جستجوی ژنومی کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفند به روش Nested-PCR در شهرستان خرم آباد، ایران

سمیرا لرستانی [١]، امین جایدری [٢*]، شهرام ملکی [٣]، پیمان خادمی [٤]

١- دانشجوی کارشناسی ارشد باکتر شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان خرم آباد، ایران.
٢- استادیار، گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
٣- استادیار، گروه دام بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم آباد، ایران
٤- دانش آموخته کارشناسی ارشد باکتری شناسی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد.
(تاریخ دریافت: ٩٣/٧/٢٦ تاریخ پذیرش: ٩٤/٢/٢)

چکیده

تب کیو یک بیماری مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی است که توسط یک ریکتزیای اجباری داخل سلولی به نام *کوکسیلا بورنتی* (*Coxiella burnetii*) ایجاد می‌شود. گاو، گوسفند و بز عمده‌ترین مخازن این بیماری بوده و ارگانیسم را از طریق شیر دفع می‌کنند. این مطالعه با هدف بررسی میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام گوسفند در شهرستان خرم آباد انجام شد. این مطالعه به صورت مقطعی- توصیفی از بهار ١٣٩٢ تا زمستان ١٣٩٢ انجام شد. در مجموعه ٧٢ نمونه شیر گوسفند به صورت تصادفی جمع‌آوری شد و از نظر حضور *کوکسیلا بورنتی* به روش (Nested- PCR) مورد آزمایش قرار گرفتند. در این مطالعه، از مجموع ٧٢ نمونه شیر گوسفند، ١٥ نمونه ٢٠/٨٣ درصد از نظر وجود *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در فصول مختلف متفاوت بود. با توجه به جدول آمار توصیفی در مورد کل داده‌های گردآوری شده در فصول و مناطق مختلف مشاهده شد که بیش از ٧٩/٦٢ درصد نمونه‌ها منفی و حدود ٢٠/٣٨ درصد آن‌ها مثبت بود. بررسی حاضر نشان داد که در این منطقه *کوکسیلا بورنتی* وجود دارد و شیر گوسفند می‌تواند یکی از منابع بالقوه تب کیو در انسان باشد.

کلید واژگان: تب کیو، کوکسیلا بورنتی، شیر گوسفند، خرم آباد، Nested-PCR

* مسئول مکاتبات: jaidariam@gmail.com

Archive of SID
www.SID.ir

۱- 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[۱]. *کوکسیلا بورنتی* دارای دو فاز آنتی ژنی غالب ناشی از تغییرات آنتی‌ژنی در لیپوپلی ساکارید خود می‌باشد. مخازن تب کیو بسیار گسترده و شامل پستانداران اهلی و وحشی، پرندگان، ماهیان، خزندگان و بندپایان می‌باشد [۲]. بیماری در حیوانات بیشتر به شکل تحت بالینی است، اما امکان بروز نشانه بالینی به ویژه اختلالات تولید مثلی نظیر سقط، مرده‌زایی و ناباروری وجود دارد [۳،٤،٥]. دامنه میزان سقط در میش و بز متغیر، و سقط اغلب در انتهای دوره آبستنی و بدون علایم بالینی خاصی اتفاق می‌افتد. به دنبال عفونت، *کوکسیلا بورنتی* در رحم و غدد پستانی پستانداران ماده متمرکز می‌شود و طی زایمان طبیعی یا غیر طبیعی 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 می‌باشد، اما ممکن است در اثر مصرف شیر خام یا محصولات لبنی آلوده هم اتفاق افتد [٥]. در شکل مزمن آندوکاردیت دیده می‌شود که ممکن است سال‌ها بعد از عفونت حاد بروز نماید. فاکتورهای میزبانی به ویژه وضعیت سیستم ایمنی، اهمیت زیادی در بروز علایم کلینیکی و عواقب بیماری تب کیو دارد. تشخیص تب کیو از طریق رو ش‌های مستقیم و غیرمستقیم انجام می‌شود .روش‌های مستقیم نظیر مشاهده عامل بیماری از طریق کشت و جداسازی و یا واکنش زنجیرهای پلی مراز در آزمایشگاه‌های خاص که وسایل وتجهیزات خاص دارند انجام می‌شود .معمولاً تحقیق برروی بیماری تب کیو بر پایه آزمایشات سرولوژی است. روش‌های سرولوژی شامل میکروآگلوتیناسیون، ثبوت کمپلمان، رادیوایمونواسی، ایمنوفلورسانس، الیزا و ایمونوبلاتینگ می‌باشد [۱،٥]. با توجه به شرایط آب و هوایی و شکل پرورش حیوانات در کشور، تب کیو می‌تواند یکی از مهمترین بیماری-های مشترک بین انسان و حیوانات محسوب شود، اما اطلاعات اندکی درباره مخازن، ناقلین و شیوع بیماری و همچنین نقش آن روی سلامتی حیوانات در کشور و به ویژه استان لرستان وجود دارد. در سال‌های اخیر شیوع تب کیو در انسان، حیوانات اهلی و کنه‌ها در برخی نقاط کشور (کرمان) مورد بررسی قرار گرفته است[٦،٧،٨،٩،١٠]. هدف از انجام مطالعه حاضر بررسی شیوع بیماری تب کیو در بز و تعیین عوامل تأثیرگذار بر آن بود تا با مشخص شدن یوع بیماری، انجام برنامه کنترل بیماری در جمعیت دامی در دستور کار سیاست گذاران بهداشتی قرار گیرد که این امر نیز به نوبه خود با کنترل بیماری در جمعیت انسانی همراه خواهد شد.

