مجله علوم تغذیه و صنایع غذایی ایران
سال شانزدهم، شماره ۳، پاییز ۱۴۰۰، صفحات ۱۰۶-۹۷

تشخیص ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز با استفاده از دو نوع پرایمر در استان مازندران: یک مطالعه مقدماتی

حمید رضا کاظمینی[۱]، الهام اثنی عشری[۲]، راحم خوشبخت[۳]

۱- نویسنده مسئول: استادیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
پست الکترونیکی:h.kazemeini@ausmt.ac.ir
۲- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران
۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل، آمل، ایران

تاریخ دریافت: ۹۹/۸/۱۷ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۲/۴

چکیده

سابقه و هدف: این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند و بز به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در استان مازندران صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها: از بهار ۱۳۹۷ تا زمستان ۱۳۹۷ در مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه شیر خام گاو، گوسفند و بز به طور تصادفی از استان مازندران جمع آوری شد که با استفاده از روش PCR با استفاده از دو نوع پرایمر مختلف از نظر *کوکسیلا بورنتی* مورد آزمایش قرار گرفتند.

یافته‌ها: در این مطالعه، هدف بررسی میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با مقایسه دو نوع پرایمر انجام شد. با استفاده از پرایمر Trans، مجموع تعداد ۱۹ نمونه به ترتیب ۱۷نمونه (۱۷/۵۲درصد) شیرگوسفند و ۲ نمونه (۲/۷۰ درصد) شیر گاو از نظر آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند و هیچ یک از نمونه‌های شیر بز مثبت تشخیص داده نشد. همچنین با استفاده از پرایمر OMP هیچ یک از نمونه‌ها مثبت تشخیص داده نشد و نتایج نشان داد که پرایمر Trans از توان بیشتری برای تشخیص *کوکسیلا بورنتی* برخوردار است. میزان شیوع باکتری *کوکسیلا بورنتی* در فصول پاییز و زمستان از سایر فصول بیشتر بود (P<۰/۰۵). بیشترین فراوانی نمونه‌های مثبت مربوط به شهرستان جویبار با تعداد ۸ (۶۶/۶۷ درصد) نمونه و کمترین فراوانی مربوط به شهرستان محمود آباد با تعداد ۱ (۱۱/۱۱درصد) نمونه بود. تعداد نمونه‌های مثبت با پرایمر Trans در واحد سنتی ۱۶ (۸/۶۰ درصد) نمونه و در واحد نیمه صنعتی ۲ (۲۰درصد) نمونه بود. این درحالی است که در واحدهای صنعتی هیچ نمونه مثبتی یافت نشد. هم‌چنین تعداد نمونه‌های مثبت با پرایمر Trans از شیر مخزن، ۱۲ (۱۲/۹۰ درصد) و تعداد ۷ (۶/۵۵ درصد) نمونه مثبت، به صورت تکی از هر دام بوده است.

نتیجه گیری: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که روش Trans-PCR از توان بیشتری برای تشخیص آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* برخوردار است. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف متفاوت است به طوری که شیوع باکتری *کوکسیلا بورنتی* در فصول پاییز و زمستان از سایر فصول بیشتر مشاهده شد. جهت کنترل و پیشگیری، انجام مطالعات بیشتر در مورد اپیدمیولوژی و اثرات ناشی از حضور *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام و شیوع تب کیو ضروری است.

واژگان کلیدی: تب کیو، *کوکسیلا بورنتی*، شیر، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مازندران

• مقدمه

شیر به جهت دارا بودن ترکیبات مغذی از قبیل چربی‌های مفید، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها، انواع ویتامین‌ها و مواد معدنی برای تمامی گروه‌های سنی غذایی کامل است (نوشیدن شیر برای افرادی که به لاکتوز شیر حساسیت دارند می‌تواند موجب دل درد، نفخ معده، اسهال وگرفتگی عضلات شکم شود منع مصرف دارد) و برای افرادی که منع مصرف ندارند فواید بسیاری دارد. از طرفی با توجه به ترکیبات موجود در شیر، یک محیط مناسب و بسیار مغذی برای رشد انواع میکروارگانیسم‌های پاتوژن محسوب می‌شود و می‌تواند باعث انتقال این پاتوژن‌ها به انسان و بروز بیماری شود (۱). یکی از

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

این بیماری‌ها، تب کیو (Q.ferver) می‌باشد. تب کیو یک بیماری اندمیک و مشترک بین انسان و دام است که تاکنون از نواحی جغرافیایی مختلف با آب و هوای متفاوت گزارش شده است. *کوکسیلا بورنتی (Coxilla borneti)* عامل این بیماری، یک میکروارگانیسم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل سلولی اجباری می‌باشد و می‌تواند انسان‌ها، دام های اهلی، وحشی، حیوانات خانگی و حشرات را آلوده کند. گاو، گوسفند و بز مهم‌ترین مخازن طبیعی این بیماری هستند و ارگانیسم را از طریق جنین سقط شده، ادرار، مدفوع و شیر دفع می‌کنند (۲). امروزه شیوع تب کیو در کشورهای مختلف گزارش شده که نشان دهنده اهمیت آن به عنوان یک تهدید برای سلامت و بهداشت افراد جامعه است. رحم و غدد پستانی حیوان، اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* بوده و حیوانات آلوده میکروارگانیسم را به مقدار زیاد از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طول زایمان به محیط دفع می‌کنند. یکی از مهم‌ترین راه‌های دفع *کوکسیلا بورنتی* به محیط، شیر دام‌های آلوده است، از این رو مصرف شیر غیرپاستوریزه آلوده می‌تواند منبع آلودگی برای انسان باشد. این ارگانیسم در محیط به شکل شبه اسپور تبدیل شده و به علت مقاومت به خشکی، حرارت و بسیاری از ضد عفونی کننده‌ها قادر است برای مدت طولانی در محیط زنده بماند. در حیوانات آلوده به *کوکسیلا بورنتی*، اختلالات تولیدمثلی مانند سقط جنین، مرده‌زایی و نوزاد نارس گزارش شده است(۳). عفونت معمولاً بدون علامت است، هر دو نوع با علائم و بدون علامت نشخوارکنندگان آلودگی را می‌توانند پخش کنند. علائم بیماری در انسان بسیار متغیر است و حدود ۶۰ درصد از افراد با تیتر سرمی مثبت، علائم بالینی مشخصی از خود بروز نمی دهند. تب کیو به شکل حاد به صورت بیماری آنفولانزا، پنومونی یا هپاتیت غیرواضح بروز می‌کند. بروز علائم این بیماری ناگهانی است و معمولاً در تب کیو به طور عمده یک بیماری شغلی در انسان به شمار می‌رود. این بیماری شغلی در دامپزشکان، پرورش‌دهندگان حیوانات، کارگران کشتارگاه‌ها، شیردوشان، کارکنان واحدهای لبنی، شاغلین کارخانه‌های چرم و پرسنل آزمایشگاه‌های مرتبط بیشتر دیده می‌شود. با توجه به این که *کوکسیلا بورنتی* قابلیت سرایت بسیار زیادی دارد، مقاومت آن نسبت به حرارت و خشک شدن در محیط خارج بالا است و قابلیت تبدیل به افشانه و انتقال از طریق استنشاق را دارد و حتی یک مورد از آن قادر به ایجاد بیماری‌زایی در افراد حساس است لذا از نقطه نظر کارشناسان جنگ‌های بیولوژیکی، جنگ افزار مناسبی به حساب می‌آید.

