مجله دانشکده بهداشت و انستیتو تحقیقات بهداشتی
زمستان ۱۴۰۳، دوره ۲۲، شماره چهارم، صفحه ۴۵۰ - ۴۴۱

مقاله پژوهشی

شیوع *کوکسیلا بورنتی* در پنیر سنتی و شیر خام عرضه‌شده شهرستان قم با روش Nested PCR

مریم تاج‌محل[۱]، ابراهیم رحیمی[۲*]

۱- کارشناس ارشد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

۲- استاد، گروه بهداشت مواد غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران

*نویسنده رابط: ebrahimrahimi55@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۹/۸ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۲/۲۱

چکیده

زمینه و هدف: تب کیو بیماری مشترک بین انسان و دام است و توسط *کوکسیلا بورنتی* ایجاد می‌شود که به طور گسترده پراکنده شده است. حیوانات اهلی، حیات وحش و انسان را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این بیماری در دام‌ها بدون علامت است و سقط جنین، مرده‌زایی، ناباروری، ورم پستان و اندومتریت از پیامدهای بالینی آن است. شیر و لبنیات غیر پاستوریزه مهم‌ترین منبع انتقال *کوکسیلا بورنتی* به انسان است. هدف از پژوهش حاضر، بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در پنیر سنتی و شیر خام گاو، گوسفند، بز و گاومیش عرضه‌شده در شهرستان قم به روش Nested PCR است.

روش کار: در این مطالعه ابتدا تعداد ۱۵۰ نمونه شامل ۳۰ نمونه پنیر سنتی و ۱۲۰ نمونه شیر خام گاو، گوسفند، بز و گاومیش از مراکز عرضه در شهرستان قم در تابستان ۱۴۰۳نمونه‌گیری و در شرایط سترون جهت جلوگیری از آلودگی ثانویه به آزمایشگاه انتقال داده شد. نمونه‌ها به روش Nested PCR جهت ردیابی آلودگی آزمایش شدند.

نتایج: از مجموع ۱۲۰ نمونه شیر خام نشخوارکنندگان و ۳۰ نمونه پنیر سنتی، تعداد ۸ نمونه (۵/۳۳٪) آلودگی به *کوکسیلا بورنتی نشان داد*. آلودگی در شیر گاو ۳ نمونه (۲٪)، شیر گوسفند ۱ نمونه (۰/۶۷٪)، شیر خام بز ۱ نمونه (۰/۶۷٪)، شیر خام گاومیش منفی و در پنیر سنتی ۳ نمونه (۲٪) بود.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج پژوهش حاضر، توصیه می‌شود مصرف لبنیات به صورت خام خودداری شود تا ریسک بیماری‌زایی و عفونت توسط *کوکسیلا بورنتی* کاهش یابد.

واژگان کلیدی: ایمنی غذایی، تب کیو، کوکسیلا بورنتی، شیر خام، پنیر سنتی

مقدمه

شیر یک غذای کامل و با ارزش‌غذایی فراوان است و از اهمیت تغذیه‌ای بالایی برخوردار است که داری پروتئین‌های با هضم آسان، ویتامین‌های گروه A، B1، B2، B6 و پانتوتنیک اسید، اسیدهای چرب اشباع و غیراشباع و املاح فراوان می‌باشد. شیر از لحاظ فراوانی ویتامین‌های K و B12 فقیر می‌باشد. امروزه میزان مصرف شیر و فرآورده‌های آن در هر جامعه یکی از مهم‌ترین شاخص‌های توسعه به شمار می‌آید. (۱).

شیر در حین ترشح، در صورت سالم بودن دامِ شیروار، یک مایع کاملا استریل است. اما با خروج شیر از بدن دام و نزدیک شدن به قسمت‌های انتهایی نوک پستان، آلودگی‌های موجود در این قسمت وارد شیر می‌شود. شیر حین خروج از بدن دام،

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

دارای دمایی بین ۳۸-۳۶ درجه سانتی‌گراد را دارد که این دما بهترین شرایط برای رشد میکروارگانیسم‌ها است؛ که در نتیجه باید شیر را بلافاصله پس از دوشش، تا دمای ٤ درجه سانتی-گراد خنک کرد تا از رشد میکروارگانیسم‌های پاتوژن جلوگیری کرد (۲). آلودگی شیر خام از چند ناحیه صورت می‌پذیرد که این نواحی شامل: آلودگی‌های داخل پستان، خارج پستان و سرپستانک‌ها، سطوح تجهیزات نگهداری و حمل و نقل شیر هستند. تعداد و نوع میکروارگانیسم‌های شیر تازه دوشیده شده، به فاکتورهایی مانند سلامت حیوان، وسایل و تجهیزات شیردوشی، فصل، تغذیه و مهم‌تر از همه، شرایط نگهداری حیوان در بهاربند و اصطبل‌ها بستگی دارد (۳). میزان فراوانی باکتری‌های موجود در شیر، در رابطه با ارزیابی مناسب آن برای مصرف انسان نه تنها مهم می‌باشد بلکه یکی از فاکتورهای اساسی است؛ زیرا زمینه‌ی وجود باکتری‌های بیماری‌زا وجود دارد. برخی از این باکتری‌های بیماری‌زا شامل: استافیلوکوکوس اورئوس، لیستریا مونوسیتوژنز، *اشرشیاکلای، باسیلوس سرئوس، سالمونلا، پسودوموناس، انتروکوکوس، کلی‌فرم، استرپتوکوکوس، کوکسیلا بورنتی* و *مایکوباکتریوم توبرکلوزیس* هستند (٤).

