب کیو از مهمترین بیماری‌های مشترک انسان و دام با گسترش جهانی است که توسط نوعی باکتری کوکوباسیل، گرم منفی و داخل سلولی اجباری به نام کوکسیلا برونتی ایجاد می‌شود. این باکتری نسبت به عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر درجه حرارت بالا و خشکی مقاوم بوده و دوز عفونت‌زایی پایینی دارد (۱) و بدین جهت از سوی مرکز کنترل و پیشگیری بیماری‌ها (CDC) در گروه B سلاح‌های بیولوژیک میکروبی طبقه‌بندی شده است (۲،۳).

مخزن اولیه و عامل انتشار بیماری در بین حیوانات وحشی، اهلی، حشرات و به ویژه کنه‌ها می‌باشند. گاو، گوسفند و بز مهمترین منابع کوکسیلا بورنتی در طبیعت محسوب می‌شوند. حیوانات آلوده میکروارگانیسم را به مقدار زیاد از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طول زایمان به محیط دفع می‌کنند (۶-۴). یکی از مهمترین راه‌های دفع کوکسیلا بورنتی به محیط، شیر دام‌های آلوده است. از این رو، مصرف شیر خام و غیرپاستوریزه آلوده می‌تواند منبع آلودگی انسان باشد (۶). بیماری در هر دو جامعه روستایی و شهری اتفاق می‌افتد، لیکن تب کیو اساساً نوعی بیماری شغلی محسوب می‌شود و تقریباً محدود به پرورش‌دهندگان حیوانات، شیردوشان، کارگران کشتارگاه، کارکنان واحدهای لبنی، شاغلین کارخانه‌های چرم، روغن، کود و صنایع نقل و انتقالات حیوانات و یا افراد شاغل در آزمایشگاه می‌باشد (۷).

مهمترین عوارض بیماری در حیوانات سقط جنین، مرگ زودرس جنین و ناباروری می‌باشد. در انسان تب کیو حاد با سردرد ناگهانی، تب و ذات‌الریه همراه است. علائم آن شامل: تب، خستگی، لرز، سردرد، درد عضلانی، عرق، سرفه، تهوع، استفراغ، درد قفسه‌سینه، اسهال، راش پوستی، میوکاردیت، پریکاردیت، مننگوآنسفالیت و مرگ می‌باشد. از مشخصات تب کیو مزمن اندوکاردیت، عفونت استخوان و مفصل، عفونت عروقی، عفونت ریه مزمن، سندروم خستگی مزمن می‌باشد (۷). در سال‌های اخیر شیوع تب کیو در انسان، حیوانات اهلی و کنه‌ها در برخی نقاط کشور مورد بررسی قرار گرفته است (۱۱-۸)، اما تاکنون مطالعه‌ای پیرامون میزان آلودگی شیر مراکز فروش لبنیات سنتی این بیماری در استان لرستان انجام نگرفته است. با توجه به دوز عفونی پایین این پاتوژن و عدم وجود اطلاعات ثبت شده مدون در خصوص وضعیت آلودگی مواد غذایی ازجمله شیر به کوکسیلا بورنتی در منطقه مورد مطالعه، بررسی حاضر با هدف تعیین میزان آلودگی تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو به کوکسیلا بورنتی در مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم‌آباد با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای انجام شد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه مقطعی- توصیفی از آبان تا آذرماه سال ۱۳۹۴ در مجموع تعداد ۱۲۰ نمونه از تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو ۱۲۰ مرکز فروش لبنیات سنتی سطح شهرستان خرم‌آباد جمع‌آوری شد. آدرس و مشخصات کلیه مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم‌آباد از اتاق اصناف و مرکز بهداشت شهرستان خرم‌آباد اخذ گردید. نمونه‌ها در ظروف استریل در کنار یخ به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان انتقال و جهت انجام مراحل بعدی، نمونه‌ها در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

استخراج DNA

جهت استخراج DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها از روش بری و همکاران استفاده شد (۱۲). بدین منظور یک میلی‌لیتر از نمونه شیر را در میکروتیوب ریخته