تشخیص تب کیو از طریق روش‌های مستقیم و غیرمستقیم انجام می‌شود. روش‌های مستقیم نظیر مشاهده عامل بیماری از طریق کشت و جداسازی و یا واکنش زنجیره‌ای پلیمراز که در آزمایشگاه‌های خاص نیاز به وسایل و تجهیزات خاص دارند، انجام می‌شود. در طی سال‌های اخیر، آزمایشات تشخیصی مختلفی بر اساس تکنیک‌های مولکولی بر پایه PCR، برای تشخیص باکتری *کوکسیلا بورنتی* در کشت سلولی نمونه‌های کلینیکی توسعه یافته است. ضرورت تشخیص سریع این عامل باکتریایی با استفاده از تکنیک‌های بیولوژی مولکولی استاندارد را با اهمیت‌تر می‌کنند (۴).

با توجه نکات ذکر شده در مورد اهمیت این بیماری و نقش آن در سلامت افراد جامعه، مطالعه حاضر با هدف شناسایی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند و بز به روش واکنش زنجیره ای پلیمراز در استان مازندران برنامه ریزی و انجام شد.

• مواد و روش‌ها

منطقه مورد پژوهش: استان مازندران با مساحت ۲۳۸۴۲ کیلومتر مربع در شمال ایران واقع شده است که با توجه به وجود دریا، رشته کوه‌های البرز و جنگل از نظر وضعیت طبیعی و آب و هوایی از نوع معتدل مرطوب می‌باشد. استان مازندران یکی از مهم‌ترین استان‌های ایران در زمینه پرورش گاو، گوسفند و بز محسوب می‌شود.

نمونه گیری: این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی از بهار ۱۳۹۷ تا زمستان ۱۳۹۷ انجام شد. در این مطالعه، با در نظرگرفتن میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام گاو برابر با ۹ درصد، خطای نوع اول برابر با ۵ درصد (α) سطح اطمینان ۹۵ درصد، و میزان دقت ۴ درصد حداقل نمونه مورد نیاز برای مطالعه حاضر برابر با ۲۰۰ نمونه است.

$$n = \frac{\left(Z_{1-\alpha/2}\right)^2 \times \mathrm{P}(1-P)}{\mathrm{d}^2}$$

تعداد ۲۰۰ نمونه شیرخام به طور تصادفی از ۶۰ گله صنعتی، نیمه صنعتی و تعداد ۲۰۰ نمونه شیرخام به طور تصادفی از ۶۰ گله صنعتی، نیمه صنعتی و سنتی گاو، گوسفند و بز شیری، مربوط به ۱۱ شهرستان (آمل، محمود آباد، قائم شهر، فریدون کنار، ساری، نوشهر، نور، بابل، چمستان، جویبار و سرخرود) استان مازندران و روستاهای مربوطه، با مراجعات مکرر به گله‌داری‌های مختلف پرورش گاو، گوسفند و بز شیری در میکروتیوب‌های استریل به شکل کاملا بهداشتی و به مقدار

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

۲ میلی لیتر از تانک‌های مخزن شیر و هم چنین مواردی به صورت انفرادی (پس از ضد عفونی کردن سرپستانک‌ها با پنبه الکل و ریختن چند دوشش اول) از گله‌ها جمع آوری و با حفظ زنجیره سرما در اسرع‌وقت به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تخصصی فناوری‌های نوین آمل منتقل و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد فریز گردیدند.

آماده سازی و استخراج DNA از نمونه‌ها: ابتدا نمونه‌ها از فریزر برداشته و در دمای اتاق قرار داده شد. پس از ذوب شدن نمونه‌ها، میکروتیوب‌های حاوی نمونه با ورتکس مخلوط شد و در نهایت استخراج ژنومی DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت استخراج DNA ساخت شرکت سیناژن ایران (DNP^{TM} Kit) مطابق دستورالعمل کیت انجام گرفت. DNA های استخراج شده تا زمان مورد نیاز برای استفاده، در دمای ۲۰- درجه ذخیره گردید. کیفیت DNA تخلیص شده پس از الکتروفورز بر روی ژل آگاروز مورد بررسی قرار گرفت.

تکنیک PCR با موفقیت برای تشخیص اسیدنوکلئیک *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های بالینی و کشت سلولی با موفقیت استفاده آزمایش PCR توانایی بالایی نسبت به شناسایی *کوکسیلا بورنتی* در شیر به صورت فوری پس از آلودگی دارد، در حالی که آزمایشات سرولوژیکی شناسایی آنتی بادی‌ها را در شیر پس از مدت طولانی شناسایی می‌کنند. به منظور ردیابی و شناسایی *کوکسیلا بورنتی*، از روش واکنش‌پلی‌مراز آشیانه‌ای و از PCR با پرایمر Trans1 و Trans2 بر اساس ژن ترانسپوزون مانند (Transposon- like element (Trans- PCR) تکرار پذیر که حساسیت و ویژگی بالای آن برای ارزیابی *کوکسیلا بورنتی* ثابت شده است، طراحی شد.

