

## **IZLUČIVANJE *COXIELLA BURNETII* MLEKOM KOD SEROPOZITIVNIH KRAVA**

Miodrag Radinović, Stanko Boboš, Marija Pajić, Annamaria Galfi, Ivana Davidov, Branka Vidić<sup>52</sup>

### **REZIME**

*Coxiella burnetii* je infektivni agens od velikog značaja u veterinarskoj i humanoj medicini. Inficirane životinje su najčešće bez kliničkih simptoma ali mogu izlučivati koksijejele u velikim količinama i kroz dugi vremenski period. Dugotrajno preživljavanje uzročnika u spoljnoj sredini i mala infektivna doza za čoveka dodatno daju na značaju ovom uzročniku. Domaće životinje su najvažniji izvor infekcije za ljude a poseban značaj imaju goveda ovce i koze. Posebno treba istaći značaj malih preživata u vreme porođaja ili pobačaja kao izvora za širenje infekcije formiranjem infektivnog aerosola. Izlučivanje putem mleka je na prvom mestu kod goveda dok kod malih preživara je značajnije putem fecesa, urina i lohija. Zapati goveda mogu biti sa malim procentom inficiranih životinja, manje od 5% ali postoje i zapati u kojima je procenat inficiranih preko 80%. *Coxiella burnetii* se održava u vazduhu i nošena vetrom može se preneti na udaljenost do jednu milju pa infekcija ljudi ovom bakterijom može da nastane iako nisu bili u direktnom kontaktu sa životinjama. Prenosjenje na ljude putem mleka inficiranih životinja nije dokazano jedino je dokazana mogućnost serokonverzije. U periodu od 30 meseci vršen je nadzor na farmi muznih krava nad grupom životinja koje su bile serološki pozitivne na *Q* groznicu. Praćena je dinamika izlučivanja uzročnika putem mleka kao i pojava kliničkih simptoma koji mogu da ukažu na ovu infekciju. Od ukupno devet oglednih životinja pobačaj je zabeležen kod samo jedne krave u četvrtom mesecu graviditeta. Kod svih životinja je primenom PCR metoda dokazano intermitentno izlučivanje uzročnika mlekom. Najveći intenzitet izlučivanja bio je u drugoj fazi laktacije (80%) a najmanji u prvih 60 dana laktacije (16,6%).

*Ključne reči:* *Coxiella burnetii*, krava, mleko, PCR

---

<sup>52</sup> dr Miodrag Radinović, docent, dr Stanko Boboš, redovni profesor, dr Marija Pajić, asistent, DVM Annamaria Galfi, istraživač, dr Ivana Davidov, docent, dr Branka Vidić, naučni savetnik, Univerzitet u Novom Sadu, Poljoprivredni fakultet, Departman veterinarske medicine

## UVOD

Q groznica je zoonoza koju izaziva obligatni intracelularni mikroorganizam, *Coxiella burnetii*. Bolest se prvi put pojavila kod radnika na klanici u Australiji da bi danas bila prisutna u celom svetu izuzev Novog Zelanda (Kazar J., 2005). Kao najvažniji izvor infekcije ljudi su označene domaće životinje i to psi i mačke koji su odgovorni za pojavu bolesti pre svega u urbanim sredinama i preživari koji su i najznačajniji izvor infekcije za ljude (Arricau-Bouvery N., Rodolakis A., 2005, Vidić et al, 2008). Za nastajanje infekcije kod domaćih životinja značajan je primarni ciklus u prirodi te oboljevaju pre svih ovce, goveda i koze. Bolest kod njih često protiče asimptomatski a jedini simptom koji može da ukaže na ovu infekciju je pojava abortusa. Mada postoje izveštaji o pojavi respiratornih oboljenja uzrokovanih sa *Coxiella burnetii* jedini simptom kod eksperimentalno inficiranih životinja i to pre svega ovaca i koza a ređe kod goveda jeste abortus. Kod životinja koje su imale pobačaj dolazi do retencije sekundina i smanjene plodnosti (Guatteo et al, 2007). Hronični tok bolesti se može dovesti u vezu sa izlučivanjem uzročnika putem mleka (Guatteo et al, 2006), ali i sa postojanjem poremećaja sekrecije mleka. U mlečnoj žlezdi i limfnim čvorovima uzročnik može da perzistira godinama (Boboš i Vidić, 2005). Na ovakvo stanje ukazuje dugoročno povećanje broja somatskih ćelija u mleku inficiranih krava (Barlow et al, 2008).

