بررسی سرولوژیک تب کیو در بزها و گاومیش‌های منطقه اهواز به روش الایزا

حامد کرمی میرعزیزی[۱]، مهدی پورمهدی بروجنی[۲*]، داریوش غریبی[۳]، محمدرحیم حاجی حاجیکلایی[۴]

۱- دانش‌آموخته دکترای حرفه‌ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۲- دانشیار گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
۳- دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
٤- استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: pourmahdim@scu.ac.ir
(دریافت مقاله: ۹۵/٦/۲۱ پذیرش نهایی: ۲/۲۰/ ۹٦)

چکیده

کوکسیلوز یا تب کیو با عامل *کوکسیلا بورنتی* در حیوانات اهلی معمولاً به صورت تحت‌بالینی بروز می‌کند، اگرچه با سقط و ناباروری نیز همراه می‌باشد. نشخوارکنندگان اهلی مهم‌ترین مخزن عامل بیماری بوده و از طریق شیر، ادرار، مدفوع و ترشحات تنفسی و تولیدمثلی آن را دفع می‌کنند. استنشاق آئروسل‌های آلوده مهم‌ترین راه آلودگی انسان و حیوانات است. هدف از مطالعه حاضر تعیین شیوع سرمی تب کیو در بزها و گاومیش‌های منطقه اهواز بود. در این بررسی، نمونه‌های خون به طور تصادفی از ۱۳۷ رأس بز و ۱۳۵ رأس گاومیش در شهرستان اهواز جمع آوری گردید. سرم‌های تهیه‌شده، به‌روش الایزا از نظر آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* آزمایش شدند. شیوع سرمی تب کیو در بزهای تحت مطالعه به طور کلی ۳٤/۳۱ درصد (۲٦/٤۱-٤۲/۲۱ درصد، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) و در گاومیش‌های تحت بررسی صفر درصد بود. آزمون مربع کای نشان داد شیوع بیماری در گاومیش با شیوع آن در بز تفاوت معنی‌داری دارد (p<۰/۰۰۱). آلودگی در بز ارتباط معنی‌داری با رده‌های سنی داشت. رگرسیون لاجستیک نشان داد که در بز نسبت شانس بین سن برحسب سال و آلودگی ۱/۵۷ (۲/۰۸- ۱/۱۹، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) است (p<۰/۰۰۱) و با افزایش ۱ سال سن حیوان، شانس آلودگی ۵۷ درصد افزایش می‌یابد و تغییر سن، ۱۰/۸ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. شانس آلودگی جنس ماده در بز ۱/۵۸ برابر جنس نر (٦/٤۷- ۱/۰۳ برابر، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) بود (p<۰/۰۵) و جنس حیوان ٤/۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. مطالعه حاضر نشان داد که شیوع تب کیو در جمعیت بزهای منطقه اهواز قابل توجه می‌باشد. بنابراین، *کوکسیلا بورنتی* بایستی به عنوان یکی از عوامل عفونی زئونوز، توسط دامپزشکان و سیاست‌گذاران بهداشتی مورد توجه قرار گیرد.

کلیدواژه‌ها: تب کیو، سرولوژی، بز، گاومیش، اهواز.

Archive of SID
www.SID.ir

مقدمه

تب کیو یک بیماری مشترک با گسترش جهانی است که توسط باکتری گرم منفی میله‌ای داخل سلولی اجباری، به نام *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود. این عامل بیماری‌زا جزء عوامل بیوتروریسم بوده و کشت و دست‌کاری نمونه‌های آلوده به آن بایستی در آزمایشگاه‌های با ایمنی زیستی سطح ۳ صورت گیرد. *کوکسیلا بورنتی* برخلاف بسیاری از اجرام غیرهاگ‌دار در مقابل عوامل فیزیکی و شیمیایی نظیر دمای بالا، خشکی و بسیاری از ضدعفونی‌کننده‌ها مقاوم است و دوز عفونت‌زایی پایینی دارد (Angelakis and Raoult, 2010). از نظر ایمنی، *کوکسیلا بورنتی* دارای دو فاز آنتی‌ژنی غالب ناشی از تغییرات آنتی‌ژنی در لیپوپلی‌ساکاریدهای خود می‌باشد. مخازن تب کیو بسیار گسترده و شامل پستانداران اهلی و وحشی، پرندگان، ماهیان، خزندگان و بندپایان است (Woldehiwet, 2004). گاو، گوسفند و بز منابع اصلی بیماری برای انسان به‌شمار می‌روند (Angelakis and Raoult, 2010). بیماری در حیوانات بیشتر به شکل تحت‌بالینی است، اما امکان بروز نشانه‌های بالینی به‌ویژه اختلالات تولیدمثلی نظیر سقط، مرده‌زایی و ناباروری وجود دارد (Maurin and Raoult, 1999; Cabassi *et al.*, 2006). دامنه میزان سقط در میش و بز متغیر بوده و سقط اغلب در انتهای دوره آبستنی و بدون علائم بالینی خاصی اتفاق می‌افتد. به دنبال عفونت، *کوکسیلا بورنتی* در رحم و غدد پستانی پستانداران ماده متمرکز می‌شود و طی زایمان طبیعی یا غیرطبیعی از طریق مایعات و پرده‌های جنینی و همچنین از طریق ادرار، شیر و مدفوع به محیط دفع می‌شود. انتقال عامل به انسان عمدتاً از طریق آئروسل‌های آلوده است اما ممکن است در اثر مصرف شیر خام یا محصولات لبنی آلوده هم اتفاق افتد (Maurin and Raoult, 1999). بیماری در انسان به‌صورت حاد و مزمن نمایان می‌شود، البته معمولاً بدون نشانه است. در شکل حاد نشانه‌های بیماری شبیه به آنفلوانزا و با تب، سردرد و درد عضلات مشخص می‌شود که ممکن است با پنومونی و هپاتیت نیز همراه گردد. در شکل مزمن بیماری، آندوکاردیت دیده می‌شود که ممکن است سال‌ها بعد از عفونت حاد بروز کند. فاکتورهای میزبانی به‌ویژه وضعیت سیستم ایمنی، اهمیت زیادی در بروز علائم بالینی و عواقب بیماری تب کیو دارد (Maurin and Raoult, 1999; Angelakis and Raoult, 2010). 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 در آزمایشگاه‌های خاص که وسایل و تجهیزات خاص دارند، قابل انجام است. معمولاً مطالعه روی بیماری تب کیو بر پایه آزمایش‌های سرولوژی استوار است. ازجمله روش‌های سرولوژی جهت تشخیص بیماری، میکروآگلوتیناسیون، آزمایش تثبیت عناصر مکمل، رادیوایمونواسی، ایمونوفلورسانس، الایزا و ایمونوبلاتینگ است که در این میان، ایمونوفلورسانس به‌عنوان یک آزمایش مرجع برای تشخیص سرمی بیماری تب کیو استفاده می‌شود و قادر است آنتی‌بادی علیه فاز ۱ و فاز ۲ کوکسیلا را مشخص کند. از طرفی الایزا به‌عنوان یک روش آسان و با حساسیت و ویژگی نسبتاً خوب مطرح است که کیت‌های تشخیصی تجاری آماده آن برای مصرف نیز وجود دارند. این کیت‌ها آنتی‌بادی‌های ضد