مراحل انجام روش آزمون واکنش زنجیره ای پلی‌مراز آشیانه‌ای با استفاده از پرایمرهای OMP: به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند و بز، از روش بری و همکاران استفاده شد (۵). برای بررسی حضور DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها، روش آزمون واکنش زنجیره ای پلی‌مراز آشیانه‌ای (Nested- PCR) به کارگرفته شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن COM1 که کد کننده پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* می‌باشند بر اساس روش مطالعه ی ژانگ و همکاران انتخاب گردید (۶). برای انجام واکنش زنجیره پلی‌مراز در مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش، درحجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر 10x، ۲ میکرولیتر DNA الگو، ۱/۵ میلی مولار $MgCl_2$، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (پرایمرهای OMP1 و OMP2) با غلظت ۱۰ پیکو مول، ۰/۳ از آنزیم polymerase DNA Taq و ۱ میکرولیتر dNTP با غلظت ۰/۲ میلی مول. همه مواد به داخل یک میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتری منتقل شدند و پس از مخلوط کردن، با استفاده از آب مقطر دیونیزه به حجم ۲۵ میکرولیتر رسیده و نهایتا در دستگاه ترموسایکلر (شرکت بیورد، آلمان) قرار داده شدند. برنامه دمایی به صورت زیر تنظیم گردید: ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه. در ادامه مرحله نهایی در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. برای PCR مرحله تکثیر ثانویه از پرایمرهایOMP3-OMP4 استفاده شد. در این مرحله همه شرایط اعم از مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول بود. با این تفاوت که به عنوان DNA الگو در این مرحله، از ۲ میکرولیتر محصول PCR مرحله اول استفاده شد. محصول PCR به دست آمده از واکنش مرحله دوم، در ژل آگارز ۱درصد حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با نور فرابنفش مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت. طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP1،OMP2 و OMP3، OMP4 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز[3] بود که در (جدول ۱) نشان داده شده است.

مراحل انجام PCR با استفاده از پرایمرهای Trans اختصاصی *کوکسیلا بورنتی*: به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو، گوسفند و بز، از برنامه PCR- Trans بر اساس توضیحات وایدی و همکارانش استفاده شد (۷). از پرایمرهای رفت و برگشت Trans با همان حجم و غلظت استفاده شده در مورد پرایمرهای OMP جهت شناسایی *کوکسیلا بورنتی* استفاده شد. تکثیر قطعه DNA توسط دستگاه ترموسایکلر انجام شد.

برنامه دمایی: متشکل از دناتوراسیون اولیه در ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳ دقیقه و به دنبال آن ۳۵ چرخه ۴۵ ثانیه‌ای در ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۴۵ ثانیه در ۵۵ درجه سانتی‌گراد و ۹۰ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد و مرحله توسعه نهایی، ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت گرفت. مطابق (جدول ۲) حضور باند ۶۸۷ در کنار کنترل مثبت، نشان دهنده وجود ژنوم باکتری *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

جدول ۱. پرایمرهای به کار رفته در Nested-PCR همرا با توالی و سایز باند آن ها

Primers	Sequence	Band size(bp)	Gene
OMP1	5'-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-3'	501	Com1
OMP2	5'-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G-3'	501	Com1
OMP3	5'-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC-3'	438	Com1
OMP4	5'-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG-3'	438	Com1

جدول۲. پرایمر و سویه استاندارد به کار رفته در Trans- PCR همراه با توالی و سایز باند

Primers	Sequence	Band size(bp)	Gene
Trans-1	5'-TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGT C-3'	687	IS1111
Trans-2	5'-CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC-3'	687	IS1111

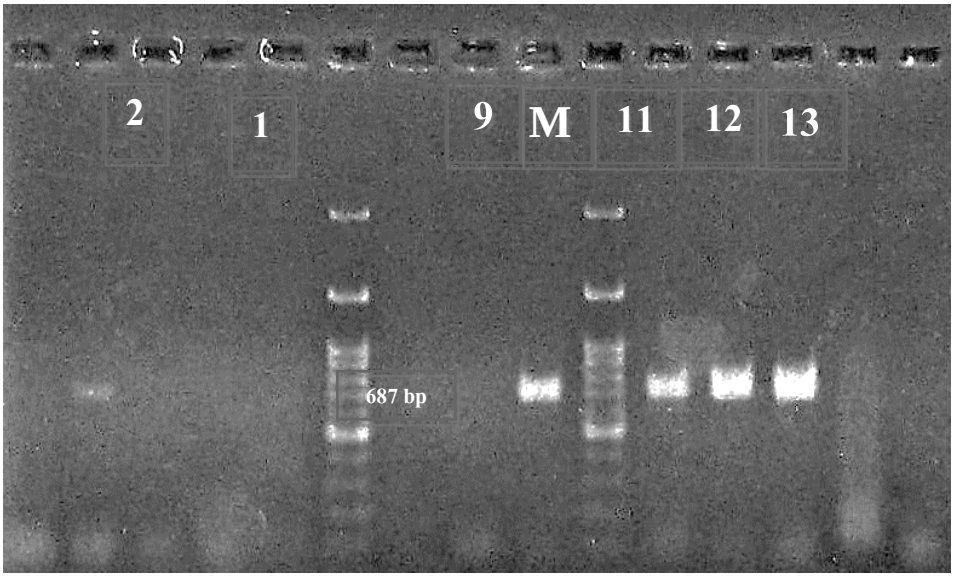
محصول حاصل از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در ژل آگارز ۱ درصد اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با دستگاه تصویر برداری از ژل مشاهده و بررسی شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: داده‌های جمع‌آوری شده به صورت توصیفی و تحلیلی با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS نسخه ۲۱ مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بر اساس فراوانی مطلق و نسبی بیان شد. با توجه به کیفی بودن متغیرها از آزمون مربع کای (Chi square) و آزمون رگرسیون لجستیک چند متغیره برای بررسی ارتباط بین گونه دام، نوع پرورش و نگهداری دام‌ها، روش نمونه برداری شیر، فصول مختلف سال و منطقه جغرافیایی با میزان آلودگی استفاده شد. در تمام آنالیزهای انجام شده، سطح معنی‌داری کمتر از ۵ درصد در نظر گرفته شد.

