نشریه دامپزشکی
(پژوهش و سازندگی)
شماره ۱۰۳، تابستان ۱۳۹۳

# شناسایی کوکسیلا بورنتی در نمونه مخازن شیر گوسفندان در استان‌های فارس، خوزستان، کرمان، قم و یزد به روش واکنش زنجیرهای پلیمراز

• ابراهیم رحیمی (نویسنده مسئول)
گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد، شهرکرد- شهرکرد- ایران.
تاریخ دریافت: خردادماه ۱۳۹۰ تاریخ پذیرش: تیرماه ۱۳۹۲
ebrahimrahimi۵۵@yahoo.com

## چکیده

زمینه و هدف: تب کیو یک بیماری مشترک است که بوسیله یک ارگانیسم داخل سلولی اجباری بنام کوکسیلا بورنتی ایجاد می‌شود. شیر خام یا فرآورده‌های لبنی تولید شده بوسیله شیر غیرپاستوریزه ممکن است حامل کوکسیلا بورنتی عفونت‌زا باشد. هدف از این مطالعه تعیین میزان شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه شیر مخازن گله‌های گوسفند در استان‌های فارس، خوزستان، کرمان، قم و یزد بود.

مواد و روش‌ها: در مطالعه حاضر ۱۸۳ نمونه شیر از ۵۹ گله گوسفند برای بررسی حضور کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیرهای پلی‌مراز آشیانه‌ای مورد آزمایش قرار گرفت. حیواناتی که نمونه شیرشان برای این مطالعه جمع‌آوری شد از نظر بالینی سالم بودند.

یافته‌ها: در مجموع، ۳ نمونه از ۱۸۳ (۱/۶ درصد) نمونه شیر گوسفند بررسی شده از نظر کوکسیلا بورنتی مثبت بود؛ نمونه‌های مثبت مربوط به ۲ گله از ۲۱ (۹/۵ درصد) گله گوسفند مطالعه شده در استان یزد بود. همه نمونه شیرهای جمع‌آوری شده در فارس، خوزستان، قم و کرمان از نظر کوکسیلا بورنتی منفی بودند.

نتیجه‌گیری: اگرچه شیوع بالایی از آلودگی در مطالعه حاضر مشاهده نشد، نتایج بیانگر آن است که گوسفندان به ظاهر سالم می‌توانند منابع مهم عفونت کوکسیلا بورنتی باشند. علاوه بر آن، نتایج مطالعه حاضر اهمیت پایش دوره‌ای میزان شیوع کوکسیلا بورنتی را در نمونه شیر گله‌های گوسفند در استان‌های مختلف ایران را نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: کوکسیلا بورنتی، شیر، گوسفند، واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز آشیانه‌ای، ایران

Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi) No 103 pp: 2-7

**Detection of *Coxiella burnetii* in ovine bulk milk samples in Fars, Khuzestan, Ghom and Kerman provinces using PCR assay**

***By: Rahimi, E.,*** *Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch Shahrekord, Iran.*

Email: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Received: May 2011 Accepted: June 2012

Background: Q fever is a zoonosis disease caused by an obligate intracellular organism *Coxiella burnetii*. Raw milk or dairy products that are produced by unpasteurized milk may contain virulent *Coxiella burnetii*. The objective of this study was to determine the prevalence rate of *C. burnetii* in bulk milk samples from dairy sheep herds in Fars, Ghom, Kerman, Khuzestan and Yazd provinces, Iran.

Materials and Methods: In the present study, 183 bulk milk samples from 59 dairy sheep herds were tested for *C. burnetii* using a nested PCR assay. The animals which their milk samples collected for this study were clinically healthy.

Results: In total, 3 of 183 (1.6%) ovine bulk milk samples were positive; the positive samples originated from 2 of 21 (9.5%) sheep breeding farms in Yazd. All bulk milk samples collected in Fars, Khuzestan, Ghom and Kerman were negative.

Conclusions: Although no extensive prevalence study was undertaken, the results of this study indicate that clinically healthy dairy sheep in are important sources of *C. burnetii* infection. In conclusion, the results of the present study showed the importance of periodically monitoring the prevalence rate of *C. burnetii* in milk samples from dairy sheep herds in different provinces, Iran.