Archive of SID

www.SID.ir

فـاز ۱ و ۲ را تشـخیص مـی‌دهنـد و در بررسـی‌هـای اپیدمیولوژی به‌وفور استفاده می‌شوند (Angelakis and Raoult, 2010; Maurin and Raoult, 1999).

با توجه بـه شـرایط آب و هـوایی و شـکل پـرورش حیوانات در کشور ایـران، تـب کیـو مـی‌توانـد یکـی از مهم‌ترین بیماری‌هـای مشـترک بـین انسـان و حیوانـات محسوب شـود. بـر ایـن اسـاس تـاکنون شـیوع سـرمی بیماری در گوسفند، گاو و سگ در اهواز مشخص شـده است (Pourmahdi Borujeni *et al*., 2013; Rezaei *et al*., 2015; Pourmahdi Borujeni *et al*., 2016)، امـا شیوع آن در بز و گاومیش در این شهر مورد مطالعه قرار نگرفته است. بنابراین، هـدف از انجـام مطالعـه حاضـر، بررسی شیوع سرمی تب کیـو در بزهـا و گـاومیش‌هـای منطقه اهواز و فاکتورهـای تأثیرگـذار بـر آن بـود تـا بـا مشخص شدن شیوع آلودگی، انجام برنامه کنترل بیماری در جمعیت دامی در دستور کار مراجع ذیربط قرار گیرد که این امر نیز به نوبه خود کنتـرل بیمـاری در جمعیـت انسانی را به همراه خواهد داشت.

مواد و روش‌ها

جهـت بررسـی حضـور آنتـی‌بـادی علیـه *کوکسـیلا بورنتی*، با همکـاری اداره محتـرم دامپزشـکی شهرسـتان اهواز، نمونه‌های خون به‌طور تصـادفی از ۱۳۷ رأس بـز از ۸ گله بز که واکسن تب کیو را اسـتفاده نمـی‌کردنـد، جمـع‌آوری گردیـد. همچنـین، نمونـه خـون ۱۳۵ رأس گاومیش از کشـتارگاه شهرسـتان اهـواز در سـال ۱۳۹٤ جمع‌آوری شد. نمونه‌های خون اخذشده بـه آزمایشـگاه منتقل و پس از گذشت ۱ تا ۲ سـاعت، اتصـالات لختـه تشکیل‌شـده از جـدار لولـه آزاد گردیـد و نمونـه‌هـا بـا سرعت ۲۵۰۰ دور در دقیقه به مدت ۸ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم تشکیل‌شده به‌آرامی از قسـمت رویـی لولـه برداشته و به میکروتیوبی که قبلاً کدگـذاری شـده بـود، منتقل گردید و تا زمان انجام آزمایش الایزا در دمای۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

کیت الایزای استفاده شـده در ایـن مطالعـه، سـاخت شـرکت ID vet فرانسـه (ID Screen® Q Fever Indirect Multi-species) بـود. ایـن کیـت بـر اسـاس الایزای غیرمستقیم طراحی‌شده و در آن به‌عنوان آنتی‌ژن، از فاز ۱ و ۲ *کوکسیلا بـورنتی* جداشـده از جفـت گـاو سقط‌کرده در فرانسه استفاده شده است. این کیـت قـادر به شناسایی آنتی‌بادی‌هـای ترشـح‌شـده علیـه *کوکسـیلا بورنتی* در سرم و پلاسمای انسان و گونه‌های حیوانـات مختلف می‌باشد.

نمونه‌های سرمی مشـکوک پـس از اضـافه شـدن بـه داخل گوده‌های پلیت، در صورت حضور آنتی‌بادی ضد کوکسیلا در آنها، کمپلکس آنتی‌ژن-آنتی‌بادی را تشـکیل می‌دهند. پس از شستشوی گوده‌ها، کونژوگه پراکسـیداز به گوده‌ها اضافه می‌شـود و کمـپلکس حـاوی آنتـی‌ژن، آنتی‌بادی، کونژوگه پراکسیداز تشکیل می‌شـود. متعاقـب حذف کونژوگه اضافی توسط شستشو، محلول سوبسترا (Tetra methyl benzidine; TMB) اضـافه مـی‌شـود. میزان رنگ آبی تولیدشده به مقدار حضور آنتی‌بـادی در نمونه سرمی بستگی دارد که بعد از اضافه کردن محلـول متوقف‌کننده، رنگ آبـی بـه زرد تغییـر رنـگ مـی‌دهـد. مراحل آزمایش الایزا طبق توصیه شرکت سـازنده انجـام گرفت و میزان جذب نوری حفرات در طول مـوج ٤٥٠ نانومتر قرائت و ثبت گردید. درصد S/P (نسبت جـذب نوری نمونه به کنتـرل مثبـت) بـرای هـر نمونـه مطـابق