• یافته‌ها

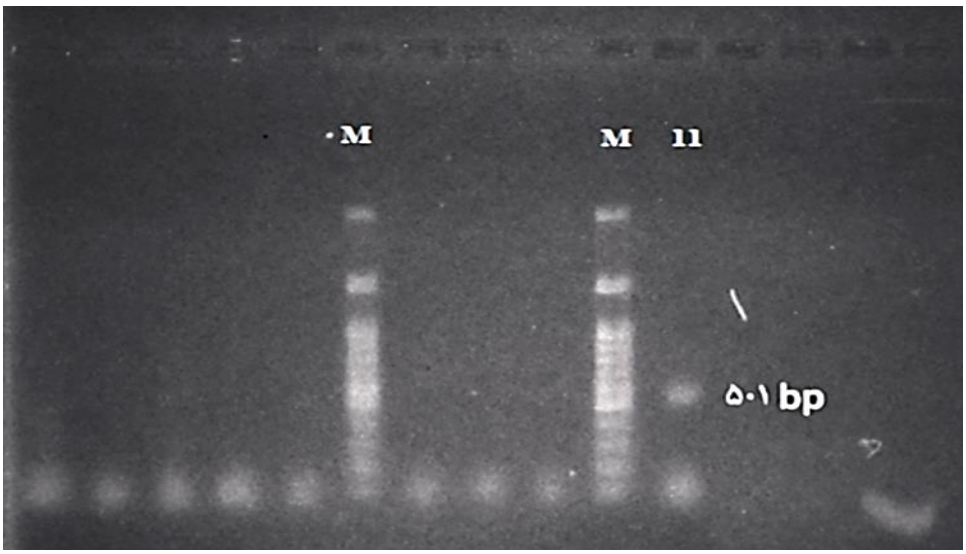
نتایج حاصل از مشاهده نمونه‌های دارای آلودگی به کوکسیلا بورنتی به روش PCR با پرایمر Trans (Trans-PCR): از کل تعداد ۲۰۰ نمونه شیر خام تنها ۱۹ (۹/۵درصد) نمونه با پرایمر Trans مثبت تشخیص داده شدند و تعداد ۱۸۱ (۹۰/۵ درصد) نمونه با همین پرایمر منفی بودند (شکل ۱).

نتایج حاصل از مشاهده‌ی نمونه‌های دارای آلودگی به کوکسیلا بورنتی به روش Nested-PCR با پرایمر OMP: نتایج الکتروفورز DNA تخلیص شده بر روی ژل آگاروز نشان دهنده کیفیت مناسب آن جهت انجام ادامه آزمایشات بود. در این مطالعه در مجموع، ۲۰۰ نمونه شیر خام از نظر آلودگی به کوکسیلا بورنتی با استفاده از پرایمرهای OMP منفی تشخیص داده شدند (شکل ۲).



تصویر ۱. M : مارکر bp ۱۰۰ ساخت شرکت سینا ژن، چاهک۲،۹،۱۱،۱۲،۱۳: محصولات PCR با پرایمرTrans چاهک۱: کنترل منفی. (کنترل)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]



تصویر ۲. M: مارکر bp ۱۰۰ ساخت شرکت سینا ژن، محصولات منفی شده Nested- PCR با پرایمر OMP چاهک ۱۱: کنترل مثبت

میزان فراوانی نمونه‌های مثبت و منفی با پرایمر Trans در هر یک از گونه‌های دامی نمونه‌برداری شده: نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد در مجموع از تعداد ۲۰۰ نمونه شیر خام شامل ۷۴ نمونه شیر خام گاو، ۹۷ نمونه شیر خام گوسفند و ۲۹ نمونه شیر خام بز، تنها ۲ (۲/۷۰درصد) نمونه شیر گاو و ۱۷ (۱۷/۵۲درصد) نمونه شیر گوسفند از نظر آلودگی با کوکسیلا بورنتی مثبت بودند. هیچ یک از نمونه شیر خام بز از نظر آلودگی با کوکسیلا بورنتی مثبت تشخیص داده نشدند (جدول۳).

جدول ۳. فراوانی شیوع *کوکسیلا بورنتی* بر اساس گونه‌های دامی

نوع گونه	تعداد نمونه های اخذ شده (درصد)	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی (درصد)
گاو	۷۴(٪۳۷)	۲ (٪۲/۷۰)	۷۲(٪۹۷/۳۰)
گوسفند	۹۷(٪۴۸/۵)	۱۷(٪۱۷/۵۲)	۸۰(٪۸۲/۴۸)
بز	۲۹(٪۱۴/۵)	۰	۲۹(٪۱۰۰)
مجموع	۲۰۰(٪۱۰۰)	۱۹(٪۹/۵۰)	۱۸۱(٪۹۰/۵)

نوع پرورش و نگهداری دام‌ها: در نمونه‌برداری که صورت گرفت به ترتیب ۱۸۶ نمونه (۹۳درصد) از واحدهای سنتی، ۴ (۲درصد) نمونه از واحد های صنعتی و ۱۰ نمونه (۵درصد) از واحدهای نیمه صنعتی اخذ شد. بدین ترتیب از مجموع تعداد ۲۰۰ نمونه اخذ شده : تعداد نمونه های مثبت تشخیص داده شده با پرایمر Trans در واحد سنتی ۱۶(۸/۶۰ درصد) نمونه و در واحد نیمه صنعتی ۲ (۲۰درصد) نمونه بوده است. این در حالی است که در واحدهای صنعتی هیچ نمونه مثبتی یافت نشد (جدول ۴).

جدول ۴. نوع پرورش دام‌ها و میزان نمونه‌های مثبت و منفی پرایمر Trans

نوع پرورش دام	تعداد نمونه‌های اخذ شده (درصد)	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی (درصد)
سنتی	۱۸۶(٪ ۹۳)	۱۶ (٪۸/۶۰)	۱۷۰(٪ ۹۱/۴۰)
صنعتی	۴(٪۲)	۰	۴(٪۱۰۰)
نیمه صنعتی	۱۰(٪۵)	۲(٪۲۰)	۸(٪۸۰)
مجموع	۲۰۰(٪۱۰۰)	۱۹(٪۹)	۱۸۲(٪۹۱)

روش نمونه‌برداری شیر به صورت مخزن و انفرادی از گله: در این مطالعه تعداد ۹۳ (۴۶/۵ درصد) نمونه از شیر مخزن و تعداد ۱۰۷ نمونه (۵۳/۵ درصد) به روش انفرادی اخذ گردید که از این میان تعداد نمونه های مثبت با پرایمر Trans از شیر مخزن، ۱۲ (۱۲/۹۰درصد) و تعداد ۷ (۶/۵۵ درصد) نمونه مثبت، به صورت تکی از هر دام بوده است. هم چنین تعداد نمونه‌های منفی با پرایمر Trans در روش شیر مخزن، ۸۱ (۸۷/۱۰ درصد) و در روش انفرادی ۱۰۰ (۹۳/۴۵ درصد) نمونه بود (جدول ۵).