**Keywords:** *Coxiella burneti*, PCR, Milk, Sheep, Iran

## مقدمه

کوکسیلا بورنتی یک میکروارگانیسم داخلی سلولی اجباری و عامل بیماری تب کیو در انسان‌ها و حیوانات می‌باشد (Thomas et al. ,۱۹۹۵). این بیماری انتشار جهانی دارد و در اغلب کشورهای جهان به استثناء نیوزلند و قطب شمال گزارش شده است (Maurin and Raoult ;۱۹۹۹ Kirkan, Kaya, Tekbiyik and Parin ۲۰۰۸). کنه‌ها مخازن اولیه کوکسیلا بورنتی و مسئول انتشار عفونت در بین حیوانات وحشی و اهلی می‌باشند (Norlander ۲۰۰۰) وگاو، گوسفند و بز به عنوان منابع اصلی و ناقلان بدون علامت این پاتوژن به انسان‌ها گزارش شده‌اند (Kim, Kim, Lafferty and Dubovi, ۲۰۰۵). حیوانات آلوده این ارگانسیم را از راه مدفوع، ادرار، بزاق، ترشحات رحمی و شیر به محیط محیط دفع می‌کنند (Guatteo, Beaudeau, Joly ;۲۰۰۵ ,Kim, Kim, Lafferty and Dubovi and Seegers ;۲۰۰۶ ,Maurin and, Raoult ,۱۹۹۹). متداول‌ترین راه آلودگی انسان‌ها از طریق استنشاق آئروسل‌های آلوده یا خوردن شیر و فرآورده‌های لبنی غیرپاستوریزه می‌باشد (Berri, Arricau-Bouvery and Rodolakis ,۲۰۰۳ ;Masala et al ۲۰۰۴). بیماری در هر دو جامعه روستایی و شهری اتفاق می‌افتد، لیکن بخش وسیعی از موارد در بین افراد شاغل در صنعت دامپروری از جمله پرورش‌دهندگان حیوانات، شیردوشان، کارگران کشتارگاه، کارکنان صنایع لبنی و شاغلین کارخانه‌های چرم، روغن و صنایع نقل و انتقال حیوانات اتفاق می‌افتد (Kirkan et al ،۲۰۰۸).

تب کیو در انسان بیماری بدون علامت و خود محدود شونده است و معمولاً نیازی به درمان ندارد (Arricau-Bouvery and Rodolakis، ۲۰۰۵). با این وجود تب کیو بیماری مزمنی است که به درمان طولانی مدت با آنتی‌بیوتیک‌ها نیاز دارد زیرا عفونت می‌تواند به اندوکاردیت (Mazyad and Hafez، ۲۰۰۷) یا هپاتیت گرانولوماتوز تبدیل گردد (Weir ,Bannister, Chambres, De Cock and Mistry ۱۹۸۴). علاوه بر آن عفونت با کوکسیلا بورنتی می‌تواند منجر به سقط جنین و مرده‌زایی در خانم‌های آبستن گردد (Maurin and Raoult، ۱۹۹۹)، همچنین به عنوان یک عامل سرطانزا در گروه B عوامل سرطانزا طبقه‌بندی شده است (Kirkan, et al ۲۰۰۸).

معمولی‌ترین راه تشخیص تب کیو تعیین آنتی‌بادی‌های اختصاصی بوسیله آزمون‌های ایمونولوژی می باشد، جدا سازی کوکسیلا بورنتی خطرناک، مشکل و بسیار زمان‌بر است (Arricau-Bouvery and Rodolakis، ۲۰۰۵; Kazar، ۲۰۰۷) از طرفی تشخیص سریع کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های بالینی برای کنترل تب کیو بسیار مهم است ( Zhang، ۱۹۹۸). در این بین PCR به عنوان یک روش مطمئن و سریع جهت تعیین و تشخیص کوکسیلا بورنتی از طرف بسیاری از محققین پیشنهاد شده است (Guatteo, Beaudeau, Joly and Seegers ,۲۰۰۷; Öngör ,Cetinkaya, Karahan, Nuri Acik, Bulut and Muz، ۲۰۰۴). با توجه به دوز عفونی پایین این پاتوژن و عدم وجود اطلاعات ثبت شده مدون در

خصوص وضعیت آلودگی مواد غذایی از جمله شیر به کوکسیلا بورنتی در ایران مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفند در گوسفندان پرورش یافته در پنج استان ایران به روش واکنش زنجیرهای پلیمراز آشیانه ای مورد ارزیابی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در این مطالعه، در مجموع ۱۸۳ نمونه شیر از ۵۹گله گوسفند در پنج استان فارس، قم، خوزستان، کرمان و یزد به طور تصادفی ساده از دی ماه ۱۳۸۷ الی اردیبهشت ۱۳۸۹ جمع‌آوری شد. نمونه‌ها در ظروف سترون در مجاورت یخ خشک به آزمایشگاه منتقل شدند.