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

و در دور g ۱۳۰۰۰ به مدت ۶۰ دقیقه سانتریفوژ گردید و پس از جداسازی چربی، دو بار میکروتیوب با آب مقطر استریل شستشو داده شد. پس از جداسازی چربی شیر، از کیت (Gene All cell SV mini 250) طبق دستورالعمل شرکت سازنده جهت استخراج DNA استفاده شد. کیفیت DNA استخراج شده با استفاده از دستگاه نانودراپ در طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت. DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی کوکسیلا بورنتی به روش Nested-PCR

برای بررسی حضور DNA کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها از آزمایش Nested - PCR استفاده شد. توالی نوکلئوتیدی جهت تکثیر ژن com1 که پروتئین غشاء خارجی ۲۷KD را رمزگذاری می‌کند بر اساس مطالعات فرتز و همکاران (۱۳) و ژانگ و همکاران (۱۴) انتخاب و انجام گرفت. طول قطعات DNA تکثیر یافته و توالی پرایمرها در جدول ۱ نشان داده شده است. جهت انجام PCR در مرحله اول ۹ میکرولیتر مسترمیکس (Ampliqon C Denmark)، ۲ میکرولیتر DNA نمونه مشکوک و یک میکرومول از پرایمرهای OMP1 و OMP2 با غلظت ۱۰ پیکومول استفاده گردید و سپس با آب دیونیزه حجم نهایی به ۲۵ میکرولیتر رسانده شد. در ادامه میکروتیوب‌ها، در دستگاه ترموسایکلر (Primus 96, Germany) با برنامه دمایی که در جدول شماره ۲ نشان داده شده است، قرار داده شد.

برای انجام مرحله دوم واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای از پرایمرهای OMP 3 و OMP 4 استفاده شد. در این مرحله همه شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول اجرا شد با این تفاوت که DNA الگو در این مرحله، ۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول بوده است که به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق گردیده بود. الکتروفورز محصولات PCR حاصل از مرحله دوم توسط دستگاه الکتروفورز (Padideh Nojen Pars, Iran) بر روی ژل آگاروز ۱/۵٪ (Sigma, USA) و با استفاده از رنگ Safe Stain (SinaClon, Iran) انجام شد. ژل‌ها با استفاده از دستگاه ژل داک (Syngene, England) مورد بررسی قرار گرفتند.

در این بررسی از DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استاندارد (Genek Biotechnology AG, Germany Ref. Number: K047) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. کنترل منفی شامل مخلوط کلیه واکنش‌گرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به جای DNA، آب مقطر استریل به میکروتیوب اضافه شد.

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده برای بررسی ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های تانک ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو در مراکز فروش لبنیات سنتی خرم‌آباد

قطعات (جفت باز)	پرایمرها	سکانس (`۳-`۵)	فاز
۵۰۱	OMP1	F- AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT	اول
	OMP2	R-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G	
۴۳۸	OMP3	F-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC	دوم
	OMP4	R-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG	

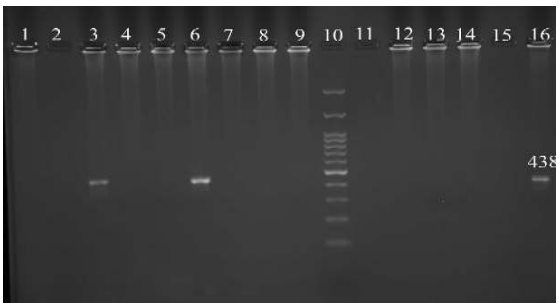
جدول ۲. برنامه و سیکل‌های دمایی استفاده شده در واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested - PCR)

برنامه		زمان	دما (سانتی‌گراد)
واسرشت اولیه		۳ دقیقه	۹۴
۳۰ چرخه دمایی	واسرشت اولیه	۴۵ ثانیه	۹۴
	اتصال	۴۵ ثانیه	۵۵
	گسترش نهایی	۴۵ ثانیه	۷۲
گسترش نهایی		۵ دقیقه	۷۲

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

یافته‌ها

نتایج حاصله از ژل الکتروفورز محصولات مرحله دوم Nested PCR نشان داد که از مجموع ۱۲۰ نمونه تانک شیر خام و غیرپاستوریزه عرضه شده در مراکز فروش لبنیات سنتی شهرستان خرم‌آباد، ۹ نمونه (۷/۵ درصد) از نظر وجود توالی اختصاصی ژن Com1 در کوکسیلا برونتی مثبت بودند. در کلیه نمونه‌های مثبت باند ۴۳۸ bp مشاهده شد (شکل ۱). داده‌های به دست آمده به کمک نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS با استفاده از آزمون مربع کای با حدود ۹۵ درصد اطمینان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.