کوکسیلا بورنتی، یک میکروارگانیسم داخل سلولی اجباری، مسئول ایجاد تب کیو (Q faver) است که یک بیماری مشترک بین انسان و دام بوده و می‌تواند طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی را آلوده کند. گاو، گوسفند و بز به ویژه در برابر این عفونت باکتریایی حساس هستند. راه اصلی انتشار این بیماری از طریق استنشاق آئروسل‌های حاوی باکتری‌های بیماری‌زا است که توسط حیوانات آلوده از طریق ادرار، شیر و بافت جفت دفع می‌شود. تظاهرات بالینی این بیماری مشترک بین انسان و دام بر اساس طول مدت و شدت بیماری متفاوت است. نوع حاد با تب طولانی مدت و پنومونی آتیپیک مشخص می‌شود، در حالی که شکل مزمن می‌تواند عوارضی از جمله هپاتیت، اندوکاردیت، منتژیت، آنسفالیت و استئومیلیت را ایجاد کند. *کوکسیلا بورنتی* همچنین ممکن است به عنوان یک سلاح بیولوژیکی مورد استفاده قرار گیرد، که آن را به یک تهدید بزرگ برای سلامت عمومی تبدیل می‌کند (۵).

کوکسیلا بورنتی از میکروارگانیسم‌های گرم منفی و اجباری داخل سلولی است که در موارد حاد اغلب یک بیماری آنفولانزای خفیف و خود محدودکننده است، اما می‌تواند به یک پنومونی غیر معمول یا هپاتیت تبدیل شود (٦). آلودگی شیر اغلب به وجود میکروارگانیسم در دام‌های شیرده و همچنین اقدامات بهداشتی ضعیف در طول تولید، ذخیره سازی، حمل و نقل و فروش مواد غذایی نسبت داده می‌شود (۷). داده‌های کمی در مورد عفونت تب کیو انسانی که به طور قطعی ثابت شده است از طریق شیر و محصولات لبنی غیرپاستوریزه آلوده منتشر شده است وجود دارد. در سال‌های ۲۰۱۵-۲۰۱۹، تعداد کل موارد تایید شده انسانی تب کیو در اتحادیه اروپا از ۸۲۲ تا ۹۵۰ مورد در سال گزارش شد (۸). پژوهش‌های انجام شده در ایران نشان داده است که شیرِ دام‌های نمونه‌گیری شده در مناطق مختلف ایران به کوکسیلا بورنتی آلوده است. در همین راستا رحیمی (۲۰۱٤) در استان‌های فارس، خوزستان، کرمان، قم و یزد آلودگی ۱/٦٪ (۹)، برجی و همکاران (۲۰۱٤) آلودگی ۵٪ (۱۰)، و مبارز و همکاران (۲۰۲۱)، در تهران، همدان و مازندران آلودگی ۱٤٪ (۱۱) را گزارش دادند. بنا به توضیحات فوق، و با توجه به مخاطراتی که *کوکسیلا بورنتی* برای مصرف‌کنندگان به همراه دارد و عدمِ وجود مطالعه‌ای جدید در خصوص تعیین میزان آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیرهای عرضه‌شده در شهرستان قم؛ هدف از مطالعه حاضر، شیوع کوکسیلا بورنتی در شیرخام نشخوارکنندگان و پنیر سنتی عرضه‌شده شهرستان قم به روش Nested PCR است.

روش کار

جمع‌آوری نمونه: این مطالعه مقطعی توصیفی، که در تابستان ۱٤۰۳ انجام شد، ابتدا ۱۵۰ نمونه شامل ۳۰ نمونه شیر خام گاو، ۳۰ نمونه شیر خام گوسفند، ۳۰ نمونه شیر خام بز، ۳۰ نمونه

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

شیر خام گاومیش و ۳۰ نمونه پنیر سنتی از مراکز عرضه در شهرستان قم به صورت تصادفی نمونه‌گیری شد. نمونه‌ها در فواصل زمانی مرداد و شهریور ۱۴۰۳ انجام شد و فاصله هر نمونه‌گیری به صورت میانگین ۱۰ رو بود. از هر نمونه شیر ۱۵ میلی‌لیتر وارد لوله‌های فالکون استریل ریخته شد. نمونه‌ها در شرایط سترون و در مجاورت فلاسک یخ جهت جلوگیری از آلودگی‌های ثانویه به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی انتقال داده شدند.