Archive of SID
www.SID.ir

فرمول زیر محاسبه و بر اساس درصد S/P تفسیر نتایج صورت گرفت.

$$S/P = \frac{\text{جذب نوری کنترل منفی} - \text{جذب نوری نمونه}}{\text{جذب نوری کنترل منفی} - \text{جذب نوری کنترل مثبت}} \times ۱۰۰$$

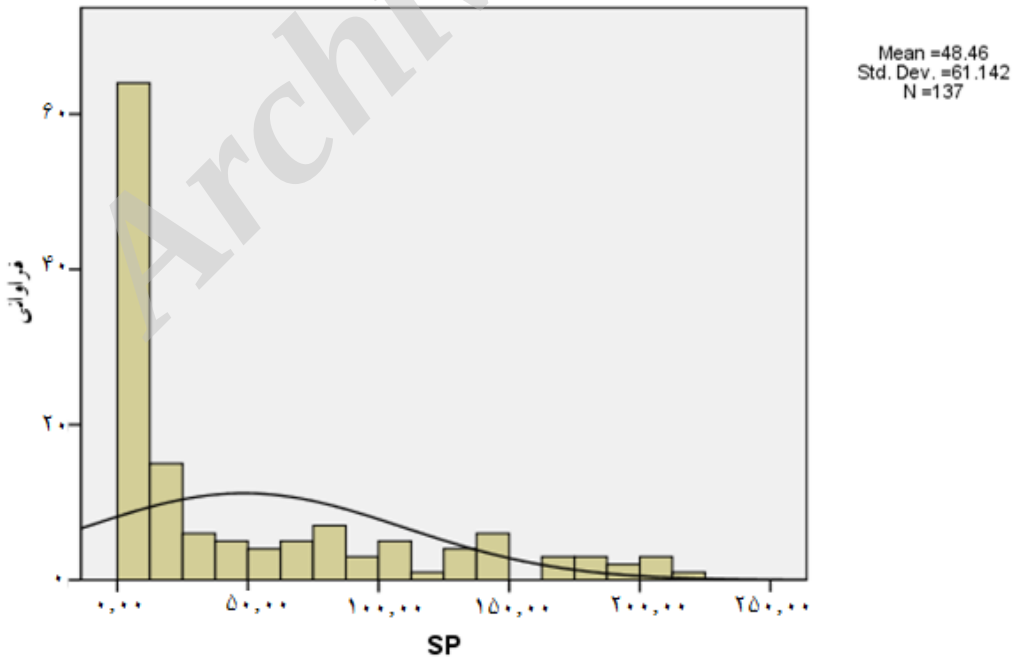
طبق دستور شرکت سازنده، سرم‌های با S/P کمتر یا مساوی ٤٠ درصد، منفی، سرم‌های با S/P بیشتر از ٤٠ درصد و کمتر یا مساوی ٥٠ درصد، مشکوک، سرم‌های با S/P بیشتر از ٥٠ درصد و کمتر یا مساوی ٨٠ درصد، مثبت و سرم‌های با S/P بیشتر از ٨٠ درصد مثبت قوی تلقی گردیدند.

تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های جمع‌آوری‌شده با استفاده از نرم‌افزارSPSS نسخه ١٦ به‌طور توصیفی و تحلیلی بررسی شدند. به‌منظور تحلیل داده‌ها از آزمون کولموگروف اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test)، آزمون مربع کای (Chi square test)، رگرسیون لاجستیک (Logistic regression) و آزمون مان-ویتنی (Mann-Whitney U test) استفاده گردید. α=٠/٠٥ به عنوان سطح معنی‌دار آماری مدنظر قرار گرفت.

یافته‌ها

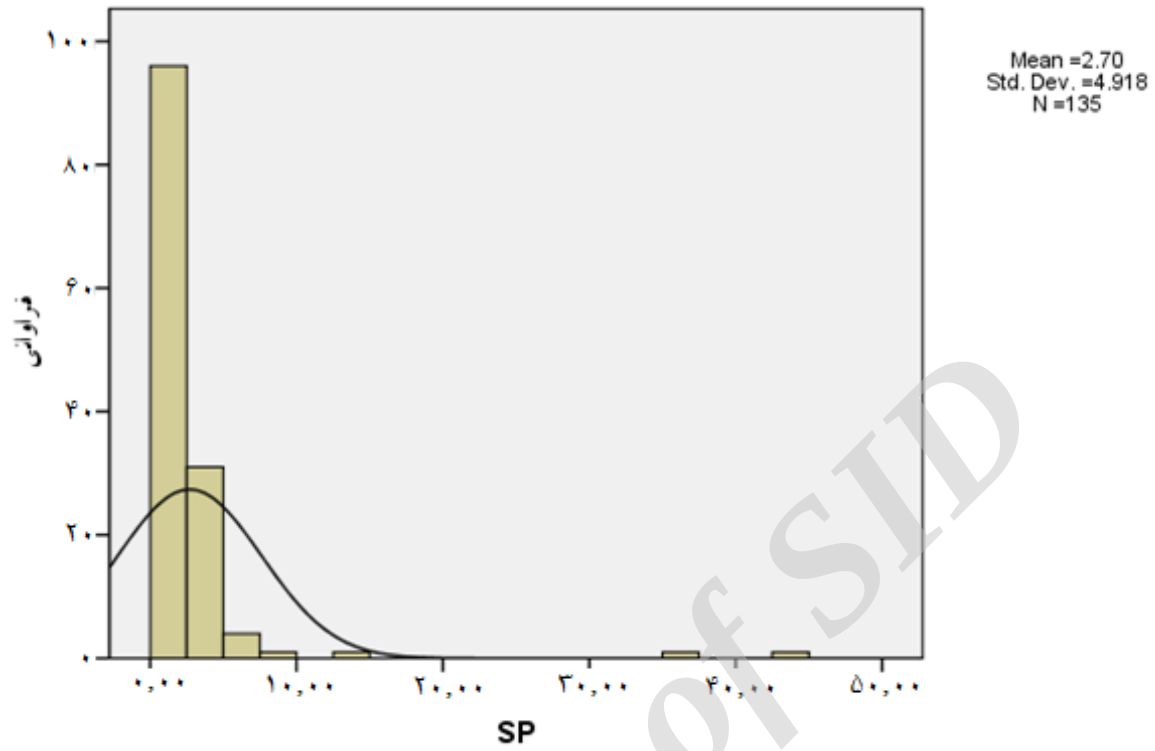
میانگین و انحراف معیار سن بزها به ترتیب ٢/٣٧ و ١/٤١ سال و گاومیش‌ها به ترتیب ١/٣٣ و ١/٥١ سال بود. فراوانی نسبی جنس ماده و نر در بزهای تحت بررسی به ترتیب ٧٤/٥ و ٢٥/٥ درصد و در گاومیش‌ها به ترتیب ٣٦/٣ و ٦٣/٧ درصد بود.