شکل ۱. نتایج Nested PCR نمونه‌ها در آگارز ۱/۵٪: ستون ۱ کنترل منفی، ستون ۱۶ کنترل مثبت، ستون ۱۰ مارکر ۱۰۰bp، ستون‌های ۳ و ۶ نمونه‌های مثبت، ستون‌های ۲،۴،۷،۸،۹،۱۱،۱۲،۱۳،۱۴،۱۵ نمونه‌های منفی

بحث و نتیجه‌گیری

تب کیو به عنوان یک زئونوز نوپدید و باز پدید در بسیاری از کشورها ازجمله ایران مطرح می‌باشد. اگرچه این بیماری جنبه شغلی داشته و در افرادی که در تماس با حیوانات و محصولات آنها هستند فراوانی بیشتری دارد، اما با توجه به مقاومت بالای عامل بیماریزا در محیط و انتقال هوا زاد، امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد و امروزه به عنوان یکی از مخاطرات مهم سلامتی انسان به صورت طبیعی و غیرطبیعی (بیوتروریسم) مطرح می‌باشد. مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک نسبت به کوکسیلا بورنتی 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 (۱۵). نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلواکی و اسپانیا گزارش شده است (۱۶).

مطالعات پراکنده انجام شده در ایران نشان می‌دهد که تب کیو، احتمالاً یک بیماری اندمیک در ایران باشد و نقش آن در تهدید سلامتی حیوانات و انسان، به خاطر فراوانی موارد تحت بالینی و عدم تمایز موارد بالینی از بیماری‌هایی نظیر تب مالت و آنفلوانزا، بسیار دست کم گرفته شده است، برای مثال شیوع سرمی فاز ۱ و ۲ تب کیو در اشخاص مبتلا به تب در بردسیر کرمان در سال ۱۳۸۹ به روش الایزا نسبتاً بالا و به ترتیب ۲۴ و ۳۶ درصد بوده است به طوری که این نسبت در مقایسه با شیوع سرمی تب مالت بیشتر گزارش گردیده است (۸).

مطالعه حاضر اولین مطالعه در غرب کشور می‌باشد که شیوع تب کیو را در تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه عرضه شده در مراکز فروش لبنیات سنتی شهر خرم‌آباد بررسی نموده است. شیوع کوکسیلا برونتی در نمونه‌های تانک ذخیره شیر در این مطالعه (۷/۵٪) با بعضی از پژوهش‌های انجام گرفته در ایران مشابه و پایین گزارش شده است. در استان چهارمحال و بختیاری رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۰ میزان شیوع آلودگی تانک‌های مخزن شیر گاو در استان چهارمحال بختیاری را در ۳۷۶ نمونه ۶/۲ درصد گزارش نمودند (۱۶). در سال ۲۰۱۴، در مطالعه‌ی برجی و همکاران که با هدف تعیین میزان آلودگی نمونه‌های مخازن شیر به باکتری کوکسیلا بورنتی با روش Touch- Down PCR انجام گرفت از مجموع ۱۰۰ نمونه، ۵ نمونه را (۵٪) مثبت گزارش کردند (۱۷).

در سال ۲۰۰۷، در مطالعه‌ی فرتز و همکاران که برای جستجوی کوکسیلا بورنتی با استفاده از روش Nested PCR انجام پذیرفت، همه ۸۱ نمونه شیر مخزن گوسفند و

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

۳۹ نمونه شیر مخزن بز منفی گزارش گردید در حالی که از ۳۵۹ نمونه شیر مخزن گاو ۱۷ نمونه (۴/۷٪) مثبت شدند (۱۳) که با نتایج به دست آمده از مطالعه ما همخوانی دارد.