تشخیص و ردیابی کوکسیلا بورنتی: برای ردیابی و بررسی حضور کوکسیلابورنتی در نمونه‌های شیر از روش Nested PCR و مطابق روش (۱۲) استفاده شد. پس از جداسازی چربی نمونه‌ها با کمک دستگاه سانتریفیوژ (Eppendorf، آلمان)، از رسوب باقیمانده در ته لوله‌ها، استخراج DNA با استفاده از کیت (سیناژن، ایران) انجام شد. بازده استخراج DNA با این کیت رنجی بین 10-20 µg از ۱۰۰ میکرولیتر نمونه است. اهمیت و میزان DNA خالص به روش اسپکتروفتومتر (Eppendorf، آلمان)، با احتساب طول موج ۲۶۰ به ۲۸۰ نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. محصول به دست آمده تا انجام PCR در قسمت فریزر با دمای ۲۰°C- نگهداری شد. از روش PCR-Nested جهت ردیابی DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استفاده شد. توالی نوکلئوتیدی ژن *Com1* از پایگاه داده NCBI استخراج گردید، سپس سکانس پرایمرهای مورد استفاده برای ازدیاد ژن *Com1*، کد کننده پروتئین غشای خارجی کوکسیلا بورنتی (Outer Membrane Protein: OMP) طراحی و با کمک NCBI بلاست شد. توالی پرایمرهای طراحی شده جهت سنتز به شرکت سینا کلون ارسال گردید. 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 میکرومولار MgCl، ۱ میکرومولار از هر پرایمر رفت و برگشت (OMP1 و OMP2)، ۰/۵ واحد آنزیم DNA پلیمراز taq و ۲۰۰ میکرومولار dNTP Mix تعیین گردید. برای جلوگیری از آلودگی سطحی و تبخیر حجم نهایی PCR، ۲ قطره روغن معدنی سترون‌شده یا PCR Oil اضافه گردید و میکروتیوب در داخل دستگاه ترموسایکلر (Analytik-jena، آلمان) قرار گرفت و برنامه‌های دمایی به صورت ۹۴ درجه سانتی‌گراد، ۱۰ دقیقه، سپس ۹۴ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۵۸ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه و مرحله پایانی ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۵ دقیقه‌ای انجام گرفت. در مرحله دوم پرایمرهای این مرحله شامل یک زوج OMP3 و OMP4 بودند و تمام مراحل به روش مرحله اول تکرار شد، با این تفاوت که DNA الگو، ۲ میکرولیتر از محصول PCR مرحله اول می‌باشد که به نسبت ۱ به ۲۰۰ رقیق و به واکنش اضافه شد. محصول مرحله دو در ژل آگارز ۲ درصد دارای محلول اتیدیوم بروماید الکتروفورز شد و با امواج نور ماورای بنفش مشاهده و مورد بررسی و تفسیر قرار گرفت. کنترل مثبت این پژوهش DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استاندارد (۳۱۵۴) و لوله کنترل منفی، مخلوط کلیه واکنشگرهای PCR، بدون حضور DNA می‌باشد که به جای DNA آب مقطر استریل به لوله‌ها اضافه شد (۱۲).

آنالیز آماری: داده‌های جمع آوری شده با استفاده از نرم افزار SPSS 21 انجام شد. روش آماری تجزیه و تحلیل داده‌ها، با استفاده از آزمون مربع‌کای و تست دقیق فیشر بود و آزمون‌های آماری t در سطح ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج

نتایج به دست‌آمده از پژوهش حاضر نشان داد شیوع آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* از مجموع ۱۳۰ نمونه شیر خام نشخوارکنندگان و ۳۰ نمونه پنیر سنتی، ۸ نمونه (۵/۳۳٪) بود. به این ترتیب در شیر خام گاو ۳ نمونه (۲٪)، شیر خام گوسفند ۱ نمونه (۰/۶۷٪)، شیر خام بز ۱ نمونه (۰/۶۷٪)، شیر خام گاومیش منفی و در پنیر سنتی میزان آلودگی به کوکسیلا بورنتی ۳ نمونه (۲٪) بود (جدول۱). همانگونه که در شکل ۱ مشخص

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

است محصول PCR ژن *Com1* یک بار با جفت پرایمر اول Omp3/Omp4 و یک بار با جفت پرایمر دوم Omp1/Omp2 روی ژل ۲٪ الکتروفورز شد و در مولتی پلکس PCR از هر دو جفت پرایمر برای تکثیر ژن هدف استفاده و محصول نهایی بر روی ژل آگارز افقی الکتروفورز گردید.