در نمودار ١ توزیع فراوانی نسبت جذب نوری نمونه به کنترل مثبت به‌صورت درصد و فراوانی موارد منفی و مثبت در بزهای تحت بررسی و در نمودار ٢ برای گاومیش ارائه گردیده است. آزمون کولموگروف اسمیرنوف نشان داد که توزیع مشاهدات مربوط به S/P در بز و گاومیش متقارن نمی‌باشد (p<٠/٠٠١).



نمودار ١- توزیع فراوانی نسبت جذب نوری نمونه به کنترل مثبت (درصد) *کوکسیلا بورنتی* در بزهای اهواز

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار ۲- توزیع فراوانی نسبت جذب نوری نمونه به کنترل مثبت (درصد)*کوکسیلا بورنتی* در گاومیش‌های اهواز

شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در بزهای تحت بررسی به‌طورکلی ۳٤/۳۱ درصد (۲٦/٤۱-٤۲/۲۱ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) بود. البته، ۵ نمونه مشکوک نیز وجود داشت که در تحلیل آماری منفی تلقی شدند. توزیع فراوانی موارد مثبت به‌صورت ۱۳ مورد مثبت (۲۷/۷ درصد) و ۳٤ مورد مثبت قوی (۷۲/۳ درصد) بود. شیوع در گاومیش‌های تحت بررسی صفر درصد بود. آزمون مربع کای نشان داد شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در گاومیش و بز به‌طور معنی‌داری متفاوت است ($p<۰/۰۰۱$).

در جدول ۱ توزیع فراوانی موارد منفی و مثبت به تفکیک سن در بز ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد با افزایش سن فراوانی آلودگی نیز افزایش می‌یابد. آزمون مربع کای نشان داد ارتباط معنی‌داری بین رده‌های سنی و آلودگی وجود دارد ($p<۰/۰۱$). میانگین و انحراف معیار سن بزهای سرم مثبت و منفی به ترتیب ۱/۱۹±۲/۹۱ و ۱/٤٤±۲/۰۹ سال بود که از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشتند ($p<۰/۰۰۱$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که نسبت شانس بین سن برحسب سال و آلودگی ۱/۵۷ (۲/۰۸- ۱/۱۹ با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) است ($p<۰/۰۰۱$) و با افزایش ۱ سال بر سن حیوان، شانس آلودگی ۵۷ درصد افزایش می‌یابد و سن ۱۰/۸ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. در جدول ۲ توزیع فراوانی موارد سرمی منفی و مثبت *کوکسیلا بورنتی* در بز به تفکیک جنس ارائه گردیده است. بررسی این جدول نشان می‌دهد که فراوانی نسبی موارد مثبت در جنس ماده بیشتر از نر است که این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار است

Archive of SID
www.SID.ir

($p<۰/۰۵$). رگرسیون لاجستیک تک‌متغیره نشان داد که شانس آلودگی جنس ماده ۱/۵۸ برابر جنس نر (٦/٤٧-۱/۰۳ برابر، با فاصله اطمینان ۹۵ درصد) است ($p<۰/۰۵$) و جنس ٤/۵ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کند. رگرسیون لاجستیک چند متغیره نشان داد که سن و جنس ۱۱/۹ درصد از تغییرات آلودگی را توجیه می‌کنند. البته در رگرسیون پس‌رونده تنها سن تأثیر معنی‌داری بر آلودگی داشت ($p<۰/۰۰۱$).