جدول ۵. نوع شیر تانک مخزن و نمونه انفرادی از گله و میزان نمونه‌های مثبت و منفی با پرایمر Trans

نوع مخازن شیر	تعداد نمونه‌های اخذ شده (درصد)	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی (درصد)
تانک	۹۳(٪۴۶/۵)	۱۲(٪۱۲/۹۰)	۸۱(٪۸۷/۱۰)
انفرادی	۱۰۷(٪۵۳/۵)	۷(٪۶/۵۵)	۱۰۰(٪۹۳/۴۵)
مجموع	۲۰۰(٪۱۰۰)	۱۹(٪۹/۵)	۱۸۱(٪۹۰/۵)

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

میزان فراوانی شیوع کوکسیلا بورنتی با پرایمر Trans در فصول مختلف سال: تعداد نمونه‌های اخذ شده در هر فصل برابر با ۵۰ نمونه (۲۵درصد) بوده است؛ بر اساس نتایج به دست آمده میزان فراوانی شیوع کوکسیلا بورنتی در شیرخام در فصول مختلف سال متفاوت است. شیوع کوکسیلا بورنتی به طور معنی‌داری در فصل زمستان بیشتر از سایر فصول سال بود ($P<0/05$) (جدول ۶).

جدول ۶. توزیع فراوانی شیوع *کوکسیلا بورنتی* با پرایمر Trans در فصول مختلف سال

نوع مخازن شیر	تعداد نمونه‌های اخذ شده (درصد)	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی (درصد)
بهار	۵۰(٪۲۵)	۰	۵۰(٪۲۵)
تابستان	۵۰(٪۲۵)	۰	۵۰(٪۲۵)
پاییز	۵۰(٪۲۵)	۳(٪۶)	۴۷(٪۹۴)
زمستان	۵۰(٪۲۵)	۱۶(٪۳۲)	۳۴(٪۶۸)
مجموع	۲۰۰(٪۱۰۰)	۱۹(٪۹/۵)	۸۱(٪۴۰/۵)

میزان فراوانی شیوع کوکسیلا بورنتی در برخی از شهرستان‌های استان مازندران: بر اساس آمار و اطلاعات جدول ۷ از تعداد ۲۰۰ نمونه اخذ شده ۸۹ نمونه (۴۴/۵ درصد) از شهرستان آمل بوده است، ۱۹ نمونه (۹/۵درصد) از شهرستان نوشهر و کم‌ترین تعداد نمونه اخذ شده از شهرستان سرخ‌رود با تعداد ۳ (۱/۵درصد) بوده است. از لحاظ تعداد نمونه‌های مثبت و منفی با پرایمر Trans، بیشترین فراوانی نمونه‌های مثبت مربوط به شهرستان جویبار با میزان فراوانی ۸ (۶۶/۶۷درصد) و کمترین فراوانی مربوط به محمودآباد و سرخ‌رود به ترتیب با میزان فراوانی ۱(۱۱/۱۱ درصد) و ۱ (۳۳/۳۳ درصد) بوده است (جدول ۷).

جدول ۷: پراکنش جغرافیایی محل نمونه‌برداری

شهرستان	تعداد نمونه‌ها اخذ شده	تعداد نمونه مثبت	تعداد نمونه منفی
آمل	۸۹(٪ ۴۴ /۵)	۳ (٪ ۳/۳۸)	۸۶ (٪ ۹۶/۶۲)
محمود آباد	۹(٪ ۴/۵)	۱(٪ ۱۱/۱۱)	۸ (٪ ۸۸ /۸۸)
قائم شهر	۱۸ (٪ ۹)	۰	۱۸ (٪ ۱۰۰)
فریدون کنار	۲۰(٪ ۱۰)	۵ (٪ ۲۵)	۱۵ (٪ ۷۵)
ساری	۵ (٪ ۲/۵)	۱ (٪ ۲۰)	۴(٪ ۸۰)
نوشهر	۱۹(٪ ۹ /۵)	۰	۱۹(٪ ۱۰۰)
نور	۱۲(٪ ۶)	۰	۱۲(٪ ۱۰۰)
بابل	۸ (٪ ۴)	۰	۸ (٪ ۱۰۰)
چمستان	۵ (٪ ۲/۵)	۰	۵ (٪ ۱۰۰)
جویبار	۱۲ (٪ ۶)	۸(٪ ۶۶/۶۷)	۴ (٪ ۳۳/۳۳)
سرخ رود	۳ (٪ ۱/۵)	۱(٪ ۳۳/۳۳)	۲ (٪ ۶۶ /۶۷)
مجموع	۲۰۰(٪ ۱۰۰)	۱۹(٪ ۹/۵)	۱۸۱(٪ ۹۰/۵)

• بحث

مهم‌ترین دلایل اختلاف بین شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر در مناطق مختلف دنیا را می‌توان به گوناگونی موقعیت جغرافیایی، وضعیت مدیریت، چگونگی و نوع روش بررسی، نوع و تعداد و حجم نمونه‌های اخذ شده، فصل و نمونه‌گیری در گله‌های آلوده و غیر آلوده نسبت داد (۸).