جهت ردیابی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها از روش بری و همکاران (۲۰۰۳) استفاده شد (Berri et al، ۲۰۰۳). به این منظور پس از سانتریفوژکردن نمونه‌ها و جداسازی چربی، از رسوب بدست آمده برای استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج DNA (Cinna Gen, Iran) استفاده شد. کیفیت و کمیت DNAهای استخراج شده به روش اسپکتروفتومتری با طول موج ۲۶۰ مورد ارزیابی قرار گرفت (Sambrook and Russell, ۲۰۰۱).

DNAهای استخراج شده تا زمان انجام PCR در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. به منظور بررسی حضور DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها، از روش واکنش زنجیره‌ای پلی مراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) بهره گرفته شد. توالی آغازگرهای مورد استفاده برای تکثیر ژن com۱ که کد کننده پروتئین غشای خارجی کوکسیلا بورنتی می‌باشد، براساس مطالعه ژانگ و همکاران (۱۹۹۸) و فرتز و همکاران (۲۰۰۷) انتخاب و مورد استفاده قرار گرفت (Fretz, Schaeren, Tanner and Baumgartner, ۲۰۰۷; Zhang, ۱۹۹۸). سکانس پرایمرهای استفاده شده در جدول ۱ آورده شده است.

برای انجام PCR مرحله اول، غلظت بهینه مواد به کار رفته در واکنش PCR، در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت ۵ میکرولیتر DNA الگو، ۰/۲۵ MgCl میکرومولار، ۱ میکرومولار از هر پرایمر (پرایمرهای OMP۱-OMP۲)، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز Taq و ۲۰۰ میکرو مولار dNTP Mix تعیین گردید. سپس ۲ تا ۳ قطره روغن معدنی سترون برای جلوگیری از آلودگی و تبخیر، به مخلوط واکنش PCR اضافه گردید. پس از افزودن اجزای PCR در حجم‌های فوق، لوله‌ها در داخل دستگاه ترموسایکلر (Mastercycler Gradient, Eppendorf, Germany) قرار داده شدند و برنامه دمایی به صورت زیر تنظیم گردید: ۹۴ درجه سانتی گراد ۴ دقیقه، سپس ۳۰ چرخه دمایی به ترتیب ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و یک مرحله نهایی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه تنظیم گردید.

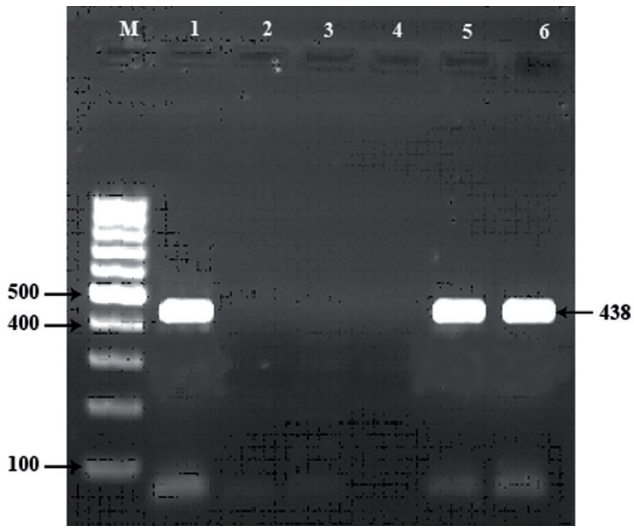
برای PCR مرحله دوم از پرایمرهای OMP۳-OMP۴ استفاده شد. در این مرحله همه شرایط اعم از مخلوط واکنش‌گرهای PCR و برنامه زمانی و دمایی مطابق مرحله اول می‌باشد با این تفاوت که DNA الگو در این مرحله،۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول می‌باشد که به نسبت ۱ به