بحث

کوکسیلا بورنتی دارای یک الگوی اپیدمیولوژیک پیچیده و ویژگی‌هایی است که کنترل آن را چالش‌برانگیز می‌کند. به طور گسترده در طبیعت منتشر شده و تعداد زیادی از گونه‌ها از جمله پستانداران، پرندگان، خزندگان و ماهی‌ها را آلوده می‌کند. دوچرخه نگهداری در طبیعت وجود دارد، یکی شامل گونه‌های اهلی و دیگری شامل گونه‌های جانوران وحشی و انگل‌های بیرونی آن‌ها است، کنه‌ها ممکن است در انتقال *کوکسیلا بورنتی* بین حیات وحش و گونه‌های اهلی دخیل باشند. علاوه بر این، این عامل بسیار مقاوم است و در مدت زمان طولانی در محیط زیست باقی می‌ماند. کوکسیلا بورنتی همچنین می‌تواند توسط ذرات گرد و غبار آلوده از طریق هوا منتقل شود، که می‌تواند با شرایط آب و هوایی گرم و خشک تسهیل شود (۱۴). در همین راستا پژوهش حاضر با هدف ارزیابی میزان آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* در شیر خام و پنیرهای سنتی عرضه‌شده در شهرستان قم به کوکسیلا بورنتی انجام گرفت که نتایج نشان داد از مجموع ۱۳۰ نمونه شیر خام نشخوارکنندگان و ۳۰ نمونه پنیر سنتی ۲۰ نمونه (۵/۳۸٪) بود.

نتایج متاآنالیز انجام شده توسط Rabaza و همکاران (۲۰۲۱) نشان داد کوکسیلا بورنتی به طور گسترده در مزارع لبنی در حدود دوازده کشور از ۳ قاره (آمریکا، اروپا و آسیا) توزیع شده است که شیوع آلودگی در مقیاس جهانی در انواع گله‌ها ۳۷٪ بود. نتایج آن‌ها نشان داد. آلودگی در گله‌های گاو شیرده بیشتر از سایر دام‌های شیرده بود که دلیل آن را تماس نزدیک بین گاوها دانستند. تراکم بالا یک ویژگی ذاتی سیستم-های مدیریت گله گاوهای شیری است و گله‌های بزرگتر شانس بیشتری برای تماس و انتقال کوکسیلا بورنتی دارند (۱۴). نتایج مطالعه حاضر نیز نشان‌دهنده آلودگی بیشتر در شیر گاو نسبت به شیر گوسفند و بز بود. نجفی و مهرابی (۲۰۲۴) روی آلودگی به کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر گاو استان لرستان گزارش دادند از مجموع ۲۰ نمونه شیر، ۵٪ به کوکسیلا بورنتی آلوده بودند (۱۵). رحیمی و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی روی آلودگی شیرهای عرضه‌شده در شهرستان اصفهان به کوکسیلا بورنتی گزارش دادند از مجموع ۲۴۷ نمونه شیر که از ۹۰ گاوداری تهیه شد، ۸ نمونه (۳/۲٪) از لحاظ کوکسیلا بورنتی مثبت بودند (۱۶)، نوروزیان و همکاران (۲۰۱۸) در پژوهشی با هدف PCR تشخیص کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های شیر گزارش دادند از مجموع ۱۳۰ نمونه ۱/۸٪ به کوکسیلا بورنتی آلوده بودند (۱۷). پژوهشی توسط Cornejo و همکاران (۲۰۲۰) با هدف ارزیابی آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر خام گزارش دادند که در ۲ نمونه از ۱۰۵ نمونه (۲/۱٪) آلودگی به کوکسیلا ردیابی شد (۱۸). شیوع جهانی کوکسیلا بورنتی در شیر گاو ۱۵/۰۹٪ با روش PCR بود. مطابق متاآنالیز انجام شده توسط اسماعیلی و همکاران (۲۰۱۹) بیشترین شیوع کوکسیلا بورنتی در استان آذربایجان شرقی با ۵۵/۲۵٪ بوده است (۱۹). در پژوهش حاضر، آلودگی شیر خام گاو، ۲٪ بود که هم‌راستا با پژوهش‌های یادشده است. کوکسیلا بورنتی در گاو توسط مخاط واژن، شیر و مدفوع، ادرار و مایع منی دفع می‌شود و تماس با این مواد آلوده می‌تواند منجر به عفونت انسان شود. در کشورهای دیگر، شیوع کوکسیلا بورنتی سطوح مختلفی را در بین شیر گاو نشان داد، به عنوان وضعیت آلودگی در شیر خام گاو، ۴/۷٪ در سوئیس (۲۰)، ۸/۷٪ در مجارستان (۲۱)، ۱۸/۸٪ در هلند (۲۲)، ۲۲٪ در مصر (۲۳)، ۱۴/۳٪ ایتالیا (۲۴)، ۲۸/۹٪ عربستان (۲۵)، ۴۲/۹٪ آمریکا (۲۶) و ۵۳/۷٪ در ژاپن (۲۷) بود. نتیجه متاآنالیز انجام شده در ایران تا سال ۲۰۱۹ نشان داد آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر بز ۷/۰۸٪ بوده است. بررسی

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

کوکسیلا بورنتی در ۸ استان انجام شد. استان‌های قم (۰٪) و لرستان (٤٤/٧١٪) کمترین و بیشترین فراوانی را داشتند (۱۹). در پژوهش حاضر آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر بزهای نمونه‌گیری شده در شهرستان قم، ۰/٦٧٪ بود. شیوع کوکسیلا بورنتی در شیر بز در عربستان صفر (۲۵)، سوئیس صفر (۲۰)، لهستان ۳/٤٪ (۲۸)، ١٤٪ مصر (۲۳) و ۳۲/۹٪ در هلند (۲۲) بود.