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مناطق مورد مطالعه

این مطالعه به صورت مقطعی – توصیفی از بهار ۱۳۹۲ تا زمستان ۱۳۹۲ انجام شد. در این پژوهش در مجموع ۷۲ نمونه شیر گوسفند از ۱۸ گله گوسفند در مناطق مختلف شهرستان خرم آباد در دو فصل زمستان و بهار مورد مطالعه قرار گرفت. تعداد ۳٦ نمونه در فصل بهار و ۳٦ نمونه در فصل زمستان اخذ شد. جهت نمونه‌گیری ابتدا سرپستانک‌های هر دام با الکل ۷۰٪ ضدعفونی، و پس از سانتریفوژ کردن نمونه‌ها و حذف چربی از لایه‌ی رویی شیر، جهت استخراج DNA از رسوب حاصل با استفاده از کیت (Gene All cell SV mini 250 p) محصول شرکت تکاپوزیست طبق دستورالعمل سازنده استفاده شدDNA . استخراج شده تا زمان انجام آزمون PCR، در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد، نگه‌داری گردید.

شکل۱ محل جمع آوری شدن نمونه‌های شیر (خرم‌آباد) جهت مشخص شدن وضعیت شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مناطق ذکر شده.

۲-۲- مواد و روش جستجوی ژنومی

به منظور ردیابی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گوسفند، از روشBerri و همکاران استفاده شد [۱۱]. برای بررسی حضور DNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌ها، روش

Archive of SID

www.SID.ir

آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌ٔمراز آشیانه‌ای(Nested-PCR)) به کار رفت .توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن *com1* که کد کننده پروتئین غشای خارجی *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد، بر اساس روش مطالعه‌یZhang و همکاران (١٩٩٨) و Fretz و همکاران (٢٠٠٧) بود [١٢,١٣]. برای انجام PCRدر مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش، در حجم نهایی ٢٥ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. مسترمیکس آماده ساخت کشور دانمارک (Ampliqon CO., Denmark) به حجم ٩ میکرولیتر، DNA نمونه مشکوک به حجم ٢ میکرولیتر و ١ میکرومول از هر پرایمر (پرایمرهای OMP1-OMP2) با غلظت ١٠ پیکومول و مابقی حجم را آب مقطر اضافه و سپس همه مواد به داخل یک میکروتیوب ٠/٢ میلی لیتری منتقل و پس از مخلوط کردن در دستگاه ترموسایکلر (Applied Bioscience, USA) قرار داده شد. برنامه دمایی به صورت ٩٤ درجه سانتی‌گراد ٣ دقیقه، ٣٠ چرخه دمایی به ترتیب ٩٤ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٥ ثانیه، ٥٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٥ ثانیه و ٧٢ درجه سانتی‌گراد به مدت ٤٥ ثانیه بود و در ادامه مرحله نهایی ٧٢ درجه سانتی‌گراد به مدت ٥ دقیقه تنظیم گردید. جهت جلوگیری از نمونه‌های مثبت کاذب تمام مراحل ساخت مسترمیکس در زیر هود بیولوژیک انجام شد.