در سال ۲۰۱۴، در مطالعه‌ی خادمی و همکاران که روی ۸۰ نمونه شیر خام جمع‌آوری شده از گاوهای شیری عجب‌شیر انجام گردید، ۲۵٪ نمونه‌ها از نظر کوکسیلا بورنتی مثبت بودند (۱۸). در مطالعه دیگری که توسط خادمی و همکاران در سال ۲۰۱۴، روی ۱۲۰ نمونه شیر گاو در بناب انجام شد، ۲۱/۶۶٪ نمونه‌ها مثبت بودند (۱۹). لازم به ذکر است که در هر دو مطالعه از روش Nested - PCR بر روی شیر هر رأس گاو استفاده شده است که با نتایج بررسی حاضر به دلیل تفاوت در نوع نمونه‌برداری مطابقت ندارد. در همین راستا در مطالعه کیم و همکاران در سال ۲۰۰۷ در آمریکا، میزان شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر مخازن جمع‌آوری گله‌های گاو شیری بسیار بالاتر و بیش از ۹۰ درصد گزارش گردیده است (۲۰). در سال ۲۰۱۴، در مطالعه‌ی یسیم‌کان و همکاران که به منظور تعیین شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر گاو، بز و میش برنامه‌ریزی شده بود، از مجموع ۵۰ نمونه تانک ذخیره شیر گاو ۶٪ نمونه‌ها مثبت شد (۲۱). در سال ۲۰۱۲، گیورانکز و همکاران مطالعه‌ای در کشور مجارستان روی ۲۱۵ نمونه تانک‌های ذخیره شیر انجام دادند که ۶۶/۷٪ از نمونه‌ها از نظر وجود کوکسیلا بورنتی مثبت بودند (۲۲). در مطالعه پتروزلی و همکاران در سال ۲۰۱۳، در ایتالیا از مجموع ۱۳۰ نمونه تانک ذخیره شیر ۲۷٪ آنها از نظر حضور ژنوم کوکسیلا بورنتی با PCR مثبت بودند (۲۳). در مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۴ که توسط اوساما و همکاران در عربستان سعودی روی حیوانات مختلف ازجمله شتر، بز، گاو و گوسفند انجام شده بود، ۱۶ عدد از ۱۴۸ نمونه شیر دام‌های مختلف، آزمایش PCR آنها مثبت شد و در نمونه‌های گاو DNA کوکسیلا بورنتی در ۲۸/۹٪ نمونه تانک‌های ذخیره شیر مورد بررسی، پیدا شد (۲۴). در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۳، توسط انگلن و همکاران روی ۳۰۱ نمونه تانک شیر انجام شد ۸۱/۶٪ از نمونه‌ها دارای آنتی‌بادی کوکسیلا بورنتی با روش الایزا بودند و DNA کوکسیلا بورنتی در ۱۸/۸٪ از نمونه‌ها با استفاده از روش Real - time PCR تشخیص داده شد (۲۵).

از دلایل اختلاف بین شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر در مناطق مختلف، می‌توان به گونه‌های میزبانی، فصل و منطقه جغرافیایی متفاوت، روش انجام آزمایش، نوع و اندازه و روش نمونه‌گیری اشاره کرد. در گله‌های گاو بدون علامت کوکسیلا بورنتی منحصراً در شیر دفع می‌شود، این دفع ممکن است برای چندین ماه باقی بماند و ممکن است به طور متناوب صورت گیرد درنتیجه این امر باعث پایداری ارگانیسم در محیط می‌شود. بنابراین گاوهای به ظاهر سالم مخازن بالقوه‌ای برای انتقال این بیماری در نظر گرفته می‌شوند. همچنین فصول نیز در بروز عفونت کوکسیلا بورنتی در حیوانات تأثیرگذار است به طوری که در ژاپن بسیاری از موارد تب کیو در حیوانات در زمستان گزارش شده، از سوی دیگر بیشتر موارد حیوانی در آلمان در فصل تابستان و در قبرس فصل پاییز گزارش شده است (۲۶،۲۷).

متأسفانه اطلاع دقیقی در مورد شیوع تب کیو در ایران وجود ندارد، زیرا بیماری قابل گزارشی در سیستم سلامت ایران محسوب نمی‌شود و به علت مصرف شیر خام و مصرف فراورده‌های آن در کشور، احتمال بروز تب کیو وجود دارد که در این خصوص تأیید آلودگی شیر به کوکسیلا برونتی در ایران لازم است اقدامات مقتضی انجام شود. از آنجا که تولید فراورده‌های لبنی سنتی در ایران در کارگاه‌های کوچک فاقد مجوز بهداشتی بوده و در این کارگاه‌ها از شیر خام یا پاستوریزه نشده استفاده می‌شود، لذا تهیه‌ی یک واکسن مناسب

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

برای گروه‌های پرخطر می‌تواند روش کنترل مناسبی بوده و از طرف دیگر اجباری شدن استاندارد جستجوی کوکسیلا برونتی در شیر ضروری به نظر می‌رسد.

