



مطالعه شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر گاو به روش واکنش زنجیره ای پلی مرز آشپانه ای در استان اصفهان

دکتر ابراهیم رحیمی^{۱*}، زینب ترکی باغبادرانی^۲، دکتر عباس دوستی^۳

^۱دانشیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی، آکارسناس، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه تغذیه
^۲استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی

چکیده

سابقه و هدف: تب کیو یک بیماری مشترک انسان و دام با انتشار جهانی است که توسط یک ریکتزایی اجباری داخل سلولی به نام کوکسیلا بورنتی ایجاد می شود. این مطالعه با هدف تعیین میزان شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر خام جمع آوری شده از گاوهای شیری در اصفهان انجام شد.

مواد و روش ها: این مطالعه به صورت مقطعی-توصیفی از دی ماه ۱۳۸۷ تا دی ماه ۱۳۸۸ انجام شد. در مجموع ۲۴۷ نمونه شیر از ۹۰ مجتمع پرورش گاو شیری جمع آوری و از نظر حضور کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیره ای پلی مرز آشپانه ای (Nested PCR) مورد آزمایش قرار گرفت.

یافته ها: در این مطالعه در مجموع ۸ نمونه از ۲۴۷ نمونه (۳/۲ درصد) از نظر کوکسیلا بورنتی مثبت بود. شیوع کوکسیلا بورنتی در فصول مختلف سال متفاوت بود. بالاترین میزان وقوع (۸/۶ درصد) در فصل زمستان مشاهده شد در حالی که تمام ۶۵ نمونه شیر مربوط به فصل تابستان منفی بودند.

نتیجه گیری: نتایج این پژوهش نشان داد که شیر گاو می تواند یکی از مخازن بالقوه کوکسیلا بورنتی در ایران باشد.

واژگان کلیدی: کوکسیلا بورنتی، شیر گاو، واکنش زنجیره ای پلی مرز آشپانه ای

پذیرش برای چاپ: اسفند ۸۸

دریافت مقاله: دی ۸۸

سلولی اجباری به نام کوکسیلا بورنتی (*Coxiella burnetii*)

می باشد که طیف وسیعی از حیوانات از قبیل گاو، گوسفند، بز، سگ، گربه، پریمات های غیرانسانی، خزندگان، دوزیستان، پرندهگان (اهلی و وحشی)، ماهی و تعداد زیادی از کنه ها را می تواند آلوده کند (۱ و ۲). از بین حیوانات اهلی، گاوهای شیری، گوسفند و بز بزرگترین مخازن این باکتری هستند. رحم و غدد پستانی حیوان اولین محل جایگزینی عامل بیماری در فاز مزمن آلودگی با کوکسیلا بورنتی

مقدمه

تب کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که در نواحی جغرافیایی و آب و هوای متفاوت گزارش شده است. عامل بیماری یک میکروارگانیزم ریکتزیا مانند و دارای زندگی داخل

* آدرس برای مکاتبه: شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت مواد غذایی.
تلفن: ۰۹۱۳۲۷۸۳۷، شماره: ۰۶۲۵۹۸۰۹-۰۳۱۱،
پست الکترونیک: ebrahimrahimi55@yahoo.com

اطلاعات محدودی وجود دارد. با توجه به اهمیت موضوع، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع فصلی کوکسیلا بورنتی در شیر گاو به روش واکنش زنجیره ای پلی مرز آشیانه ای (nested PCR) در استان اصفهان انجام گرفت.

مواد و روش ها

در این پژوهش به صورت مقطعی -توصیفی ۲۴۷ نمونه شیر گاو از ۹۰ مجتمع پرورش گاو در استان اصفهان به طور تصادفی از دی ماه ۱۳۸۷ تا دی ماه ۱۳۸۸ جمع آوری شد. تعداد نمونه های اخذ شده در فصول زمستان، بهار، تابستان و پاییز به ترتیب ۵۸، ۴۸، ۶۵ و ۷۶ نمونه بود. نمونه ها از دام های به ظاهر سالم اخذ و در ظروف سترون در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند (۳).