برای PCR مرحله دوم از پرایمرهای OMP3 و OMP4 استفاده شد. در این مرحله همه شرایط از قبیل مخلوط واکنش‌گرهایPCR و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول اجرا شد. محصولات PCR حاصل از واکنش مرحله دوم در ژل آگارز ١٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با دستگاه تصویربرداری از ژل(UVitec, UK)) مشاهده و بررسی شد. طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCRمربوط به جفت پرایمرهای OMP3-OMP4,OMP1-OMP2 به ترتیب ٥٠١ و ٤٣٨ جفت باز است (جدول ١ را ببینید) .در این بررسی، کنترل مثبتDNA ژنومی *کوکسیلا بورنتی* استاندارد از کیت تشخیصی تجاری (K047, Genekam Biotechnology AG, Germany) و کنترل منفی شامل مخلوط کلیه واکنش‌ٔگرهای PCR بدون حضور DNA در نظر گرفته شد که در آن به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه گردید . داده‌های حاصل به کمک نرم‌افزارSPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. تحلیل آماری با استفاده از روش خی‌دو انجام شد.

جدول١ پرایمرهای مورد استفاده در روش nested-PCR برای جستجوی ژنومی *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گوسفند [١٦].

اندازه قطعه (bp)	توالی پرایمر ٣´→٥´	پرایمر	
٥٠١	AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG	OMP1	مرحله اول
	TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG	OMP2	
٤٣٨	GAAGCGCAACAAGAAGAACAC	OMP3	مرحله دوم
	TTGGAAGTTATCACGCAGTTG	OMP4	

٣- نتایج

نتایج بررسی الکتروفورز محصولات مرحله دوم PCR در ژل آگاروز، نشان داد، از مجموع ٧٢ نمونه شیر گوسفند، ١٥ نمونه از نظر وجود توالی اختصاصی ژن *com1* در *کوکسیلا بورنتی*، مثبت بودند. در نمونه‌ٔهای مثبت باند ٤٣٨ جفت بازی مشاهده شد (تصویر ١). با توجه به جدول آمار توصیفی در مورد کل داده‌های گردآوری شده در فصل بهار و زمستان و مناطق مختلف مشاهده شد که بیش از ٢٠/٨٣ درصد نمونه‌ها مثبت و حدود ٧٩/١٦ درصد آن‌ها منفی اند (شکل ٢ را ببینید).

شکل ٢. نتایج Nested-PCR نمونه‌ها در ژل ١ درصد. ستون N: کنترل منفی، ستون P: کنترل مثبت، ستون‌های ٢,٣,٤: نمونه‌های مثبت، ستون شماره ١ نمونه منفی و ستون M: مارکر ١٠٠ جفت بازی. باند مورد نظر در این مرحله ٤٣٨ می‌باشد.

www.SID.ir

میزان آلودگی در بین نمونه‌های مثبت در فصل بهار ۵ عدد (۱۳/۸۸٪) و در بین نمونه‌های مثبت در فصل زمستان ۱۰ عـدد (۲۷/۷۷٪) بود. با توجه به نتایج به دست آمده میزان آلودگی در فصل زمستان بیشتر از میزان آلودگی در فصل بهار بود. (جداول ۲و۳ را ببینید).