بررسی و مقایسه حساسیت PCR با دو نوع پرایمر تشخیصی: واکنش‌های زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) روشی اختصاصی، حساس و سریع برای تشخیص کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های مختلف جهت تحقیقات و اهداف کلینیکی شناخته شده است (۴). در مطالعه حاضر، از دو نوع پرایمر تشخیصی که یکی روش PCR با پرایمر Trans (Trans-PCR) و دیگری Nested PCR با پرایمرهای OMP (OMP-PCR) بود، استفاده شد. از مجموع ۲۰۰ نمونه شیرخام اخذ شده، در آزمون Trans- PCR تعداد ۱۹ نمونه (۹/۵درصد) به کوکسیلا بورنتی آلوده تشخیص داده شدند ولی تعداد نمونه‌های مثبت آلوده در آزمون OMP -PCR صفر درصد بود. آزمون آماری نشان داد که اختلاف مشاهده شده بین نتایج دو روش تشخیصی از نظر آماری معنی‌دار است ($P<0/05$). کاربرد روش Trans-PCR به عنوان روشی با حساسیت و اختصاصیت بالا برای تشخیص سریع بیماری تب کیو در نشخوارکنندگان به اثبات رسیده است (۹). بر اساس مطالعه کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۵، که به مقایسه حساسیت سه روش Trans-PCR، OMP-PCR و Coc-PCR در تشخیص کوکسیلا بورنتی پرداخته بودند، مشخص شد روش Trans-PCR دارای بیشترین حساسیت در تشخیص مستقیم کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر است. نتایج مطالعه کارگر با نتیجه مطالعه حاضر هم خوانی دارد(۱۰). PCR با استفاده از پرایمر های Trans1 و Trans2 بسیار حساس و مفید برای تشخیص مستقیم کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر می‌باشد. حساسیت این روش به قدری بالا است که حتی می‌تواند یک عدد کوکسیلا بورنتی را در یک میلی لیتر نمونه تشخیص دهد. عنصر ژنتیکی مورد هدف در این روش ترانسپوزون (IS1111) می‌باشد که این عنصر ژنتیکی حداقل به تعداد ۱۹ کپی در کوکسیلا بورنتی وجود دارد که این خود باعث حساسیت و اختصاصیت بالای این روش شده است. بنابراین انتظار می‌رود که نمونه‌های مثبت Trans-PCR بیشتر از هر روش دیگری باشد (۱۰). هم چنین بایستی خاطرنشان کرد روش Nested- PCR با پرایمر های OMP باید در دو مرحله انجام شود و اجرای PCR در دو مرحله زمان بر است و خطر ابتلا به آلودگی را بین دو مرحله

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

افزایش می‌دهد. هم چنین، قلیان چی و همکاران در ۲۰۱۳، به روش Nested - PCR در استان قم نشان دادند که از ۱۰۰ نمونه شیر جمع آوری شده از مزارع گاو شیری، ۱۴ نمونه (۱۴درصد) به کوکسیلا بورنتی آلوده بودند(۱۱).

شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه های شیر خام گاو، گوسفند و بز و تأثیر نوع گونه دام: در مطالعه حاضر، تعداد نمونه های مثبت در گونه گوسفند ۱۷(۱۷/۵۲ درصد) و در گونه گاو ۲(۲/۷۰ درصد) و در گونه بز صفر درصد تشخیص داده شد و حیواناتی که نمونه شیرشان برای این مطالعه جمع آوری شد از نظر بالینی سالم بودند. بررسی حاضر نشان می‌دهد شیر خام گوسفند نسبت به شیر دو گونه دیگر، بیشترین تعداد نمونه مثبت آلوده به کوکسیلا بورنتی را داشته است. کوکسیلا بورنتی با سقط گوسفندان ارتباط دارد و هم چنین نتایج برخی از مطالعات سرولوژیک حاکی از آن است که میزان شیوع کوکسیلوز در بین گوسفندان بالاست (۱۲). گوسفند منبعی بالقوه از کوکسیلا بورنتی به شمار می‌آید و نتایج بروجنی در سال۱۳۹۲، نشان داد که کوکسیلا بورنتی با سقط گوسفندان ارتباط دارد هم چنین سن، نژاد و سابقه سقط ۵۲ درصد از تغییرات بیماری را توجیه می‌کند و با نتایج این پژوهش هم‌خوانی داشت (۱۲). در مطالعه ای که توسط رحیمی و همکاران در سال ۲۰۱۰، برای تشخیص کوکسیلا بورنتی در شیر گله‌های گاو، گوسفند و بز در استان چهار محال‌وبختیاری با روش Nested- PCR صورت گرفت ۶/۲ درصد از نمونه‌های شیر گاو، ۱/۸درصد از نمونه‌های شیر بز و صفر درصد از نمونه‌های شیر گوسفند مثبت ارزیابی شد. مطالعه فوق از نظر منفی بودن نمونه‌های شیر گوسفند با مطالعه ما مطابقت نداشت، اختلافات مشاهده شده ممکن است به علت متفاوت بودن گونه‌ی حیوانی، محل جغرافیایی و در نتیجه شرایط آب‌وهوایی مناطق و نحوه مدیریت باشد (۱۳).