جدول ۱- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی مثبت و منفی *کوکسیلا بورنتی* در بزهای اهواز به تفکیک سن (سال)

فراوانی / دامنه سنی	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
۰-۲	۳۷	۸۲/۲۲	۸	۱۷/۷۸	٤۵	۳۲/۸۵
۲-٤	۵۳	۵۷/٦	۳۹	٤۲/٤	۹۲	٦۷/۱۵
جمع کل	۹۰	٦۵/٦۹	٤۷	۳٤/۳۱	۱۳۷	۱۰۰

جدول ۲- توزیع فراوانی مطلق و نسبی موارد سرمی منفی و مثبت *کوکسیلا بورنتی* در بزهای اهواز به تفکیک جنس

فراوانی / جنس	منفی		مثبت		جمع کل	
	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی	مطلق	نسبی
ماده	٦۲	٦۰/۷۸	٤۰	۳۹/۲۲	۱۰۲	۷٤/٤۵
نر	۲۸	۸۰	۷	۲۰	۳۵	۲۵/۵۵
جمع کل	۹۰	٦۵/٦۹	٤۷	۳٤/۳۱	۱۳۷	۱۰۰

بحث و نتیجه‌گیری

تب کیو به‌عنوان یک زئونوز نوپدید و بازپدید در بسیاری از کشورها ازجمله ایران مطرح است. 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 هوابرد، امکان آلودگی سایر افراد جمعیت نیز وجود دارد. در مطالعه حاضر برای اولین بار شیوع سرمی تب کیو در بز و گاومیش در اهواز مورد مطالعه قرار گرفت و مشخص گردید شیوع بیماری در بزهای شهر اهواز ۳٤/۳۱ درصد است که قابل توجه می‌باشد به‌طوری‌که، شیوع سرمی در بررسی‌های انجام گرفته در این شهر در گوسفند، گاو و سگ به روش الایزا به ترتیب ۱۳/۱۸، ۳/٤۹ و ۰/۵٤ درصد بوده است (Pourmahdi Borujeni *et al.*, 2013; Rezaei *et al.*, 2015; Pourmahdi Borujeni *et al.*, 2016). هم‌سو با بررسی حاضر، شیوع سرمی آلودگی در گوسفند و بز در استان خراسان رضوی به ترتیب ۳٦/۵ و ۲۹/۸ درصد و در شهرستان اردبیل در گوسفند ۳۳/٦ درصد بوده است (Keyvani Rad *et al.*, 2013; Esmaeili *et al.*, 2014). در جنوب شرقی ایران شیوع سرمی در گوسفند به روش الایزا ۲۹/٤۲ درصد و در بز ٦۵/۷۸ درصد اعلام

Archive of SID
www.SID.ir

گردیده است (Khalili and Sakhaee, 2009; Sakhaee and Khalili, 2010). شیوع سرمی*کوکسیلا بورنتی* به روش الایزا در گله‌های گوسفند و بز دارای سابقه سقط در ایران به ترتیب ۱۹/۵ و ۲۷/۲ درصد اعلام گردیده است و نشان داده شده است که آلودگی با گونه و منطقه جغرافیایی رابطه دارد (Asadi *et al*., 2013). شیوع سرمی*کوکسیلا بورنتی* به روش الایزا در گوسفند و بز در جنوب شرقی ایران به ترتیب ۳۳/۹ و ۲۲/٤ درصد بوده است (Ezatkhah *et al*., 2014). در بررسی ٤٤۷ نمونه خون (۱۲۰ انسان، ۱۳۵ رأس گوسفند، ۱۰۲ رأس گاو، ٦ رأس بز، ۲۰ قلاده سگ و ۱۰ سر جوجه‌تیغی) و ٦۰۵ عدد کنه به روش qPCR (PCR کمی) هیچ مورد مثبتی نسبت به *کوکسیلا بورنتی* در غرب استان مازندران مشاهده نشده است (Bashiribod *et al*., 2008). شیوع سرمی تب کیو در جمعیت گوسفند و بز در هلند به ترتیب ۲/٤ و ۷/۸ درصد و در ساحل عاج در گاو، گوسفند و بز به ترتیب ۱۳/۹، ۹/٤ و ۱۲/٤ گزارش شده است (Van den Brom *et al*., 2012; Kanoute *et al*., 2016). شیوع *کوکسیلا بورنتی* به روش PCR در آمریکا در بزهای بالای یک سال و غیر آبستن ۳/۱ درصد گزارش شده است (Bauer *et al*., 2016). شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در ایتالیا به روش الایزا در گوسفند و بز به ترتیب ۹ و ۱۳ درصد و در یونان به روش ایمنوفلورسانس در گوسفند و بز به ترتیب ۱۰/٤ و ٦/۵ درصد گزارش شده است (Pape *et al*., 2009; Masala *et al*., 2004). در آلبانی شیوع سرمی تب کیو در گوسفند و بز و گاو به روش الایزا به ترتیب ۹/۸ و ۷/۹ درصد، در بریتانیا در گوسفند و بز به ترتیب ۰/۹ و ۰/۷ درصد و در جزایر قناری در بز ٤۲ درصد گزارش گردیده است (Cekani *et al*., 2008; Tejedor-junco *et al*., 2015; Lambton *et al*., 2016). شیوع سرمی در آمریکا، به روش الایزا در بز، ۱۲ درصد و به روش qPCR در ترشحات واژن، مدفوع و شیر۲۵ درصد بوده است (Anderson *et al*., 2015). شیوع سرمی در گاو، گوسفند و بز در بنگلادش به ترتیب ۳/۵۷، ۹/۵۲ و ۳/۳۳ درصد و در گوسفندان تبتی در چین ۱٤/۳۹ درصد بوده است (Yin *et al*., 2015; Rahman *et al*., 2016). در ترکیه فراوانی *کوکسیلا بورنتی* در ۲۰۰ نمونه جنینی از گوسفندان سقط کرده، به روش PCR، ۲ درصد بوده است (Kiliç *et al*., 2015). شیوع سرمی در کبک کانادا در گوسفند ٤۱ درصد، در شرق ترکیه در گوسفند ۱۱ درصد و در گاو ٦ درصد، در آمریکا در بز ٤۱ درصد، در گوسفند ۱۷ درصد و در گاو ۳ درصد گزارش گردیده است (Norlander, 2000). شیوع سرمی در آلمان در گاو، گوسفند و بز به ترتیب ۷/۸ ، ۱/۳ و ۲/۵ درصد و در قبرس شیوع آنتی بادی ضد آنتی‌ژن فاز ۲ به روش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم در بز ٤۸/۲ درصد، در گوسفند ۱۸/۹ درصد و در گاو ۲٤ درصد بوده است. شیوع سرمی در بز در چاد به روش الایزا ۱۱ درصد و در گاو، گوسفند و بز مبتلا به اختلالات تولیدمثلی در هند به ترتیب ۱۱/۳٦، ۹/۳ و ۵/٦٦ درصد گزارش‌شده است (Arricau-Bouvery and Rodolakis, 2005; Vaidya *et al*., 2008). شیوع سرمی تب کیو در استرالیا در گاو و گوسفند به روش الایزا به ترتیب ۰/٦۱ و صفر درصد و در بررسی مدفوع و ادرار گاوها به روش qPCR به ترتیب ٤/۳ و ۳/٦ درصد و مدفوع گوسفندان ۱۲ درصد بوده است. این تفاوت به این علت است که *کوکسیلا بورنتی* در پستان، رحم، روده و کلیه حیوانات جایگزین شده و حیوان