جدول ۲ درصد مثبت و منفی گله‌ها در فصل بهار

فصل بهار	گله	نمونه‌ها	مثبت	درصد	منفی	درصد
شمال	۱	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
	۲	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
جنوب	۳	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
	٤	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
شرق	۵	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
	٦	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
غرب	۷	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
	۸	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
	۹	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
کل آلودگی	۵	۳٦	۵	٪۱۳/۸۸	۳۱	٪۸٦/۱۱

جدول ۳ درصد مثبت و منفی گله‌ها در فصل زمستان

فصل زمستان	گله	نمونه‌ها	مثبت	درصد	منفی	درصد
شمال	۱	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
	۲	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
جنوب	۳	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
	٤	٤	۰	۰	٤	٪۱۰۰
شرق	۵	٤	۲	٪۵۰	۲	٪۵۰
	٦	٤	۲	٪۵۰	۲	٪۵۰
غرب	۷	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
	۸	٤	۲	٪۵۰	۲	٪۵۰
	۹	٤	۱	٪۲۵	۳	٪۷۵
کل آلودگی	۷	۳٦	۱۰	٪۲۷/۷۷	۲٦	٪۷۲/۲۲

٤- بحث

از آنجایی که باکتری *کوکسیلا بورنتی* یک باکتری بیماری‌زای خطرناک است و دارای ویژگی‌های منحصر به فرد است. تنها آزمایشگاه‌های دارای ایمنی سطح ۳ و افراد با تجربه اجازه کار با نمونه‌های آلوده به این ارگانیسم و کشت و جداسازی آن را از نمونه‌های کلینیکی دارند. همچنین به این دلیل که این باکتری یک انگل درون سلولی اجباری است، کشت آن نیاز به یک میزبان زنده دارد که بسیار وقت گیر، پر هزینه و پرخطر است [۱٤]. از سویی علیرغم مناسب بودن تست‌های سرولوژیک جهت تشخیص، با توجه به اینکه تولید آنتی‌بادی علیه این باکتری، چندین هفته طول می‌کشد، این موضوع، تشخیص نوع حاد عامل تب کیو را با استفاده از این تست‌ها با محدودیت مواجه می‌کند. همه این عوامل دست به دست هم

Archive of SID

www.SID.ir

داده و ضرورت تشخیص سریع این عامل باکتریایی با استفاده از تکنیک‌های بیولوژی مولکولی استاندارد را با اهمیت‌تر می‌کند. لذا راه اندازی تکنیک‌های تشخیصی استاندارد بر پایه روش‌های مولکولی در کشور، توصیه می‌شود. مطالعه‌ای در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک *کوکسیلا بورنتی* در افرادی که از شیر خام استفاده نموده‌اند ١٠/٧ درصد مثبت می‌باشد. اما این میزان در افراد استفاده کننده از لبنیات پاستوریزه ٠/٧ درصد گزارش گردید [١٥]. همچنین نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلواکی و اسپانیا گزارش شده است [١٥,١٦]. شیوع *کوکسیلا بورنتی* در نمونه شیرهای مورد پژوهش در این مطالعه با سایر پژوهش‌های انجام شده در استان لرستان مشابه است [١٧]. همچنین کارگر و همکاران در سال ٢٠١٢ با ارزیابی ١٠٠ نمونه تهیه شده از گاو در شهرستان جهرم، میزان شیوع آلودگی را ١١ درصد گزارش نمودند (٧). (Kim) و همکاران (٢٠٠٥) در آمریکا میزان شیوع *کوکسیلا بورنتی* را در شیر مخازن جمع‌آوری گله‌های گاو شیری بسیار بالاتر و بیش از ٩٠ درصد گزارش نمودند [١٨]. همچنین موشینس(Muskens) و همکاران در سال ٢٠١١ گزارش نمودند که ٧٨/٦ درصد نمونه‌های شیر گاو مورد مطالعه حاوی آنتی‌بادی بر علیه *کوکسیلا بورنتی* می‌باشد. محققین یاد شده نشان دادند که میزان شیوع این باکتری در نمونه‌های بررسی شده به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز ٥٦/٦ درصد است [١٩]. مهمترین دلایل اختلاف بین شیوع *کوکسیلا بورنتی* در مناطق مختلف دنیا را می‌توان به گوناگونی موقعیت جغرافیایی، چگونگی و نوع روش بررسی، نوع و تعداد نمونه‌های اخذ شده، فصل سال و نمونه‌گیری در بین گله‌های آلوده و غیر آلوده نسبت داد (٥,١٧,١٨,٢٠,٢١). همچنین مطالعه‌ی لیتکاین (Lyytikainen) و همکاران (١٩٩٨) در آلمان بالاترین میزان شیوع آلودگی گوسفندان به *کوکسیلا بورنتی* را در طول فصل زمستان و بهار نشان می‌دهد [٢٢]. به طور مشابهی Fretz و همکاران (٢٠٠٧) میزان شیوع آلودگی شیر گاو در فصل زمستان و بهار را به مراتب بیشتر از سایر فصل‌های پاییز و تابستان گزارش نمودند [١٢]. شاید دلیل شیوع بیشتر *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های اخذ شده از فصل بهار، دفع این میکروارگانیسم بیماری‌زا از ترشحات رحمی، مدفوع، ادرار و شیر در زمان رایمان به محیط باشد.