شیوع جهانی کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفند ۳/۷۹٪ است که با روش PCR شناسایی شد. بررسی کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفند در ۱۰ استان در ایران انجام شده است که در ۵ استان با آزمایش PCR ردیابی شده است. نتایج پژوهش‌های پیشین نشان داد کوکسیلا بورنتی در نمونه‌های استان‌های چهارمحال و بختیاری، فارس، قم، کرمان و خوزستان یافت نشد. بیشترین فراوانی کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفند در استان خراسان رضوی (٣٤/٧٨٪) مشاهده شد (۱۸). در پژوهش حاضر آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر گوسفندهای نمونه‌گیری شده در شهرستان قم، ۰/٦٧٪ بود. شیوع کوکسیلا بورنتی در در سوئیس صفر (۲۰)، در عربستان سعودی صفر (۲۵)، در مجارستان ٤٪ (۲۱)، در ترکیه ٦/۵٪ (۲۹)، در مصر ۱۷٪ (۳۰) و در اسپانیا ۲۲٪ (۳۱) بوده است. لازم به ذکر است که گوسفندها این باکتری را بیشتر در مدفوع و مخاط واژن وارد محیط می‌کنند، برخلاف بزها و گاوها (که عمدتا در شیر) و سپس محیط زیست آلوده می‌کند.

پژوهش متاآنالیزی توسط Yanmaz and ozgen (۲۰۲۳) انجام شد و دریافتند که ۲۵٪ پنیرها، به کوکسیلا بورنتی آلوده بودند (۳۲)، در پژوهش حاضر نتایج آلودگی به کوکسیلا بورنتی در پنیر، ۲٪ بود. پژوهش مصلح و همکاران (۲۰۱۸) با هدف آلودگی پنیرهای عرضه‌شده در شهرستان تهران به کوکسیلا بورنتی، نشان دادند که ۷/۵٪ پنیرها به کوکسیلا بورنتی آلوده بودند (۳۳). آلودگی به کوکسیلا بورنتی در ایتالیا ۷/۸٪ (۳٤) و در آذربایجان غربی ۱۲/۵٪ (۳۵) بود که فراتر از نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر بودند.

نتیجه‌گیری

متأسفانه سنت مصرف لبنیات تهیه شده از شیر غیرپاستوریزه، به ویژه در میان ساکنان مناطق روستایی و مناطق دورافتاده، خطر ابتلا به بیماری‌های ناشی از عوامل بیماری‌زا در شیر را افزایش می‌دهد. بنابراین لازم است اقداماتی برای افزایش آگاهی در خصوص روش‌های پیشگیری انجام شود. از سوی دیگر، آلودگی شیر خام می‌تواند منجر به تولید ذرات معلق در هوا در مراحل مختلف آماده‌سازی شیر، از جمله دوشیدن دام و جابجایی شیر در مزارع و کارخانه‌های لبنی شود و منجر به انتقال عفونت به انسان شود. با توجه به نتایج به دست‌آمده از مطالعه‌ی حاضر، شیر خام گاو، گوسفند، بز و پنیر سنتی می‌تواند از منابع بالقوه‌ی آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* باشد؛ بنابراین لازم است در خصوص روش‌های پیشگیرانه مانند، واکسیناسیون افراد در معرض خطر و دام‌ها، پاستوریزه کردن شیر، آگاهی بخشی به مصرف‌کنندگان در خصوص منابع و شیوه‌های انتقال، عوارض بیماری و استفاده از وسایل حفاظت فردی و نگهداری مناسب در برخورد با دام اقداماتی در جهت آگاهی بخشی صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از کلیه همکاران گروه بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد که نهایت همکاری را در انجام این پروژه را داشتند تشکر به عمل می‌آید. این مقاله برگرفته از پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته بهداشت مواد غذایی با کد اخلاق IR.IAU.SHK.REC.1403.293 دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد می‌باشد.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

جدول ۱- پرایمرهای تشخیص کوکسیلا بورنتی در مطالعه شیوع کوکسیلا بورنتی در پنیر سنتی و شیر خام عرضه‌شده شهرستان قم با روش Nested PCR