به منظور ردیابی کوکسیلا بورنتی در نمونه ها از روش Berri و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد (۱۴). پس از سانتریفوژ کردن نمونه ها و جداسازی چربی، از رسوب حاصل برای استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (سیناژن، ایران) استفاده شد. کیفیت و مقدار DNA استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری با محاسبه نسبت طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۵). DNA استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. برای بررسی حضور DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه ها، از واکنش زنجیره ای پلی مرز آشیانه ای (Nested PCR) استفاده شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *comI* که کدکننده پروتئین غشای خارجی کوکسیلا بورنتی می باشد، براساس مطالعه Zhang و همکاران (۱۹۹۸) و Fretz و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب (جدول ۱) و مورد استفاده قرار گرفت (۱۶ و ۱۷).

برای انجام PCR مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کاررفته در واکنش، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. ۵ میکرولیتر DNA الگو (۱۰ نانوگرم DNA الگو در هر واکنش)، ۰/۵ میلی مولار $MgCl_2$ ، ۱ میکرومول از هر پرایمر (پرایمرهای OMP1-OMP2)، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلی مرز Taq و ۲۰۰ میکرومولار dNTPs Mix. سپس ۲ تا ۳ قطره روغن معدنی سترون برای جلوگیری از آلودگی و تبخیر، به

هستند. حیوانات آلوده این میکروارگانیسم را از طریق ترشحات دفعی، ترشحات رحمی و قطعاتی از جفت در طی زایمان، به میزان زیاد به محیط دفع می کنند. یکی دیگر از مهم ترین راه های دفع کوکسیلا بورنتی به محیط شیر دام های آلوده می باشد (۵-۳). از این رو مصرف شیر غیر پاستوریزه آلوده منبع انتقال عفونت به انسان است (۵ و ۶). این ارگانیسم در محیط به فرم شبه-اسپور تبدیل شده و به علت مقاومت به خشکی، حرارت و بسیاری از ضد عفونی کننده ها، قادر است برای مدت طولانی در محیط زنده بماند (۷). بیماری در حیوانات فاقد علائم بالینی واضح است. اما با این وجود سقط جنین، تولد نوزاد نارس و ناباروری از مهم ترین عوارض بیماری است که در بین حیوانات اهلی گزارش شده است (۸ و ۹). علائم بیماری در انسان بسیار متغییر است و حدود ۶۰ درصد از افراد با تیتسر سری مثبت علائم بالینی مشخصی از خود بروز نمی دهند (۶). تب کیو حاد به صورت بیماری آنفلوآنزا، پنومونی یا هپاتیت غیر واضح بروز می کند. این بیماری وقوع ناگهانی دارد و در اصل یک بیماری شغلی محسوب می شود و معمولاً در پرورش دهندگان حیوانات، شیردوشان، کارگران کشتارگاه ها، کارکنان واحدهای تولید شیر، شاغلین کارخانه های چرم، روغن و کود و یا افراد شاغل در آزمایشگاه مشاهده می شود (۶). کوکسیلا بورنتی تهاجم زیادی دارد و ممکن است حتی یک سلول آن از طریق تنفس انسان را بیمار کند (۱۰). راه اصلی انتقال عامل بیماری به انسان از طریق استنشاق ریز قطره ها و سایر راه ها شامل راه گوارشی، گزش کنه و یا موارد تصادفی در آزمایشگاه می باشد. با این وجود اهمیت آلودگی شیر گاوهای شیروار یک موضوع قابل بحث است که از مهم ترین راه های انتقال بیماری به انسان از راه گوارشی محسوب می شود (۶، ۱۱، ۱۲ و ۱۳). مطالعات اولیه بر روی شیوع کوکسیلا بورنتی در گاوهای شیری بیشتر بر اساس آزمون های سرولوژیک بوده و به ندرت در تعداد کمی از مطالعات برای جستجوی این میکروارگانیسم بیماری زا از واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) استفاده شده است (۱۳). اگر چه مطالعات محدودی در ایران میزان شیوع آلودگی شیر گاو به این پاتوژن را حدود ۶ درصد نشان می دهد اما به طور کلی در مورد میزان شیوع آلودگی در بین جوامع انسانی و دامی و راه های اصلی انتقال آلودگی به این میکروارگانیسم در ایران

جدول ۱: پرایمرهای مورد استفاده در جستجوی کوکسیلا بورتنی در شیر خام گاو به روش واکنش زنجیره ای پلی مرز آشیانه ای.