Archive of SID
www.SID.ir

بدون داشتن تیتر سرمی، کوکسیلا را از طریق مدفوع، ادرار و شیر دفع می‌کند. در ضمن، بایستی توجه داشت حساسیت PCR نسبت به الایزا بیشتر است (Banazis *et al.*, 2010; Berri *et al.*, 2002). تفاوت مشاهده‌شده در میزان شیوع در نقاط مختلف ممکن است به علت تفاوت در فاکتورهای میزبانی نظیر سن، جنس، گونه و نژاد، آب و هوا، مدیریت، روش تشخیص، اندازه گله، روش نمونه‌گیری و حجم نمونه باشد به‌طوری که، در بررسی انجام گرفته در ترکیه مشخص شده است که شیوع سرمی در گله‌های بزرگ نسبت به گله‌های کوچک و متوسط بیشتر است (Kennerman *et al.*, 2010). همچنین، مشخص گردیده است که شیوع بیماری در مناطق خشک به علت گسترش بیشتر آئروسل‌ها بالاتر است (Nakoun´e *et al.*, 2004) و یا این که در بررسی انجام گرفته در فرانسه نشان داده شده است که فصل زایش و عدم پاک‌سازی محیط نگه‌داری از ترشحات زایمانی و جفت، شانس عفونت به کوکسیلا را در گاو افزایش می‌دهد (Taurel *et al.*, 2004).

در بررسی نقش فاکتورهای میزبانی، مشخص گردید که ارتباط معنی‌داری بین سن و آلودگی در بز وجود دارد و شانس آلودگی با افزایش سن بالا می‌رود. به‌طور مسلم با افزایش سن، شانس مواجهه با کوکسیلا افزایش می‌یابد. هم‌سو با این بررسی کنرمن و همکاران در سال ۲۰۱۰ و اسماعیلی و همکاران در سال ۲۰۱٤ نیز ارتباط معنی‌دار سن با آلودگی را نشان داده‌اند (Kennerman *et al.*, 2010; Esmaeili *et al.*, 2014).

مطالعه حاضر نشان داد فراوانی نسبی موارد مثبت در جنس ماده به طور معنی‌داری بیشتر از جنس نر در بز است. البته، در رگرسیون چند متغیره جنس نقش معنی‌داری بر آلودگی نداشت. همسو با این یافته در مطالعه دیگری عفونت کوکسیلایی در بزهای ماده به‌طور معنی‌داری بیشتر بوده است (Anderson *et al.*, 2015). اختلاف بین دو جنس ممکن است واقعی و یا اینکه غیرواقعی و به‌علت اختلاف در حجم نمونه و سن باشد.

در بررسی حاضر شیوع سرمی *کوکسیلا بورنتی* در گاومیش صفر درصد بود. شیوع کوکسیلا در جنین‌های سقط‌شده گاومیش در ایتالیا ۸/۵۳ درصد بوده است (Perugini *et al.*, 2009). شیوع سرمی آلودگی در چین ۱۳/۹۵ درصد گزارش شده است (Yin *et al.*, 2015). شیوع سرمی تب کیو در هند به روش الایزا در گاومیش‌های مبتلا به اختلالات تولیدمثلی ۱۸/۱۸ درصد بوده است (Vaidya *et al.*, 2008). حضور آنتی‌بادی ضد کوکسیلا در سرم گاومیش‌های مناطق دیگر و عدم حضور آنتی‌بادی در گاومیش‌های اهواز ممکن است به دلایل مختلف مثل تفاوت در حجم نمونه، سن، نژاد، اندازه گله، مدیریت و آب و هوا توجیه گردد.

مطالعات انجام‌شده در ایران نشان می‌دهد که تب کیو در ایران ، یک بیماری اندمیک بوده و نقش آن در تهدید سلامتی حیوانات و انسان، به خاطر فراوانی موارد تحت‌بالینی و عدم تمایز موارد بالینی از بیماری‌هایی نظیر تب مالت و آنفلوانزا، بسیار دست‌کم گرفته شده است. برای مثال شیوع سرمی فاز ۱ و ۲ تب کیو در انسان‌های مبتلا به تب در بردسیر کرمان در سال ۲۰۱۰ به روش الایزا نسبتاً بالا و به ترتیب ۲٤ و ۳٦ درصد بوده است (Khalili *et al.*, 2010). مطالعه حاضر نشان می‌دهد که شیوع تب کیو در جمعیت بزها قابل توجه

Archive of SID

www.SID.ir

است. بنابراین، بایستی به‌عنوان یکی از عوامل عفونی زئونوز مهم توسط دامپزشکان و سیاست‌گذاران بهداشتی مورد توجه قرار گیرد. واکسیناسیون، عامل بسیار مهمی در پیشگیری و کنترل بیماری محسوب می گردد. کارآیی واکسیناسیون دام‌ها علیه تب کیو در مطالعات قبلی به اثبات رسیده است به‌طوری که، کاربرد واکسن تب کیو باعث کاهش سقط و کاهش و یا قطع دفع باکتری از راه ترشحات شده است (Angelakis and Raoult, 2010; Gefenaite *et al*., 2011; Rodolakis, 2006). 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.