٥- پیشنهادات

توصیه‌های موکد در مورد مصرف شیر و لبنیات برای پیشگیری از ابتلا به این نوع بیماری‌ها اشاره داشتند که مهمترین آنها عبارتند از: ١- هرگز ازلبنیات غیر پاستوریزه استفاده نکنید. ٢- از خریدن شیر و لبنیات خام که از سلامت آنها مطمئن نیستید اجتناب کنید. ٣- از خرید فله‌ای لبنیات از دوره گردها و اماکنی که تحت نظارت دامپزشکی یا بهداشت نیستند اجتناب کنید.٤- درخریدن محصولات لبنی سعی کنید حتی المقدور انواعی را که در بسته بندی بهداشتی و مورد اعتماد هستند مد نظر قرار دهید. ٥- به محض بروز تب ،سردرد، درد عظلانی و دردهای شکمی بخصوص در زنان باردار و افرادی که دارای بیماری زمینه‌ای هستند حتماً به نزدیک‌ترین واحد درمانی مراجعه نمائید.

٦- تشکر و قدردانی

این پژوهش، بر گرفته از پایان‌نامه دانشجویی می‌باشد. مجریان طرح بر خود واجب می‌دانند که از مساعدت و همکاری دانشگاه دانشگاه لرستان و عزیزانی که در مراحل نمونه‌گیری ما یاری کردند تقدیر و تشکر به عمل آوردند.

٧- منابع

[1] Angelakis, E., and Raoult, D. 2010. Q fever. *Veterinary Microbiology*, 140: 297-309.

[2] Woldehiwet, Z., 2004. Q fever (coxiellosis): epidemiology and pathogenesis. *Research in Veterinary Science*, 77: 93-100.

[3] Cabassi, C., Taddei, S., Donofrio, G., and Ghadini, F. 2006. Association between *Coxiella burnetii* seropositivity and abortion in dairy cattle of Northen Italy. *New microbiology*, 29: 211-214.

[4] Guatto, R., Seegers, H., Taurel, A., Joly, A., and Beaudeau, F. 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in domestic ruminants: A critical review, *Veterinary Microbiology*,149: 1-16.

[5] Maurin, M., and Raoult, D., 1999. Q fever. *Journal Clinical Microbiology Revoiution*, 12(4): 518-533.

[6] Khalili, M., and Sakhaee, E. 2009. An update on a Serologic Survey of Q Fever in Domestic Animals in Iran. *The American*

www.SID.ir

application of the precautionary principle? *Epidemiology and Infection*, 134: 946-951.

[16] Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E., Sharifian, B. 2009. Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. *Zoonoses Public Health*, 57: 38-41[in Persian].

[17] Khademi, P., Mahzounieh, MR., Ebrahimi Kahrizsangi, A., and Shdravan, E. 2014. Genomic detection of *Coxiella burnetii* in goat milk samples in animal farms Khorramabad Township, Iran. *Journal Pejouhandeh*,19(3):166−172[in Persian].

[18] Kim, SG., Kim, EH., Lafferty, CJ., and Dubovi, E. 2005. *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. *Emerging Infectious Diseases*, 11: 619-621.

[19] Muskens, J., van Engelen, E., van Maanen, C., Bartels, C.,and Lam, TJ. 2011. Prevalence of *Coxiella burnetii* infection in Dutch dairy herds based on testing bulk tank milk and individual samples by PCR and ELISA. *Journal Veterinary Record*, 10: 168-179.