منبع	اندازه قطعه (bp)	توالی	پرایمر
۲۲	۵۰۱	5'-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-3'	OMP1
		5'-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G-3'	OMP2
	۴۳۸	5'-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC-3'	OMP3
		5'-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG-3'	OMP4

*هدف تکثیر و مشاهده محصول PCR مرحله دوم است که ۴۳۸ جفت باز می باشد

قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP1 - OMP2 و OMP3 - OMP4 به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز می باشد. در این مطالعه، کنترل مثبت DNA ژنومی کوکسیلا بورتنی استاندارد (Genekam Biotechnology AG, Duisburg, Germany Serial Number: 3154; منفی شامل مخلوط کلیه واکنشگرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته و به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله ها اضافه شد.

سیس داده های حاصل به کمک نسخه شانزدهم نرم افزار SPSS (SPSS Inc., Chicago, IL) و آزمون مربع کای، مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. مرز معنی داری در $p < 0.05$ قرار داده شد.

یافته ها

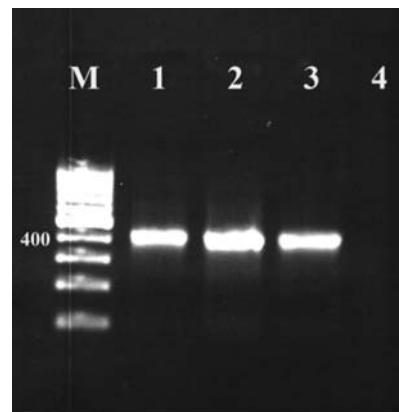
در مجموع از ۲۴۷ نمونه شیر مورد بررسی ۸ نمونه (۳/۲ درصد) از نظر وجود کوکسیلا بورتنی مثبت بود (نمودار ۱).



نمودار ۱: فراوانی شیوع کوکسیلا بورتنی جدا شده از شیر گاو در فصول مختلف سال.

مخلوط واکنش PCR اضافه گردید. لوله ها در داخل دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) قرار داده شدند و برنامه دمایی به صورت ۹۴ درجه سانتی گراد ۴ دقیقه، ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی گراد، ۵۶ درجه سانتی گراد و ۷۲ درجه سانتی گراد هر یک به مدت ۱ دقیقه و در ادامه مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه تنظیم گردید.

برای PCR مرحله دوم از پرایمرهای OMP3 - OMP4 استفاده شد. در این مرحله همه شرایط از قبیل مخلوط واکنش گرهای 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 می باشد که به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق و به مخلوط واکنش اضافه شد. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله دوم در ژل آگارز ۱٪/۱/۵ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با نور ماورای بنفش (UV) مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت. طول



تصویر ۱: نتایج Nested-PCR نمونه ها در ژل آگاروز ۱/۵ درصد؛ ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱ و ۲: نمونه های مثبت کوکسیلا بورتنی، ستون ۳: کنترل مثبت و ستون ۴: کنترل منفی.

بیشترین میزان وقوع آلودگی در فصل زمستان مشاهده شد. از ۵۸ نمونه شیر گاو اخذ شده در فصل زمستان ۵ نمونه (۸/۶ درصد)، از ۴۸ نمونه شیر اخذ شده در فصل بهار ۲ نمونه (۴/۲ درصد) و از ۷۶ نمونه شیر اخذ شده در فصل پاییز ۱ نمونه (۱/۳ درصد) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند. در حالی که هیچ نمونه مثبتی در بین ۶۵ نمونه شیرهای اخذ شده در فصل تابستان مشاهده نشد. با استفاده از آزمون مربع کای مشخص شد که بین میزان شیوع آلودگی در فصول مختلف سال اختلاف آماری معنی داری وجود دارد ($p < 0.05$). نمودار ۱ وضعیت شیوع کوکسیلا بورنتی را در نمونه شیرهای جمع آوری شده از استان اصفهان در چهار فصل سال نشان می دهد.

بیشترین نتایج مطالعه رحیمی و همکاران (۲۰۰۹) در استان چهارمحال و بختیاری نیز نشان داد که ۸ نمونه از ۱۳ نمونه شیر خام آلوده به کوکسیلا بورنتی مربوط به اواخر فصل زمستان و اول بهار بوده است. اگر چه در این مطالعه اختلاف آماری معنی داری بین میزان شیوع آلودگی در فصول مختلف سال گزارش نشده است (۱۸). هم چنین مطالعه لیتکاین (Lyytikainen) و همکاران (۱۹۹۸) در آلمان بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به کوکسیلا بورنتی را در طول فصول زمستان و بهار نشان می دهد (۲۳). به طور مشابهی Fretz و همکاران (۲۰۰۷) میزان شیوع آلودگی شیر گاو در فصل زمستان را به مراتب بیشتر از سایر فصول گزارش نمودند (۱۶).