نتایج مطالعه حاضر بیانگر آلودگی پایین تانک‌های ذخیره شیر گاو (۷/۵ درصد) به کوکسیلا بورنتی در شهرستان خرم‌آباد است. این بررسی نشان می‌دهد تانک‌های ذخیره شیر خام و غیرپاستوریزه گاو در مراکز فروش لبنیات سنتی یک منبع مهم کوکسیلا بورنتی در شهرستان خرم‌آباد می‌باشد و با توجه به اینکه برای تهیه فراورده‌های لبنی سنتی از شیر خام پاستوریزه نشده استفاده می‌شود و به دلیل عدم پاستوریزاسیون امکان مرگ‌ومیر در گروه‌های آسیب‌پذیر بالا می‌رود، لذا لزوم تدوین آیین‌نامه‌های بهداشتی در مورد خطرات آن ضروری به نظر می‌رسد همچنین با توجه به تدوین استانداردهای کوکسیلا برونتی در شیر و فرآورده‌های لبنی در کشورهای صنعتی، تدوین آن در کشور ما هم پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

این پژوهش برگرفته از پایان‌نامه دانشجویی مقطع کارشناسی ارشد می‌باشد لذا نویسندگان از مساعدت و همکاری معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان تشکر و قدردانی می‌نمایند.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

References

1. Angelakis E, Raoult D. Q Fever. Veterinary microbiology. 2010; 140(3-4): 297-309.
2. Madariaga M, Rezai K, Trenholme G, Weinstein R. Q fever: a biological weapon in your backyard. Q fever as a bioweapon. Lancet Infect Dis. 2003; 3(11): 709-721.
3. Centers for Disease Control and Prevention. Emergency preparedness and response: bioterrorism agents/diseases. 2011.
4. Guatto R, Seegers H, Taurel A, Joly A, Beaudeau F. Prevalence of Coxiella burnetii infection in domestic ruminants: a critical review. Vet Microbiol. 2011; 149: 1-16.
5. Oyston PCF. Q fever: the neglected biothreat agent. J Med Microbiol. 2011; 60: 9-21.
6. Gale P, Kelly L, Mearns R, Duggan J, Snary L. Q fever through consumption of unpasteurised milk and milk products a risk profile and exposure assessment. J Appl Microbiol. 2015; 1083-1095.
7. Kirkan S, Kaya O, Tekbiyik S, Parin U. Detection of coxiella burnetii in cattle by PCR. Turk J vet Anim Sci. 2008; 32(3): 215-220.
8. Khalili M, Shahabi-nejad N, Golchin M. Q fever serology in febrile patients in Southeast Iran. Trans Roy Soc Trop Med Hyg. 2010; 104: 623-624. (In Persian)
9. Khalili M, Sakhaee E, Aflatoonian MR, Shahabi-Nejad N. Herd - prevalence of Coxiella burnetii (Q. fever) antibodies in dairy cattle farms based on bulk tank milk analysis. Asian Pac J Trop Med. 2011; 4: 58-60.
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: 1031-1032.
11. Nourollahi Fard SR, Khalili M. PCR - Detection of Coxiella burnetii in Ticks Collected from Sheep and Goats in Southeast Iran. Iran J Arthropod Borne Dis. 2011; 5(1): 1-6. (In Persian)
12. Berri M, Arricau N, Rodolakis A. PCR-based detection of Coxiella burnetii from clinical samples. Meth Mol Biol. 2003; 12: 153-161.
13. 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: 414-418.
14. Zhang G, 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(1): 77-80.
15. Cerf O, Condron R. Coxiella burnetii and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle?. Epidemiol Infect. 2006; 134: 946-951.
16. Rahimi E, Doosti A, Ameri M, Kabiri E, Sharifian B. Detection of Coxiella burnetii by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. Zoonoses Pub Health. 2010; 57: 38-41. (In Persian)