جدول ۱. پرایمرهای مورد استفاده جهت جستجوی کوکسیلا بورنتی در شیر خام گوسفند به روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای

| پرایمر | توالی | اندازه قطعه (bp) | منبع |
|---|---|---|---|
| OMP۱ | ۵'-AGT AGA AGC ATC CCA AGC ATT G-۳' | ۵۰۱ | ۱۷ |
| OMP۲ | ۵'-TGC CTG CTA GCT GTA ACG ATT G-۳' | | |
| OMP۳ | ۵'-GAA GCG CAA CAA GAA GAA CAC-۳' | ۴۳۸ | |
| OMP۴ | ۵'-TTG GAA GTT ATC ACG CAG TTG-۳' | | |

جدول ۲. شیوع کوکسیلا بورنتی در نمونه شیر گله‌های گوسفندان پرورش یافته در استان‌های فارس، قم، کرمان، خوزستان و یزد از دی ماه ۱۳۸۷ الی اردیبهشت ۱۳۸۹

| شهر | تعداد گله‌های بررسی شده | دفعات اخذ نمونه از هر گله | تعداد نمونه‌های شیر اخذ شده | تعداد (درصد) نمونه‌های آلوده به کوکسیلا بورنتی |
|---|---|---|---|---|
| فارس | ۸ | ۲-۵ | ۳۰ | - |
| قم | ۹ | ۲-۳ | ۲۰ | - |
| کرمان | ۸ | ۲-۴ | ۳۴ | - |
| خوزستان | ۱۳ | ۲-۵ | ۴۱ | - |
| یزد | ۲۱ | ۲-۴ | ۵۸ | ۳ (۵/۲) |
| مجموع | ۵۹ | ۲-۵ | ۱۸۳ | ۳ (۱/۶) |




تصویر۱. نتایج Nested-PCR نمونه‌ها در ژل آگاروز ۱/۵ درصد؛ ستون M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ستون ۱: کنترول مثبت (Serial No.: ۳۱۵۴; Genekam Biotechnology AG, Duisburg, Germany)، ستون ۲: کنترول منفی (آب مقطر استریل). ستون ۳ و ۴: نمونه‌های منفی کوکسیلا بورنتی، ستون ۵ و ۶: نمونه‌های مثبت کوکسیلا بورنتی.

۲۰۰ رقیق می‌گردد و به مخلوط واکنش اضافه می‌شود.

محصولات PCR بدست آمده از واکنش مرحله دوم، در ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز گردید و با نور ماورای بنفش (UV) مشاهده و مورد بررسی قرار گرفت. طول قطعات DNA تکثیر یافته به روش PCR مربوط به جفت پرایمرهای OMP۱- OMP۲ و OMP۳-OMP۴ به ترتیب ۵۰۱ و ۴۳۸ جفت باز می‌باشد. همچنین در این مطالعه، کنترل منفی و مثبت برای صحت واکنش PCR به کار برده شد به طوری که کنترل مثبت شامل DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استاندارد (Serial Number: ۳۱۵۴; Genekam Biotechnology AG, Duisburg, Germany) بوده و لوله کنترل منفی در واقع مخلوط کلیه واکنشگرهای PCR بدون حضور DNA می‌باشد که به جای DNA، آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد.

داده‌های بدست آمده به کمک نرم‌افزار SPSS/۱۶ با استفاده از آزمون مربع کای با حدود ۹۵ درصد اطمینان مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

## نتایج

در این مطالعه، در مجموع ۱۸۳ نمونه شیر از ۵۹ گله گوسفند در پنج استان شیراز، قم، خوزستان، کرمان و یزد با هدف ردیابی کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیرهای پلیمراز آشیانه‌ای مورد آزمایش قرار گرفتند (جدول ۲). در مجموع تنها ۳ نمونه (۱/۶ درصد) از۱۸۳ نمونه شیر آزمایش شده آلوده به کوکسیلا بورنتی بود (تصویر ۱).

نمونه‌های آلوده مربوط به ۲ گله از ۲۱ گله گوسفند ارزیابی شده از استان یزد بود، هر سه نمونه مثبت مربوط به نمونه شیرهای جمع‌آوری شده در فصل پاییز ۱۳۸۸ بود. کوکسیلا بورنتی در هیچ یک از ۱۲۵ نمونه شیرهای مطالعه شده از استان‌های شیراز، قم، خوزستان و کرمان ردیابی نشد.