شاید دلیل شیوع بیشتر کوکسیلا بورنتی در نمونه های اخذ شده از فصل زمستان، دفع این میکروارگانیسم بیماری زا از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شیر در زمان زایمان به محیط باشد. چون که معمولا تعداد زایمان در زمستان بیشتر از سایر فصول است. نتایج این مطالعه نشان داد که گاوهای به ظاهر سالم می توانند در انتقال کوکسیلا بورنتی نقش داشته باشند. با این وجود برای بررسی دقیق آلودگی ضرورت مطالعات تکمیلی تر با تعداد نمونه بیشتر وجود دارد. از طرفی به منظور پیشگیری از انتشار عفونت در بین جمعیت های حیوانی و انسانی، کنترل کوکسیلوزیس

اگرچه تب کیو به طور اولیه یک بیماری شغلی محسوب می شود، اما مصرف شیر و فرآورده های آلوده آن نیز می تواند نقش مهمی در اپیدمیولوژی بیماری در انسان داشته باشد (۱۱ و ۱۳). مطالعه ای در آمریکا نشان می دهد تست سرولوژیک کوکسیلا بورنتی در افرادی که از شیر خام استفاده نموده اند ۱۰/۷ درصد مثبت می باشد. اما این میزان در افراد استفاده کننده از لبنیات پاستوریزه، ۰/۷ درصد گزارش گردید (۱۳). هم چنین نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلواکی و اسپانیا گزارش شده است (۱۳ و ۱۸). شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه شیرهای مورد پژوهش در این مطالعه با سایر پژوهش های انجام شده در استان چهارمحال و بختیاری، مشابه است. رحیمی و همکاران در سال ۲۰۰۹ میزان شیوع آلودگی شیر گاو را در استان چهارمحال و بختیاری (۲۱۰ = n)، ۶/۲ درصد گزارش نمودند (۱۸). هم چنین کارگر و همکاران در سال ۲۰۱۲ با ارزیابی ۱۰۰ نمونه تهیه شده از شیر گاو در شهرستان جهرم، میزان شیوع آلودگی را ۱۱ درصد گزارش نمودند (۱۹). از طرفی مطالعه مشابهی از سوئد در سال ۲۰۰۷ نشان داد که از ۳۵۹ نمونه شیر گاو جمع آوری شد از کارخانجات پنیر سازی، ۱۷ نمونه (۴/۷ درصد) آلودگی به کوکسیلا بورنتی دارند (۱۶) که هر سه مورد با نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر هم خوانی دارد. کیم (Kim) و همکاران (۲۰۰۵) در آمریکا میزان

بحث

۵۹

www.SID.ir

درصدی نمونه های شیر به این پاتوژن نشان می دهد که گاو می تواند از مخازن کوکسیلا بورنتی در منطقه مورد مطالعه باشد.

تشکر و قدردانی

نگارندگان این مقاله مراتب سپاس خود را از آقایان دکتر سید مرتضی موسویان، دکتر ایمان آزادخواه، دکتر سعید کاظم زاده، دکتر علی رسولی و دکتر علیار پرویش دامپزشکان بخش خصوصی استان اصفهان به دلیل همکاری در جمع آوری نمونه ها اعلام می دارند.

در گله های گاو از اهمیت بالایی برخوردار است. هم چنین از آن جایی که کوکسیلا بورنتی در حرارت ۶۳ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه یا ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ ثانیه از بین می رود (۱۳ و ۲۴)، مصرف شیر پاستوریزه می تواند یکی از راه های موثر پیشگیری از آلودگی این باکتری در مصرف کنندگان باشد.