سپاسگزاری

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌خاطر تأمین هزینه اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند. نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع

- Anderson, A.D., Szymanski, T.J., Emery, M.P., Kohrs, P.H., Bjork, A.C., Marsden-Haug, N., *et al*. (2015). Epizootiological investigation of a Q fever outbreak and implications for future control strategies. Journal of the American Veterinary Medical Association, 247(12): 1379-1386.
- Angelakis, E. and Raoult, D. (2010). Q fever. Veterinary Microbiology, 140: 297-309.
- Arricau-Bouvery, N. and Rodolakis, A. (2005). Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? Veterinary Research, 36(3): 327-349.
- Asadi, J., Kafi, M. and Khalili, M. (2013). Seroprevalence of Q fever in sheep and goat flocks with a history of abortion in Iran between 2011 and 2012. Veterinaria Italiana, 49(2): 163-168.
- Banazis, M.J., Bestall, A.S., Reid, S.A. and Fenwick, S.G. (2010). A survey of Western Australian sheep, cattle and kangaroos to determine the prevalence of Coxiella burnetii. Veterinary Microbiology, 143(2-4): 337-345.
- Bashiribod, H., Rahbarian, N., Eslami, G., Kazemi, B., Jannatsharif, E., Mahmoudirad, M., *et al*. (2008). Prevalence of coxiella burnetii in human, animal hosts and hard ticks in west Mazandaran Province Iran, 2003-4. Research in Medicine, 32(3): 253-257. [In Persian]
- Bauer, A.E., Hubbar, K.R.A., Johnson, A.J., Messicka, J.B., Weng, H.Y. and Pogranichniy, R.M. (2016). A cross sectional study evaluating the prevalence of Coxiella burnetii, potential risk factors for infection, and agreement between diagnostic methods in goats in Indiana. Preventive Veterinary Medicine, 126: 131-137.
- Berri, M., Souriau, A., Crosby, M. and Rodolakis, A. (2002). Shedding of Coxiellaburnetti in ewes in two pregnancies following an episode of Coxiella abortion in a sheep flock. Veterinary Microbiology, 85(1): 55-60.
- Cabassi, C., Taddei, S., Donofrio, G. and Ghadini, F. (2006). Association between Coxiellaburnetiseropositivity and abortion in dairy cattle of Northern Italy. New Microbiology, 29: 211-214.

Archive of SID
www.SID.ir

- Cekani, M., Papa, A., Kota, M., Velo, E. and Berxholi, K. (2008). Report of a serological study of Coxiella burnetii in domestic animals in Albania. The Veterinary Journal, 175(2): 276-278.
- Esmaeili, S., BagheriAmiri, F. and Mostafavi, E. (2014). Seroprevalence survey of Q fever among sheep in Northwestern Iran. Vector Borne and Zoonotic Disease, 14(3): 189-192.
- Ezatkhah, M., Alimolaei, M., Khalili, M. and Sharifi, H. (2014). Seroepidemiological study of Q fever in small ruminants from southeast Iran. Journal of Infection and Public Health, 8(2): 170-176.
- Gefenaite, G., Munster, J.M., van Houdt, R. and Hak, E. (2011). Effectiveness of the Q fever vaccine: A meta-analysis. Vaccine, 29(3): 395-398.
- Kennerman, E., Rousset, E., Golcu, E. and Dufour, P. (2010). Seroprevalence of Q fever (coxiellosis) in sheep from the southern Marmara region, Turkey. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 33(1): 37-45.
- Keyvani Rad, N., Azizzadeh, M., Taghavi Razavizadeh, A.R., Mehrzad, J. and Rashtibaf, M. (2013). Seroepidemiology of coxiellosis (Q fever) in sheep and goat populations in the northeast of Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 15(1): 1-6.
- Khalili, M. and Sakhaee, E. (2009). An update on a serologic survey of Q fever in domestic animals in Iran. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 80(6): 1031-1032.
- Khalili, M., Shahabi-Nejad, N. and Golchin, M. (2010). Q fever serology in febrile patients in southeast Iran. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 104(9): 623-624.
- Kiliç, A., Kalender, H., Koç, O., Kılınç, Ü., Irehan, B. and Berri, M. (2015). Molecular investigation of Coxiella burnetii infections in aborted sheep in eastern Turkey. Iranian Journal of Veterinary Research, 17(1): 41-44.
- Lambton, S.L., Smith, R.P., Gillard, K., Horigan, M., Farren, C. and Pritchard, G.C. (2016). Serological survey using ELISA to determine the prevalence of Coxiella burnetii infection (Q fever) in sheep and goats in Great Britain. Cambridge Journals Epidemiology and Infection, 144(1): 19-24.
- Masala, G., Porcu, R., Sanna, G., Chessa, G., Cillara, G., Chisu, V., *et al*. (2004). Occurrence, distribution, and role in abortion of Coxiella burnetii in sheep and goats in Sardinia, Italy. Veterinary Microbiology, 99(3-4): 301-305.
- Maurin, M. and Raoult, D. (1999). Q fever. Clinical Microbiology Reviews, 12(4): 518-553.
- Nakoun´e, E., Debaere, O., Koumanda-Kotogne, F., Selekon, B., Samory, F. and Talarmin, A. (2004). Serological surveillance of brucellosis and Q fever in cattle in the Central African Republic. Acta Tropica, 92(2): 147-151.
- Norlander, L. (2000). Q fever epidemiology and pathogenesis. Microbes and Infection, 2(4): 417-424.
- Pape, M., Bouzalas, E.G., Koptopoulos, G.S., Mandraveli, K., Aroanitidou-Vagiona, M., *et al*. (2009). The serological prevalence of Coxiella burnetii antibodies in sheep and goats in Northern Greece. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Disease, 15: 146-147.
- Perugini, A.G., Capuano, F., Esposito, A., Marianelli, C., Martucciello, A., Iovane, G., *et al*. (2009). Detection of Coxiella burnetii in buffaloes aborted fetuses by IS111 DNA amplification: A preliminary report. Research in Veterinary Science, 87(2): 189-191.
- Pourmahdi Borujeni, M., Gharibi, D., Gooranneiad, S. and Zamiri, S. (2013). Seroprevalence of coxiellosis in Ahvaz sheep. Iranian Veterinary Journal, 9(1): 11-18. [In Persian]
- Pourmahdi Borujeni, M., Gharibi, D., Haji Hajikoulaei, M.R., Ghorbanpour, M. and Alipour, Z. (2016). Serological survey and detection Coxiella burnetii in dairy cattle of Ahvaze by ELISA and PCR. Journal of Veterinary Microbiology, 12(1): 37-46. [In Persian]
- Rahman, A., Alam, M., Islam, A., Fazlul Haque Bhuiyan, A.K. and Anisur Rahman, A.K.M. (2016). Serological and molecular evidence of Q fever in domestic ruminants in Bangladesh. Veterinary Medicine International, Article ID 9098416.