[20] Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E., and Sharifian, B. 2009. Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine, and caprine herds in Iran. *Zoonoses Public Health*, 57: 38-41[in Persian].

[21] Rodolakis, A., Berri, M., Hechard, C., Caudron, C., Souriau, A., and Bodier, CC. 2007. Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. *Journal Dairy Science*. 90: 5352-5360.

[22] Lyytikainen, O., Ziese, T., Schwartlander, B., Matzdorff, P., Kuhnhen, and C., Jager, C.,1998.An outbreak of sheep-associated Q fever in a rural community in Germany. *European Journal of Epidemiology*, 14: 193-199.

Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 80: 1031-32 [in Persian].

[7]Khalili, M., Sakhaee, E., Aflatoonian, M.R. and Shahabi-Nejad, N. 2011. Herd-prevalence of *Coxiella burnetii* (Q fever) antibodies in dairy cattle farms based on bulk tank milk analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 4: 58-60 [in Persian].

[8] Khalili, M., Shahabi-Nejad, N., Golchin, M. 2010. Q fever serology in febrile patients in southeast Iran. *Transactionsof the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 104: 623-624 [in Persian].

[9] Nourollahi Fard, S.R., and Khalili, 2011. M. PCR-Detection of *Coxiella burnetii* in Ticks Collected from sheep and Goats in Southeast Iran, *Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 5(1): 1-6 [in Persian].

[10] Sakhaee, E., and Khalili, M. 2010. The first serologic study of Q fever in sheep in Iran. *Trop Animal Health Production*, 42: 1561-1564 [in Persian].

[11] Berri, M., Arricau, N., and Rodolakis A. 2003. PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. *Methods in Molecular Biology*, 12:153–61.

[12] Fretz R, Schaeren W, Tanner M, and Baumgartner A. 2007. Screening of various foodstuffs for occurrence of *Coxiella burnetii* in Switzerland. *International Journal of Food Microbiology*, 116:414–8.

[13] Zhang, G.Q., Nguyen. S.V., Ogawa, M., Hotta, A., and Yamaguchi, T. 1998. Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. *Journal of Clinical Microbiology*, 36:77–80.

[14] 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: 337-345.

[15] Cerf, O., and Condron, R. 2006. *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early

Archive of SID

www.SID.ir

Genomic detection of *Coxiella burnetii* in sheep milk samples by Nested-PCR method in Khorramabad, Iran.

Lorestani, S. [1], Jaydari, A. [2*], Maleki, Sh. [3], Khademi, P. [4]

1. Master of Science student in bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan university,Khorramabad, Iran.
2. Assistant Professor, Department of microbiology,Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan university, Khorramabad, Iran.
3. Master of Science in bacteriology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord university, Shahrekord, Iran.
4. Assistant Professor, Department of large animal medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan university, Khorramabad, Iran.

(Received: 93/7/26 Accepted: 94/2/2)

Q fever is a worldwide disease with is common between humans and livestock. This disease is created by an obligate intracellular Rickettsia called *Coxiella burnetii*. This study was conducted to identify the amount of *C.burnetii* prevalence in the raw Sheep milk in Khorramabad and its surrounding towns. In this cross-sectional study (from Spring 2013 to Winter 2013), 72 Sheep milk samples were collected Randomly. These samples were tested for the presence of *C. burnetii* by the Nested PCR method.

In this survey, number 15 out of 72 (20.83%) sheep milk samples were positive for *C. burnetii*. The prevalence of *C. burnetii* varied during different seasons

The analysis of the collected data in different seasons and areas revealed that, more than 79/16 percent of the samples were negative and about 20.82 percent were positive in terms of *C.burnet*ii presence. It can be concluded from this study the season and the region of sample collecting affects the amount of bacteria exerted, and that Sheep milk can be one of the potential sources of *C. burnetii* in Iran.

Keywords: Q fever, *Coxiella burnetii*, sheep milk, Khoramabad, Nested-PCR

Archive of SID

* Corresponding Author E-Mail Address: jaidariam@gmail.com

www.SID.ir