نتیجه گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که میزان حضور کوکسیلا بورنتی در نمونه های شیر با فصل سال ارتباط دارد. هم چنین آلودگی ۳/۲

References

- Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev. 1999; 12: 518-553.
- Parker NR, Barralet JH, Bell AM. Q fever. Lancet. 2006; 367: 679-688.
- Kim SG, Kim EH, Lafferty CJ, Dubovi E. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. Emerg Infect Dis. 2005; 11: 619-621.
- Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res. 2006; 37: 827-833.
- Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. Is Q fever an emerging or re-emerging zoonoses? Vet Res. 2005; 36: 327-350.
- Cutler SJ, Bouzid M, Cutler RR, Q fever. J Infec. 2007; 54: 313-318.
- Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet Res. 2006; 37: 827-833.
- To H, Htwe KK, Kako N, Kim HJ, Yamaguchi T, Fukushi H, Hieai K. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in dairy cattle with reproductive disorders. J Vet Med Sci. 1998; 60: 859-861.
- Bildfell RJ, Thomson GW, Haines DM, McEwen BJ, Smart N. *Coxiella burnetii* infection is associated with placentitis in cases of bovine abortion. J Vet Diagn Invest. 2000; 12: 419-425.
- Dupuis G, Petite J, Peter O, Vouilloz M. An important outbreak of human Q fever in a Swiss alpine valley. Int J Epidemiol. 1987; 16: 282-287.
- Hirai A, Kaneko S, Nakama A, Ishizaki N, Odagiri M, Kai A, Sadamasu K, Shinkai T, Yano K, Morozumi S. Investigation of *Coxiella burnetii* contamination in commercial milk and PCR method for the detection of *C. burnetii* in egg. Shokhin Eiseigaku Zasshi. 2005; 46: 86-92.
- Raoult D. Q fever: still a query after all these years. J Med Microbiol. 1996; 44: 77-78.
- Cerf O, Condron R. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiol Infect. 2006; 134: 946-951.
- Berri M, Arricau-Bouvery N, Rodolakis A. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples, in: Sachse K., Frey J. (Eds.), Methods in Molecular Biology, Humana Press Inc., Totowa, NJ. 2003.
- Marrie T, Raoult D. Q fever-a review and issues for the next century. Int J Antimicrob Agents. 1997; 8: 145-161.
- 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.
- 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. J Clin Microbiol. 1998; 36: 77-80.
- 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 Public Health. 2009; 57, 38-41.

19. Kargar M, Rashidi A, Doosti A, Ghorbani-Dalini S, Najafi A. Prevalence of *Coxiella burnetii* in bovine bulk milk samples in southern Iran. *Com Clin Pathol*. 2012; doi:10.1007/s00580-012-1406-9.
20. Muskens J, van Engelen E, van Maanen C, Bartels C, Lam TJ. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Vet Rec*. 2011; 168:79.
21. Guatteo R, Beaudeau F, Joly A, Seegers H. Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. *Zoonoses Public Health*. 2007; 54: 191-194.
22. Rodolakis A, Berri M, Hécharard C, Caudron C, Souriau A, Bodier CC, Blanchard B, Camuset P, Devillechaise P, Natorp JC, Vadet JP, Arricau-Bouvery N. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *J Dairy Sci*. 2007; 90: 5352-5360.
23. Lyytikäinen O, Ziese T, Schwartlander B, Matzdorff P, Kuhnhen C, Jager C, Peterson L. An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. *Eur J Epidemiol*. 1998; 14: 193-199.
24. Guatteo R, Seegers H, Taurel AF, Joly A, Beaudeau F. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: a critical review. *Vet Microbiol*. 2011; 149:1-16.



An assay to determine the Seasonal Prevalence of *Coxiella burnetii* in Cow Milk Using Nested PCR

Ebrahim Rahimi¹, Zeinab Torki Baghbadorani², Abbas Doosti³

¹Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

²BSc. of Nutrition, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

³Assistant Professor, Biotechnology Research Center, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran.

Abstract

Background and Objective: Q-fever is a zoonosis caused by an intracellular rickettsia, *Coxiella burnetii*, with worldwide distribution. This study was conducted to determine the seasonal prevalence rate of *Coxiella burnetii* in raw milk samples obtained from different Cowpens in Isfahan.

Materials and Methods: This cross-sectional study was performed from January 2009 to January 2010. Totally, 247 milk samples from 90 Cowpens were collected and were tested for *C. burnetii* using nested PCR assay.

Results: In this survey, 8 out of 247 (3.2%) cow milk samples were positive for *C. burnetii*. The prevalence of *C. burnetii* varied during different seasons. The highest incidence of *C. burnetii* observed in winter (8.5%). All 65 milk samples collected in summer were negative for *C. burnetii*.

Conclusion: These results prove that cow milk could be considered as an important reservoir for *C. burnetii* infection in Iran.

Keywords: *Coxiella burnetii*, cow milk, PCR