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

17. Borji S, Jamshidi A, Khanzadi S, Razmyar J. Detection of coxiella burnetii and sequencing the IS1111 gene fragment in bulk tank milk of dairy herds. Iran J Vet Sci Tech. 2014; 6 (2): 21-28. (In Persian)
18. Khademi P, Jaydari A, Esmaeili M. Genomic detection of Coxiella burnetii in cattle milk samples by Nested - PCR method, Iran. Iran J Microbiol. 2015; 9(2): 69-72. (In Persian)
19. Khademi P, Mahzounieh M, Esmaeili Kotahmer M. Genomic Detection of Coxiella burnetii in Cattle Milk Samples by Nested - PCR method in Bonab, Iran. Arak Med Univ J. 2015; 18(97): 49-57. (In Persian)
20. Kim SG, Kim EH, Lafferty CJ, Dubovi E. Coxiella burnetii in bulk tank milk samples, United States. Emerg Infect Dis. 2005; 11: 619-621.
21. Yesim Can H, Elmali M, Karagoz A. Detection of coxiella burnetii in cows, goats, and ewes bulk milk samples using polymerase chain reaction (PCR). Mljekarstvo. 2015; 65(1): 26-31.
22. 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: 650-653.
23. Petruzzelli A, Amagliani G, Micci E, Foglini M, Renzo E, Brandi G, et al. Prevalence assessment of Coxiella burnetii and verocytotoxin - producing Escherichia coli in bovine raw milk through molecular identification. Food Contr. 2013; 32: 532-536.
24. Osama M, Abdulrahman J, Riyadh A, Alshaikh MA, Bakhiet A, Omer S, et al. Coxiella burnetii, the causative agent of Q fever in Saudi Arabia: molecular detection from camel and other domestic livestock. Asian Pac j Trop Med. 2014; 715-719.
25. Engelen E, Schotten N, Schimmer B, Hautvast JL, van Schaik G, van Duijnhoven YT. Prevalence and risk factors for Coxiella burnetii (Q. fever) in Dutch dairy cattle herds based on bulk tank milk testing. Prev Vet Med. 2014; 117(1): 103-109.
26. Rodolakis A. Q Fever in Dairy Animals. Rickettsiology and Rickettsial Diseases Fifth International Conference. 2009; 90-93.
27. Selim A, Elhaig M. Q Fever in Domestic Small Ruminant. Asian J Anim Vet Adv. 2016; 1-8.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]

Genomic Detection of *Coxiella burnetii* in Raw and Unpasteurized Cow Milk of Traditional domestic dairy products Vendors in Khorramabad, Lorestan Province in 2015

Etemadfar L[1], Shams N[*2], Jaidari A [2]

1. MSc of Bacteriology, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.

2. Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran.nematshams1386@yahoo.com

Received: *10 April 2017* **Accepted:** *2 May 2017*

Abstract

Background: Q fever is a widespread zoonotic disease that is caused by obligate intracellular bacteria, *Coxiella burnetii*. Raw milk or dairy products that are produced from unpasteurized milk may contain virulent *Coxiella burnetii*. The objective of this study was to determine the prevalence rate of *C. burnetii* in raw and unpasteurized cow bulk tank milk samples of traditional domestic dairy products vendors in Khorramabad, Iran.

Materials and Methods: In this cross - sectional study a total of 120 raw and unpasteurized cow bulk tank milk samples in traditional domestic dairy products vendors were collected from October 2015 to November 2015 and tested for *C. burnetii* used a nested PCR assay.

Results: In this survey, 9 out of 120 (7.5%) raw and unpasteurized cow bulk tank milk samples were found PCR positive for *C. burnetii.*

Conclusion: The Results of this study indicate that raw and unpasteurized cow bulk tank milk samples in traditional domestic dairy products vendors are an important source of *C. burnetii* infection in Khorramabad.

Keywords: Nested PCR, Q - fever, Raw milk, Khorramabad.

Citation: Etemadfar L, Shams N, Jaidari A. Genomic Detection of *Coxiella burnetii* in Raw and Unpasteurized Cow Milk of Traditional domestic dairy products Vendors in Khorramabad, Lorestan Province in 2015. Yafte. 2017; 19(2): 41-49.

[Downloaded from yafte.lums.ac.ir on 2024-09-18]