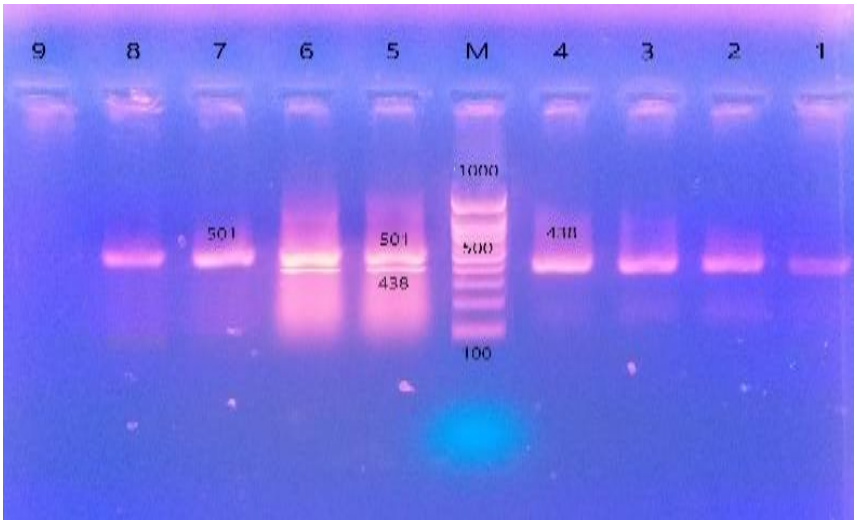
نام پرایمر	توالی پرایمر	اندازه محصول PCR (bp)	دمای اتصال (°C)	منبع
OMP1	5´-AGTAGAAGCATCCCAAGCATTG-3´	۵۰۱	۵۸	(۱۳)
OMP2	5´-TGCCTGCTAGCTGTAACGATTG-3´			
OMP3	5´-GAAGCGCAACAAGAAGAACAC-3´	٤۳۸		
OMP4	5´-TTGGAAGTTATCACGCAGTTG-3´			

جدول ۲- نتایج فراوانی آلودگی به کوکسیلا بورنتی در شیر خام گاو، گوسفند، بز و گاومیش و پنیر سنتی نمونه‌گیری شده در شهرستان قم

ماده غذایی	تعداد نمونه	نمونه مثبت (درصد)	نمونه منفی (درصد)	سطح معنی‌داری
شیر خام گاو	۳۰	۳[a] نمونه (٪۲)	۲۷ نمونه (٪۹۸)	۰/۱۰۹[ns]
شیر خام گوسفند	۳۰	۱[bc]نمونه (٪۰/٦۷)	۲۹ نمونه (٪۹۹/۳۳)	
شیر خام بز	۳۰	۱[bc]نمونه (٪۰/٦۷)	۲۹ نمونه (٪۹۹/۳۳)	
شیر خام گاومیش	۳۰	-	۳۰ نمونه (٪۱۰۰)	
پنیر سنتی	۳۰	۳[a] نمونه (٪۲)	۲۷ نمونه (٪۹۸)	
مجموع	۱۵۰	۸ نمونه (٪۵/۳۳)	۱٤۲ نمونه (٪۹٤/٦۷)	

در هر سطر، اعداد برچسب خورده با حروف انگلیسی متفاوت، با ۰/۰۱ > p-value با هم تفاوت معنی‌دار آماری دارند.
ns: تفاوت آلودگی و عدم آلودگی معنی‌دار نیست.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]



شکل ۱- الکتروفورز محصول Nested PCR. چاهک‌های ۱-٤: محصول PCR ژن *Com1* حاصل از جفت پرایمر (OMP3 و OMP4) با اندازه ٤٣٨ جفت باز، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک‌های ٥-٦: کنترل مثبت *کوکسیلا بورنتی* حاصل از مولتیپلکس PCR و دو زوج پرایمر با باندهایی با اندازه ٤٣٨ و ٥٠١ جفت باز، چاهک‌های ۷-۸: محصول PCR ژن *Com1* حاصل از جفت پرایمر (OMP1 و OMP2) با اندازه 501 جفت باز، چاهک ۹: کنترل منفی.

References

1. Ayazi N, Heidarzadi MA, Kohneh Poushi M, Karami M, Sabzibalkhkanlo A, Gorgin Karaji K. Investigating the Amount of Microbial Contamination of Pasteurized Milk in Kermanshah City with Coliform and the Total Number of Bacteria. Journal of Alternative Veterinary Medicine. 2022;5(12):702-9.
2. Cobirka M, Tancin V, Slama P. Epidemiology and classification of mastitis. Animals. 2020;10(12):2212.
3. Sharun K, Dhama K, Tiwari R, Gugjoo MB, Iqbal Yatoo M, Patel SK, et al. Advances in therapeutic and managemental approaches of bovine mastitis: a comprehensive review. Veterinary Quarterly. 2021; 41(1):107-36.
4. Hahne J, Isele D, Berning J, Lipski A. The contribution of fast growing, psychrotrophic microorganisms on biodiversity of refrigerated raw cow's milk with high bacterial counts and their food spoilage potential. Food microbiology. 2019; 79(1):11-9.
5. Broertjes J, Franz E, Friesema IH, Jansen H-J, Reubsaet FA, Rutjes SA, et al. Epidemiology of Pathogens Listed as Potential Bioterrorism Agents, the Netherlands, 2009–2019. Emerging infectious diseases. 2023; 29(7):184-195.
6. Bauer BU, Knittler MR, Andrack J, Berens C, Campe A, Christiansen B, et al. Interdisciplinary studies on Coxiella burnetii: From molecular to cellular, to host, to one health research. International Journal of Medical Microbiology. 2023; 4(7):151-159.
7. Kaplan MF, Kaplan E, Raza A, Demirler M, Baran A, Cengiz S, et al. Evaluation of raw milk samples and vendor-derived Staphylococcus aureus and Coxiella burnetii prevalence in dairy delicatessens