نوع سیستم پرورش و نگهداری دام‌ها و هم چنین نوع روش نمونه‌برداری مورد مطالعه و تأثیر آن بر شیوع کوکسیلا بورنتی: نوع سیستم پرورش و نگهداری دام‌ها در استان مازندران اغلب به روش سنتی است و کمتر به صورت دامداری‌های صنعتی و نیمه صنعتی دیده می‌شود. در واحدهای صنعتی، دام به روش اصولی و علمی پرورش و نگهداری می‌شود و هم‌چنین حضور دام‌پزشک در این دامداری‌ها ضروری است و اصول مدیریت، تغذیه و بهداشت به طور کامل رعایت می‌شود ولی در دامداری‌های سنتی چون نگاه تولید، معیشتی و خانوادگی است و سال‌هاست روستاییان با دامداری سنتی عجین شده اند این موضوع تأثیر به سزایی در گستردگی شیوع باکتری کوکسیلا بورنتی دارد و دلیل این امر را می‌توان تجمع یافتن دام‌ها در یک مکان غیر بهداشتی و هم چنین عدم رعایت اصول بهداشتی نگهداری دام در مکان تعریف شده دانست. در مطالعه کریمیان و همکاران در سال ۱۳۹۵، در مجموع ۵۰ نمونه شیر گاو از مخزن تانک شیر از ۵۰ گاوداری سنتی به طور تصادفی در فصل زمستان و بهار جمع آوری نمودند و از نظر حضور کوکسیلا بورنتی به روش Nested-PCR مورد مطالعه قرار دادند و در مجموع ۱۶ نمونه از ۵۰ نمونه (۳۲ درصد) از نظر وجود کوکسیلا بورنتی مثبت تشخیص داده شد. هم چنین شیوع کوکسیلا بورنتی از نظر نوع روش نمونه برداری و جمع آوری و نگهداری شیر دام در مخزن شیر و یا نمونه برداری به صورت انفرادی از گله هم عامل مؤثر دیگری است (۱۴). در مطالعه حاضر، از نظر نوع روش نمونه برداری، تعداد ۹۳ (۴۶/۵ درصد) نمونه‌ها از مخزن شیر و تعداد ۱۰۷ نمونه (۵۳/۵ درصد) به روش انفرادی از گله اخذ گردید. تعداد نمونه‌های مثبت در مخزن تانک شیر نسبت به حالت انفرادی از گله، بیشتر بود که دلیل این امر را می‌توان به جمع شدن هم زمان شیر تعداد زیادی دام در آن واحد دانست که این موضوع شانس جداسازی باکتری در این حالت را بیشتر خواهد کرد. در مطالعه‌ای در کشور مجارستان در سال ۲۰۱۲، DNA کوکسیلا بورنتی به روش Real -PCR time در ۸/۷ درصد از نمونه‌های شیرگاو و ۴ درصد از نمونه‌های شیر گوسفند به شکل انفرادی و در ۶۶/۷ درصد از نمونه‌های مخزن شیر گاو شناسایی شد (۱۵). هم چنین، آنگن و همکاران در سال ۲۰۱۱ مطالعه ای را بر روی تعداد ۱۵۱۴ نمونه شیر مخزن از ۱۲ گله گاو شیری مورد بررسی قرار دادند و در این مطالعه ۳۲ درصد از نمونه‌ها آلوده به کوکسیلا بورنتی تشخیص داده شدند.

منطقه جغرافیایی و فصول سال مورد مطالعه و تأثیر آن بر شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر: مطالعه حاضر، نخستین مطالعه در سطح استان مازندران می‌باشد که بالاترین میزان آلودگی (۶۶/۶۷ درصد) در شهرستان جویبار و پایین‌ترین میزان آلودگی در شهرستان محمود آباد (۱۱/۱۱ درصد) تشخیص داده شد. بررسی نتایج، نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار بین حضور باکتری کوکسیلا بورنتی در ۱۱ منطقه مورد بررسی می‌باشد ($P < ۰/۰۵$).

کنه‌های آلوده به عنوان ناقل مهم و یکی از عناصر موثر در چرخه‌ی عفونت و انتشار کوکسیلا بورنتی می‌باشند و به علت حضور فراوان کنه در استان مازندران، یکی از مکان‌های مناسب برای تکامل چرخه انتقال کوکسیلا بورنتی به شمار

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

می‌آید و از طرف دیگر استان مازندران از نظر جغرافیایی در معرض وزش‌های باد از خارج کشور به داخل این استان است و همان‌طور که قبلا اشاره شد، باکتری کوکسیلا بورنتی توسط باد می‌تواند در مسافت‌های طولانی جا به جا و عفونت را منتقل کند. لذا، کنه و باد می‌توانند به عنوان دو عامل موثر و مهم در شیوع کوکسیلا بورنتی در این استان، حائز اهمیت در نظر گرفته شوند. کنه‌ها، کوکسیلا بورنتی را با گزش به انسان منتقل نمی‌کنند ولی می‌توانند از طریق گزش به حیوانات اهلی انتقال دهند.

در مطالعه حاضر از نظر تأثیر فصول سال، بر اساس نتایج به دست آمده شیوع کوکسیلا بورنتی به طور معنی‌داری در فصل زمستان بیشتر از سایر فصول سال بود. در این بررسی بالاترین میزان شیوع آلودگی در بین نمونه‌های جمع آوری شده ۱۶ (۳۲ درصد) در فصل زمستان بود. نتایج مطالعه کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲ در جنوب ایران نیز نشان داد که تمام ۱۱ نمونه شیر خام آلوده به کوکسیلا بورنتی مربوط به فصل زمستان بوده است (۱۶). مطالعات فوق با نتیجه به دست آمده از پژوهش حاضر هم‌خوانی دارند. هم‌چنین مطالعه لیتکاین و همکاران در سال ۱۹۹۸در آلمان، بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به کوکسیلا بورنتی را در طول فصول زمستان و بهار نشان می‌دهد. دلیل شیوع بیشتر کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های اخذ شده از فصل زمستان، دفع این میکروارگانیسم بیماری‌زا از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شیر در زمان زایمان به محیط می‌باشد چرا که تعداد زایمان‌ها در زمستان بیشتر از سایر فصول است.

شیر خام و فراورده‌های غیر پاستوریزه ریسک بالایی برای انتقال کوکسیلا بورنتی به انسان محسوب می‌شوند. بر اساس داده‌های اخیر، تعیین میزان شیوع آلودگی و فاکتورهای خطر باعث می‌شود که اهمیت عفونت برای مسئولین بهداشتی نمایان گردد. امکانات و تجهیزات لازم جهت کنترل و پیشگیری، انجام مطالعات بیشتر در مورد اپیدمیولوژی و اثرات ناشی از حضور کوکسیلا بورنتی در شیر خام و شیوع تب کیو ضروری است (۲). هم‌چنین از آن‌جایی که کوکسیلا بورنتی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه از بین می‌رود، مصرف شیر پاستوریزه می‌تواند یکی از راه‌های مؤثر پیشگیری از آلودگی با این باکتری در مصرف کنندگان شیر باشد (۸).

سپاسگزاری

بدینوسیله از حمایت های دانشگاه تخصصی فناوری های نوین آمل در به ثمر رسیدن این پایان نامه تشکر و قدردانی می‌شود.