## شهر تعداد گله‌های بررسی شده

دفعات اخذ نمونه از هر گله تعداد نمونه‌های شیر اخذ شده تعداد (درصد) نمونه‌های آلوده به کوکسیلا بورنتی

## بحث

امروزه به دلیل رونق صنعت گاو شیری در کشور، کمتر به خصوصیات و کیفیت شیمیایی و میکروبی شیر گوسفند پرداخته می شود. اما آمارها حاکی از آن است که گوسفندا ن ایران حدود ۱۰ د رصد کل شیر گوسفند ی جهان را تولید می نمایند و از این حیث بعد از کشور فرانسه و ترکیه در رده سوم جهانی هستند (Tavatori, Mohammadian, Nikonam, Moustashari and Monem, ۲۰۰۸). همچنین از لحاظ بهروری تولید شیر گوسفند، بعد از کشورهای یونان و ایتالیا در رد ه سوم جهانی قرار دارند (Haenlein, ۲۰۰۱). این در حالی است که ۱۰ کشور حاشیه دریای مدیترانه که دارای بهترین نژادهای گوسفند و گاو شیری دنیا و نیز صادرکنندگان عمده محصولات شیری گوسفند می باشند، حدود ۶۶ درصد کل شیر گوسفندی دنیا را تولید می‌نمایند (Haenlein, ۲۰۰۱). بدین ترتیب پرداختن به تولید و کیفیت شیر گوسفند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

با توجه به اینکه بیماری تب کیو به طور اولیه یک بیماری شغلی محسوب می‌شود، ولی مصرف شیر و فرآورده‌های آلوده آن نیز می‌تواند نقش مهمی در اپیدمیولوژی بیماری در انسان داشته باشد (Cerf and Condron, ۲۰۰۶; Hirai et al., ۲۰۰۵ ). مطالعه‌ی در آمریکا نشان می‌دهد تست سرولوژیک نسبت به کوکسیلا بورنتی در ۱۰/۷ درصد از افرادی که از شیر خام مصرف کرده‌اند مثبت بوده است در حالی که این میزان در افرادی که به این شکل در معرض آلودگی نبوده‌اند ۰/۷ درصد گزارش شده است (Cerf and Condron, ۲۰۰۶). نتایج مشابهی در انگلستان، بلغارستان، اسلوواکی و اسپانیا گزارش شده است (Cerf and Condron, ۲۰۰۶).

نتایج مطالعه حاضر بیانگر آلودگی پایین شیر گوسفند به کوکسیلا بورنتی است و این در حالی است که به ترتیب در چهار استان بررسی شده آلودگی مشاهده نشد این نتایج با گزارشات مشابه همخوانی معنی‌داری را نشان می‌دهد گزاش جدیدی در نیوزلند از فرتز و همکاران (۲۰۰۷) حاکی از آن است که تمام ۸۱ نمونه شیر گوسفند و ۳۹ نمونه شیر بز ازمایش شده جهت کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیرهای پلیمراز آشیانه‌ای منفی بوده است (Fretz et al. ۲۰۰۷). در مطالعه مشابهی در ترکیه ۳/۵ درصد از ۴۰۰ نمونه شیر اخذ شده از ۲۳ گله گوسفند از نظر کوکسیلا بورنتی به روش واکنش زنجیرهای پلیمراز مثبت گزارش شده است (Öngör et al. ۲۰۰۴). در همین راستا رحیمی و همکاران (۲۰۰۹) طی مطالعه‌ی در استان چهارمحال و بختیاری نشان دادند هیچ یک از ۱۱۰ نمونه شیر گوسفند جمع‌آوری شده از ۳۱ گله گوسفند به کوکسیلا بورنتی آلوده نبوده است (Rahimi, Doosti, Ameri and Kabiri, ۲۰۱۰). اگر چه نتایج این مطالعات نشان می دهد میزان آلودگی شیر گوسفند به کوکسیلا بورنتی بسیار پایین است، برخی از مطالعات سرولوژیک حاکی از آن است که میزان شیوع کوکسیلوزیس در بین گوسفندان بالاست (Cekani, Papa, Kota, Velo and Berxholi, ۲۰۰۸; Cetinkaya et al. ۲۰۰۰, McQuiston and Childs, ۲۰۰۲; Reinthaler, Mascher, Sixl and Arbessen, ۱۹۸۸;

Masala et al. ۲۰۰۴). سکانی و همکاران (۲۰۰۸) از آلبانی (Cekani et al, ۲۰۰۸)، سیتینکاوا و همکاران (۲۰۰۰) از ترکیه (Cetinkaya et al. ۲۰۰۰)، مک کویستون و چیلدس (۲۰۰۲) از انگلستان (McQuiston and Childs، ۲۰۰۲)، ماسالا و همکاران (۲۰۰۴) از ایتالیا (Masala et al. ۲۰۰۴) و رینتالر و همکاران (۱۹۸۸) (Reinthaler et al، ۱۹۸۸) از سودان میزان شیوع کوکسیلوزیس را در بین گوسفندان به ترتیب ۹/۸، ۱۰/۵، ۱۶/۵، ۳۸ و ۶۲ درصد گزارش نموده اند.