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

in eastern Turkey. Food Science & Nutrition. 2024;78(9): 57-69.
8. Authority EFS, Prevention ECfD, Control. The European Union one health 2019 zoonoses report. Efsa Journal. 2021;19(2):e06406.
9. Rahimi E. Detection of Coxiella burnetii in ovine bulk milk samples in Fars, Khuzestan, Ghom and Kerman provinces using PCR assay. Veterinary Research & Biological Products. 2014;27(2):2-7.
10. Borji S, Jamshidi A, Khanzadi S, Razmyar J. Detection of Coxiella burnetii and sequencing the IS1111 gene fragment in bulk tank milk of dairy herds. Iranian Journal of Veterinary Science and Technology. 2014;6(2):21-8.
11. Mobarez AM, Mostafavi E, Khalili M, Esmaeili S. Identification of Coxiella burnetii in raw milk of livestock animal in Iran. International Journal of Microbiology. 2021;2021(1):6632036.
12. Nobijari AN, Rahimi E, Shakerian A. Prevalence of Coxiella burnetii in bovine bulk milk by nested-PCR in Gilan province. 2020; 7(4):12-20.
13. Keshavamurthy R, Singh BB, Kalambhe DG, Aulakh RS, Dhand NK. Prevalence of Coxiella burnetii in cattle and buffalo populations in Punjab, India. Preventive veterinary medicine. 2019;166(1):16-20.
14. Rabaza A, Fraga M, Corbellini LG, Turner KM, Riet-Correa F, Eisler MC. Molecular prevalence of Coxiella burnetii in bulk-tank milk from bovine dairy herds: Systematic review and meta-analysis. One Health. 2021;12(7):100208.
15. Najafi M, Sh. M. Genomic search of Coxiella burnetii in cow milk samples of Lorestan province based on IS1111 transposon gene. Two quarterly journals of animal health and infectious diseases. 2024;14021(1):32-7.
16. Rahimi E, Torki Baghbadorani Z, Doosti A. An assay to determine the seasonal prevalence of Coxiella burnetii in cow milk using nested PCR. Journal of Microbial World. 2010;3(1):56-62.
17. Norouzian H, Diali HG, Azadpour M, Afrough P, Shakib P, Mosavi SM, et al. PCR detection of Coxiella burnetii in milk samples of ruminants, Iran. Journal of Medical Bacteriology. 2018;7(1):31-5.
18. Cornejo J, Araya P, Ibáñez D, Hormazabal JC, Retamal P, Fresno M, et al. Identification of Coxiella burnetii in tank raw cow milk: first findings from Chile. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2020;20(3):228-30.
19. Esmaeili S, Mohabati Mobarez A, Khalili M, Mostafavi E, Moradnejad P. Molecular prevalence of Coxiella burnetii in milk in Iran: a systematic review and meta-analysis. Tropical animal health and production. 2019;51(7):1345-55.
20. Fretz R, Schaeren W, Tanner M, Baumgartner A. Screening of various foodstuffs for occurrence of Coxiella burnetii in Switzerland. International journal of food microbiology. 2007;116(3):414-8.
21. Gyuranecz M, Dénes B, Hornok S, Kovács P, Horváth G, Jurkovich V, et al. Prevalence of Coxiella burnetii in Hungary: screening of dairy cows, sheep, commercial milk samples, and ticks. Vector-Borne and Zoonotic Diseases. 2012;12(8):650-3.
22. Van den Brom R, Van Engelen E, Luttikholt S, Moll L, Van Maanen K, Vellema P. Coxiella burnetii in bulk tank milk samples from dairy goat and dairy sheep farms in The Netherlands in 2008. Veterinary Record. 2012;170(12):310-20.
23. Amin W, Ahmed S. Detection of Coxiella burnetii in bovine milk samples using polymerase chain reaction. Assiut Veterinary Medical Journal. 2009;55(123):1-9.
24. Petruzzelli A, Amagliani G, Micci E, Foglini M, Di Renzo E, Brandi G, et al. Prevalence assessment of Coxiella