References

1. Visioli F, Strata A. Milk, dairy products, and their functional effects in humans: a narrative review of recent evidence. Advances in nutrition. 2014 Mar;5(2):131-43.
2. Anderson A, Bijlmer H, Fournier PE, Graves S, Hartzell J, Kersh GJ, Limonard G, Marrie TJ, Massung RF, McQuiston JH, Nicholson WL. Diagnosis and management of Q fever—United States, 2013: recommendations from CDC and the Q Fever Working Group. Morbidity and Mortality Weekly Report: Recommendations and Reports. 2013 Mar 29;62(3):1-29.
3. Fishbein DB, Raoult D. A cluster of Coxiella burnetii infections associated with exposure to vaccinated goats and their unpasteurized dairy products. The American journal of tropical medicine and hygiene. 1992 Jul 1;47(1):35-40.
4. Eldin C, Angelakis E, Renvoisé A, Raoult D. Coxiella burnetii DNA, but not viable bacteria, in dairy products in France. The American journal of tropical medicine and hygiene. 2013 Apr 3;88(4):765-9.
5. Berri M, Crochet D, Santiago S, Rodolakis A. Spread of Coxiella burnetii infection in a flock of sheep after an episode of Q fever. Veterinary Record. 2005 Dec 3;157(23):737-40.
6. Zhang GQ, Nguyen SV, To H, Ogawa M, Hotta A, Yamaguchi T, Kim HJ, Fukushi H, Hirai K. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of Coxiella burnetii in human serum samples. Journal of clinical microbiology. 1998 Jan 1;36(1):77-80.
7. Vaidya VM, Malik SV, Bhilegaonkar KN, Rathore RS, Kaur S, Barbuddhe SB. Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. Comparative immunology, microbiology and infectious diseases. 2010 Jul 1;33(4):307-21.
8. Bonyadian M, Moshtaghi H, Kazemeini H. The Sensitivity of the Real-time PCR and Nested-PCR for Detection of Coxiella burnetii in Milk Samples. Entomology and Applied Science Letters. 2017 Jan 1;4(2):11-5.
9. Fenollar F, Fournier PE, Raoult D. Molecular detection of Coxiella burnetii in the sera of patients with Q fever endocarditis or vascular infection. Journal of clinical microbiology. 2004 Nov 1;42(11):4919-24.
10. Kargar M, Rashidi A, Doosti A, Najafi A, Ghorbani-Dalini S. The sensitivity of the PCR method for detection of Coxiella burnetii in the milk samples. Zahedan J. Res. Med. Sci. 2015 Jun 28;17(6):29-32.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

11. Ghalyanchi Langeroudi A, Babkhani N, Zolfaghari MR, Majidzadeh Arbadili K, Morovvati A, Soleimani M. Detection of Coxeilla brunetii in bulk tank milk samples from dairy bovine farms using nested-PCR in Qom, Iran, 2011. Iranian Journal of Veterinary Medicine. 2013 Oct 1;7(3):207-11.

12. Pourmahdi Boroujeni, M.; Gharibi, D.; Goraninejad, S. and Zamiri Akhlaghi, S. Serumic coxiellosis in Ahzaz sheep. Iran Veterinary Journal. 2013, 9(1): 11-18. (in Persian)

13. 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 and public health. 2010 Dec;57(7-8):e38-41.

14. Karimian A.; Mahzounieh M.R. and Ebrahimi Kahrizsangi, A. Genomic detection of *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples by Nested-PCR method in Shahrekord, Iran. Pajouhandeh.2016, 21(1): 52-57. (in Persian)

15. Gyuranecz M, Dénes B, Hornok S, Kovács P, Horváth G, Jurkovich V, Varga T, Hajtós I, Szabó R, Magyar T, Vass N. Prevalence of Coxiella burnetii in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2012 Aug 1;12(8):650-3.

16. Kargar M, Rashidi A, Doosti A, Ghorbani-Dalini S, Najafi A. Prevalence of Coxiella burnetii in bovine bulk milk samples in southern Iran. Comparative clinical pathology. 2013 May 1;22(3):331-4.

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]

Genomic Detection of *Coxiella Burnetii* in Raw Cow, Sheep and Goat Milk Samples Using PCR Assay and Two Types of Primers in Mazandaran Province, Iran: A Preliminary Study

*Kazemeini H.R[*1], Asna Ashari E[2], Khoshbakht R[3]*

*1-*Corresponding author: Assistant Prof, Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine , Amol University of Special Modern Technologies , Amol, Iran. Email: hamid.kazemeini@gmail.com*

2- Dept. of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine , Amol University of Special Modern Technologies , Amol, Iran

3- Dept. of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine , Amol University of Special Modern Technologies , Amol, Iran

Received 7 Nov, 2020 **Accepted 22 Feb, 2021**

Background and Objectives: The aim of this study was to investigate prevalence of *Coxiella burnetii* in milk samples of dairy cow, sheep and goats using PCR method in Mazandaran Province, Iran.

Materials & Methods: From May 2018 to December 2018, a total of 200 raw milk samples of cows, sheep and goats were randomly collected from Mazandaran Province. These samples were tested for *Coxiella burnetii* using polymerase chain reaction assay with two various primers.

Results: In this study, the aim was to investigate the prevalence of *Coxiella burnetii* using polymerase chain reaction by comparing two types of primers. Using Trans primer, a total of 19 samples [17 sheep milk samples (17.52%) and two cow milk samples (2.70%)] were positive for *Coxiella burnetii* while none of the goat milk samples were positive. Using the OMP primers, none of the samples were positive and the results showed that the Trans primer included a further ability to detect *Coxiella burnetii*. Prevalence of *Coxiella burnetii* was higher in autumn and winter than in other seasons ($p < 0.05$). The highest frequency of positive samples was linked to Joybar City with eight samples (66.67%) and the lowest frequency was linked to Mahmoud Abad with one sample (11.11%). The number of positive samples detected by Trans primers was 16 (8.60%) in the traditional unit and two (20%) in the semi-industrial unit. However, no positive samples were detected in industrial units. Moreover, the number of positive samples by Trans primers was 12 (12.90%) from the bulk tanks and seven (6.55%) from individual samples. Studying prevalence of contamination and risk factors reveals importance of the infection for health officials.

Conclusion: Results of this study showed that Trans- polymerase chain reaction method included a further ability to detect *Coxiella burnetii* infection. Prevalence of *Coxiella burnetii* varied in various seasons; hence, prevalence of *Coxiella burnetii* was higher in autumn and winter than in other seasons. For control and prevention, further studies on epidemiology of *Coxiella burnetii* from raw milks and prevalence of Q fever in the society are necessary.

Keywords: Q fever, *Coxiella burnetii*, Milk, PCR, Mazandaran

[Downloaded from nsft.sbmu.ac.ir on 2026-11-11]