انتشار کوکسیلا بورنتی از حیوانات آلوده به محیط ممکن است از راه‌های مختلفی از جمله ترشحات واژن، مدفوع، ادرار، جفت یا مایعات جنینی و شیر صورت پذیرد و این راه در حیوانات مختلف متفاوت است (Guatteo et al. ۲۰۰۶). مطالعات نشان می‌دهد گوسفندان آلوده به کوکسیلا بورنتی عمدتاً این عامل را از مدفوع و ترشحات واژن به محیط دفع می‌کنند و لذا آلودگی شیر این حیوانات به کوکسیلا بورنتی بیشتر ناشی از آلودگی مدفوعی شیر در زمان دوشش است و با رعایت اصول بهداشت در زمان دوشش می توان میزان آلودگی را به حداقل رساند. این پاتوژن در گاو عمدتاً از شیر و در بز از ترشحات رحمی، مدفوع و شیر به محیط دفع می‌گردد (Rodolakis et al، ۲۰۰۷).

اگر چه نتایج این مطالعه بیانگر آن است که آلودگی شیر دام‌ها در مطالعه حاضر ناچیز و شیر گوسفندان نقش قابل توجهی در انتشار بیماری در بین انسان‌ها ندارد اما نشان می‌دهد شیر دام‌های به ظاهر سالم هم می‌تواند به این پاتوژن آلوده باشد. بنابراین جهت پیشگیری از انتشار عفونت در بین جمعیت‌های حیوانی و انسانی کنترل کوکسیلوزیس در گله‌های گوسفند از اهمیت بالایی برخوردار است. علاوه بر آن از آنجایی که کوکسیلا بورنتی در درجه حرارت ۶۳ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه یا ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه از بین می‌رود (Cerf and Condron، ۲۰۰۶)، لذا مصرف شیر پاستوریزه از نظر آلودگی به کوکسیلا بورنتی خطری برای مصرف‌کننده ندارد.

بر پایه اطلاعات ما این مطالعه اولین گزارش در خصوص وضعیت آلودگی شیر گوسفند به کوکسیلا بورنتی در استان‌های فارس، خوزستان، قم، کرمان و یزد می‌باشد. جهت مشخص شدن وضعیت اپیدمیولوژیک تب کیو در ایران بررسی وضعیت عفونت کوکسیلا در میان کشاورزان، دامپروران، کارگران شیردوشی‌ها، دامپزشکان و کارگران کشتارگاه‌ها پیشنهاد می‌شود.

## منابع مورد استفاده


Arricau-Bouvery, N. and Rodolakis, A. (2005). Is Q fever an emerging or re-emerging zoonosis? Veterinary Research, Vol, 36. pp: 327-349.

Berri, M., Arricau-Bouvery, N. and Rodolakis, A. (2003). PCR-based detection of *Coxiella burnetii* from clinical samples. In: Sachse K., Frey J. (Eds.), Methods in molecular biology, Humana Press Inc., Totowa, NJ.

Cekani, M., Papa, A., Kota, M., Velo, E. and Berxholi, K. (2008). Report of a serological study of *Coxiella burnetii* in domestic in Albania. Veterinary Journal, Vol, 175. pp: 276-278.

Cetinkaya, B., Kalender, H., Ertas, H.B., Muz, A., Arsalan, N., Ongor, H., et al. (2000). Seroprevalence of coxiellosis in cattle, sheep and people in the east of Turkey. Veterinary Record, Vol, 149. pp: 131-136.

Cerf, O. and Condron, R. (2006). *Coxiella burnetii* and milk pasteurization: an early application of the precautionary principle? Epidemiology and Infection, Vol, 134. pp: 946-951.

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, Vol, 116. pp: 414-418.

Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A. and Seegers, H. (2007). Assessing the within-herd prevalence of *Coxiella burnetii* milk-shedder cows using a real-time PCR applied to bulk tank milk. Zoonoses and Public Health, Vol, 54. pp:191-194.

Guatteo, R., Beaudeau, F., Joly, A. and Seegers, H. (2006). Shedding routs of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Veterinary Research, Vol, 37. pp: 827-833.

Haenlein G.F.W. (2001). Past, present, and future perspectives of small ruminant dairy research. Journal of Dairy Sciences, Vol, 84. pp: 2097-2115.

Hirai, A., Kaneko, S., Nakama, A., Ishizaki, N., Odagiri, M., Kai, A., et al. (2005). Investigation of *Coxiella burnetii* contamination in commercial milk and PCR method for the detection of C. burnetii in egg. Shokhin Eiseigaku Zasshi, Vol, 46. pp: 86-92.

Kazar, J. (2005). *Coxiella burnetii* Infection. Annals of the New York Academy of Sciences, Vol, 1063. pp: 105-114.

Kim, S.G., Kim, E.H., Lafferty, C.J. and Dubovi, E. (2005). *Coxiella burnetii* in bulk tank milk samples, United States. Emerging Infectious Diseases, Vol, 11. pp: 619-621.

Kirkan, F., Kaya, O., Tekbiyik, S. and Parin, U. (2008). Detection of *Coxiella burnetii* in Cattle by PCR. Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences، Vol, 32, No, 3. pp: 215-220.

Maurin, M. and Raoult, D. (1999). Q fever. Clinical Microbiology Reviews, Vol, 12. pp: 518-553.

McQuiston, J.H., and Childs, J.E. (2002). Q fever in humans and animals in the United States. Vector Borne and Zeoonotic Disease, Vol, 2. pp: 179-191.

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 Sardina, Italy. Veterinary Microbiology, Vol, 99. pp: 301-3015.

Mazyad, S.A. and Hafez, A.O. (2007). Q fever (*Coxiella burnetii*) among man and farm animals in North Sinai، Egypt. Journal of the Egyptian Society of Parasitology, Vol, 37. pp: 135-142.

Norlander, L. (2000). Q fever epidemiology and pathogenesis. Microbes and Infection, Vol, 2. pp: 417-424.

Öngör, H., Cetinkaya, B., Karahan, M., Nuri Acik, M., Bulut, H. and Muz, A. (2004). Detection of *Coxiella burnetii* by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in turkey. Veterinary Record, Vol, 154. pp: 570-572.

Rahimi, E., Doosti, A., Ameri, M., Kabiri, E. and Sharifian, B. (2010). Detection of *Coxiella burnetii* by nested PCR in bulk milk samples from dairy bovine, ovine and caprine herds in Iran. Zoonoses and Public Health, Vol, 57. pp: e38–e41.

Reinthaler, F.F., Mascher, F., Sixl, W. and Arbessen, C.H. (1988). Incidence of Q fever among cattle, sheep and goats in the Upper Nile province in southern Sudan. Veterinary Record, Vol, 122. P: 137.

Rodolakis, A., Berri, M., Héchard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, C.C., et al. (2007). Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine, and ovine herds. Journal of Dairy Science, Vol, 90. pp: 5352-5360.

Sambrook, J. and Russell, D.W. (2001). Molecular Cloning. A Laboratory Manual. 3rd ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, New York.

Tavatori, M.H.H., Mohammadian, M., Nikonam, G.H., Moustashari, M. and Monem, M. (2008). Lactation and milk characteristics of Qazvin Shal sheep. Pajouhesh & Sazandegi, Vol, 77. pp: 34-41.

Thomas, D.R., Treweek, L., Salmon, R.L., Kench, S.M., Coleman, T.J., Meadows, D., et al. (1995). The risk of acquiring Q fever on farms: a seroepidemiological study. Occupational and Environmental Medicine, Vol, 52. pp: 644-647.

Weir, W.R.C., Bannister, B., Chambres, S., De Cock, K. and Mistry, H. (1984). Chronic Q fever associated with granulomatous hepatitis. Journal Infection, Vol, 8. pp: 56-60.

Zhang, G.Q., Nguyen, S.V., To, H., Ogawa, M., Hotta, A., Yamaguchi, T., et al. (1998). Clinical evaluation of a new PCR assay for detection of *Coxiella burnetii* in human serum samples. Journal of Clinical Microbiology, Vol, 36. pp: 77-80.