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

burnetii and verocytotoxin-producing Escherichia coli in bovine raw milk through molecular identification. Food control. 2013;32(2):532-6.
25. Mohammed OB, Jarelnabi AA, Aljumaah RS, Alshaikh MA, Bakhiet AO, Omer SA, et al. Coxiella burnetii, the causative agent of Q fever in Saudi Arabia: molecular detection from camel and other domestic livestock. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 2014;7(9):715-9.
26. Loftis AD, Priestley RA, Massung RF. Detection of Coxiella burnetii in commercially available raw milk from the United States. Foodborne pathogens and disease. 2010;7(12):1453-6.
27. Hirai A, Kaneko S, Nakama A, Ishizaki N, Odagiri M, Kai A, et al. Investigation of Coxiella burnetii contamination in commercial milk and PCR method for the detection of C. burnetii in egg. Shokuhin eiseigaku zasshi Journal of the Food Hygienic Society of Japan. 2005;46(3):86-92.
28. Cisak E, Zając V, Sroka J, Sawczyn A, Kloc A, Dutkiewicz J, et al. Presence of pathogenic Rickettsiae and protozoan in samples of raw milk from cows, goats, and sheep. Foodborne pathogens and disease. 2017;14(4):189-94.
29. Öngör H, Karahan M, Acik MN, Muz A, Bulut H. Detection of Coxiella burnetii by immunomagnetic separation-PCR in the milk of sheep in Turkey. The Veterinary Record. 2004;154(18):570-79.
30. Khalifa NO, Elhofy FI, Fahmy A, Sobhy MM, Agag M. Seroprevalence and molecular detection of Coxiella burnetii infection in sheep, goats and human in Egypt. ISOI J Microbiol Biotechnol Food Sci. 2016;2(1):1-7.
31. García-Pérez A, Astobiza I, Barandika J, Atxaerandio R, Hurtado A, Juste R. Investigation of Coxiella burnetii occurrence in dairy sheep flocks by bulk-tank milk analysis and antibody level determination. Journal of dairy science. 2009;92(4):1581-4.
32. Yanmaz B, Ozgen EK. Molecular prevalence of Coxiella burnetii in cheese samples: Systematic review and meta-analysis. Veterinary Medicine and Science. 2024;10(1):e1335.
33. Mosleh N, Moslehishad M, Moosakhani F. Detection of Coxiella burnetii by real-time PCR in raw milk and traditional cheese distributed in Tehran province. Journal of Pharmaceutical and Health Sciences. 2018;6(2):149-55.
34. Basanisi MG, La Bella G, Nobili G, Raele DA, Cafiero MA, Coppola R, et al. Detection of Coxiella burnetii DNA in sheep and goat milk and dairy products by droplet digital PCR in south Italy. International Journal of Food Microbiology. 2022;366:109583.
35. Mokarizadeh K, Ownagh A, Tajik H, editors. Molecular detection of Coxiella burnetii in Kope cheese and cattle milk in West Azerbaijan, Iran. Veterinary Research Forum; 2023; 6(5):144-52.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]

Investigation of the Prevalence of *Coxiella Burnetii* in Traditional Cheese and Raw Milk Supplied in Qom City, Iran Using the Nested PCR Method

Maryam Tajmahal[1], Ebrahim Rahimi*[2]

1- MSc. Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
2- Ph.D. Professor, Department of Food Hygiene, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

*Corresponding Author: ebrahimrahimi55@yahoo.com

Received: Nov 28, 2024 **Accepted: Mar 11, 2025**

ABSTRACT

Background and Aim: Q fever, caused by *Coxiella burnetii*, is a zoonotic disease widely distributed in humans and livestock. It affects domestic animals, wildlife and humans. This disease is asymptomatic in livestock and its clinical consequences include abortion, stillbirth, infertility, mastitis and endometritis. Unpasteurized milk and dairy products are the most important source of transmission of *C. burnetii* to humans. The aim of the present study was to investigate the prevalence of *C. burnetii* in traditional cheese and raw cow's, sheep's, goat's and buffalo's milks supplied in Qom city, Iran using the Nested PCR method.

Materials and Methods: Initially 150 samples including 30 samples of traditional cheese and 120 samples of raw cow's, sheep's, goat's and buffalo's milks were selected from the supply centers in Qom city in the summer of 2024 and transferred to the laboratory under sterile conditions to prevent secondary contamination. The samples were tested using the Nested PCR method to detect contamination.

Results: The results showed that out of a total of 120 samples of raw ruminant milk and 30 samples of traditional cheese, 8 samples (5.33%) were contaminated with *Coxiella burnetii*. The proportions of contaminated samples in cow's, sheep's and goat's milks and traditional cheese were 3 (2%), 1 (0.67%), 1 (0.67%) and 3 (2%), respectively; buffalo raw milk was not contaminated.

Conclusion: Based to the results of the present study, it is recommended to prohibit the consumption of raw dairy products to reduce the risk of pathogenicity and infection by *Coxiella burnetii*.

Keywords: Food Safety, Q Fever, Coxiella Burnetii, Raw Milk, Traditional Cheese

Copyright © 2025 Tehran University of Medical Sciences. Published by Tehran University of Medical Sciences.
This work is licensed under a Creative Commons Attribution-Non-Commercial 4.0 International license (https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/). Non-commercial uses of the work are permitted, provided the original work is properly cited.

[Downloaded from sjsph.tums.ac.ir on 2026-04-27]