Archive of SID

www.SID.ir

- Rezaei, A., Gharibi, D., PourmahdiBorujeni, M. and Mosallanejad, B. (2015). Seroprevalence of Lyme disease and Q fever in referred dogs to veterinary hospital of Ahvaz. Iranian Veterinary Journal. 11(4): 34-41. [In Persian]
- Rodolakis, A. (2006). Q fever, state of art: epidemiology, diagnosis and prophylaxis. Small Ruminant Research, 62(1-2): 121-124.
- Sakhaee, E. and Khalili, M. (2010). The first serologic study of Q fever in sheep in Iran. Tropical Animal Health and Production, 42(7): 1561-1564.
- Taurel, A.F., Guatteo, R., Joly, A., Seegers, H. and Beaudeau, F. (2011). Seroprevalence of Q fever in naturally infected dairy cattle herds. Preventive Veterinary Medicine, 101(1-2): 51-57.
- Tejedor-Junco, M.T., González, M., Corbera, J.A. and Gutiérrez, C. (2015). Presence of Coxiella burnetii (Q fever) in goats on the Canary Islands: Current status. Small Ruminant Research, 134: 62-64.
- Vaidya, V.M., Malik, S.V.S., Bhilegaonkar, K.N., Rathore, R.S., Kaur, S. and Barbuddhe, S.B. (2008). Prevalence of Q fever in domestic animals with reproductive disorders. Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases, 33(4): 307-321.
- Van den Brom, R., Moll, L., van Schaik, G. and Vellema, P. (2012). Demography of Q fever seroprevalence in sheep and goats in the Netherlands in 2008. Preventive Veterinary Medicine, 109(1-2): 76-82.
- Woldehiwet, Z. (2004). Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. Research in Veterinary Science, 77(2): 93-100.
- Yin, M.Y., Qin, S.Y., Tan, Q.D., Feng, S.Y., Liu, G.X., Zhou, D.H., *et al*. (2015). First report of Coxiella burnetii seroprevalence in Tibetan sheep in China. Vector-Borne and Zoonotic Diseases, 15(7): 419-422.
- Yin, M.Y., Tan, Q.D., Qin, S.Y., Hu, L.Y., Liu, G.H., Zhou, D.H., *et al*. (2015). First serologic survey of Q fever in free-range yaks in China. Iranian Journal of Veterinary Research, 16(2): 210-212.

Archive of SID

www.SID.ir

Serological survey of Q fever in goats and buffaloes in Ahvaz region using the ELISA method

Karami Mirazizi, H.[1], Pourmahdi Borujeni, M.[2*], Garibi, D.[3], Haji Hajikolaei, M.R.[4]

1- Graduate of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
2- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
3. Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
4- Professor, Department of Clinical Science, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.
*Corresponding author's email: pourmahdim@scu.ac.ir
(Received: 2016/9/11 Accepted: 2017/5/10)

Archive of SID

Abstract

Coxiellosis or Q fever of domestic animals which is caused by *Coxiella burnetii* is usually asymptomatic and subclinical; although it has also been associated with abortion and infertility. Domestic ruminants are the primary and important reservoirs of *Coxiella burnetii*, which is spread by the milk, urine, feces and vaginal mucous of infected animals. Inhalation of bacteria present in the environment is the main route of animal and human infection. The aim of this study was to survey seroprevalence of Q-fever in goats and buffaloes in Ahvaz Region. In this study, blood samples were collected randomly from 137 goats and 135 buffaloes in Ahvaz. The collected sera were tested for *Coxiella burnetii* by ELISA. Seroprevalence of Q fever was 34.31 in goats (95% Cl: 26.41–42.21) and 0% in buffaloes. Chi square test showed that prevalence in buffalo and goat is statistically different (p<0.001). Infection in goat had a significant association with age. Logistic regression showed that the odds ratio between the age based on year and infection is 1.57 (95% CI: 1.19-2.08) (p<0.001), with each single increase in age the odds of infection will increase by 57%. Also, 10.8% of fluctuations of infection were justified by age. The odds of infection in female goats was 1.58 times males (95% CI: 1.03–6.47) (p<0.05) and 4.5% of fluctuations of infection were justified by sex. The present study showed that the prevalence of Q-fever in goat population is considerable. Therefore *Coxiella burnetii* must be considered by veterinarians and health authorities as one of the most important zoonotic agents for prevention and control measures.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Q fever, Serology, Goat, Buffalo, Ahvaz.

www.SID.ir