## MATERIAL I METOD RADA

Na farmi muznih krava su uzeti uzorci krvi venepunkcijom na veni jugularis. Nakon uzorkovanja, uzorci krvi su čuvani na sobnoj temperaturi da bi se izdvojio serum, a zatim su centrifugovani. Ukupno je pregledano 200 uzoraka krvnog seruma. Serumi su pregledani primenom CHEKIT Q-fever ELISA test kita „IDEXX laboratories“ po uputstvu proizvođača. Od životinja koje su bile pozitivne na Q groznicu formirana je ogleđna grupa krava sa devet životinja. Prateći proizvodni ciklus ogleđnih životinja uzimani su uzorci mleka radi kontrole. Uzorci mleka su uzimani za vreme jutarnje muže krava postavljanjem trutestera na muznu jedinicu prilikom muže inficiranih krava. Prikupljanje uzoraka trajalo je 30 meseci prateći proizvodni ciklus životinja. Ukupno je prikupljeno 65 uzoraka mleka. Za dokazivanje prisustva *Coxiella burnetii* u mleku korišten je PCR metod. U postupku izolacije DNK *Coxiella burnetii* iz mlečnih seruma korišćen je komercijalni set kit za izolaciju DNK (proizvođača Qiagen) prema uputstvu proizvođača. Korišće su sledeći prajmeri trans-1 (5'-TAT GTA TCC ACC GTA GCC AGT C-3') i trans-2 (5'-CCC AAC AAC ACC TCC TTA TTC-3'). Radi jasnijeg prikaza rezultata podelili smo laktaciju u tri faze, tabela 1.

Tabela 1. Prikaz trajanja faza laktacije  
*Table 1. Duration of lactation phases*

prva faza <i>first phase</i>	druga faza <i>second phase</i>	treća faza <i>third phase</i>
10-60 dana 10-60 days	60-180 dana 60-180 days	preko 180 dana over 180 days

## REZULTATI I DISKUSIJA

Obradom uzoraka mleka primenom PCR metoda ustavljeno je intermitentno izlučivanje uzročnika mlekom inficiranih krava. Sve serološki pozitivne životinje su povremeno izlučivale *Coxiella burnetii* mlekom a dinamika izlučivanja je bila najveća u drugoj fazi laktacije (tabela 2).

Tabela 2. Dinamika izlučivanja *Coxiella burnetii* po fazama laktacije  
*Table 2. Excretion of Coxiella burnetii by lactation phases*

prva faza <i>first phase</i>	druga faza <i>second phase</i>	treća faza <i>third phase</i>
16,6%	80,0 %	40,8 %

Iz tabele 2 se uočava da je u drugoj fazi laktacije procenat mlečnih seruma sa dokazanom *Coxiella burnetii* bio 80%. Podaci iz literature (Rodolakis i sar., 2007) govore u prilog tome da kod velikog broja krava izlučivanje uzročnika putem mleka može da počne u periodu od 8 do 12 nedelja posle partusa što se poklapa sa drugom fazom laktacije kako smo je mi definisali. Može se zaključiti da je visok procenat PCR pozitivnih uzoraka seruma u drugoj fazi laktacije posledica upravo toga što su neke krave koje do tog perioda nisu izlučivale uzročnika počele izlučivanje upravo u ovoj fazi (Radinović, 2012). Infekcija kod osoba izloženih *Coxiella burnetii* pre nastaje zbog izloženosti aerosolu nego kao posledica konzumiranja mleka i proizvoda od mleka. PCR pozitivan rezultat dobijen ispitivanjem stadnog mleka na farmi nije dokaz da je u mleku prisutna infektivna forma *Coxiella burnetii* (Vellema i sar., 2010).

## ZAKLJUČAK

Izlučivanje *Coxiella burnetii* mlekom je dokazano kod svih serološki pozitivnih krava. Krave su uzročnika izlučivale intermitentno sa različitim intenzitetom u pojedinim fazama laktacije, što je potvrđeno primenom PCR metoda.

## ZAHVALNICA

Ovaj rad je deo projekta TR31084, finansiranig od strane Ministarstva za nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije

## LITERATURA

1. Kazar J.: *Coxiella burnetii* infection. Ann N Y Acad Sci. 2005; 1063:105–114.
2. Arricau-Bouvery N., Rodolakis A.: Is Q Fever an emerging or re-emerging zoonosis?. Vet. Res. 2005; 36:327–349.
3. Vidić, B., Boboš, S., Savić, S., Prica, N.: Nalaz *Coxiella burnetii* u mleku i njen značaj za nastanak infekcije kod ljudi. Savremena poljoprivreda. 2008; 57(3-4):208-215.
4. Guateo, R., Beaudeau, F., Beri, M., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H.: Shedding routes of *Coxiella burnetii* in dairy cows: implications for detection and control. Vet. Res. 2006; 37: 827-833.
5. Guateo, R., Beaudeau, F., Beri, M., Rodolakis, A., Joly, A., Seegers, H.: *Coxiella burnetii* shedding by dairy cows. Vet. Res, 2007; 38: 849-860.
6. Boboš, S., Vidić, B.: Mlečna žlezda preživara-morfologija-patologija-terapija. Novi Sad, 2005.
7. Rodolakis, A., Beri, M., Hechard, C., Caudron, C., Souriau, A., Bodier, C.C., Blan –chard, B., Camuset, P., Devilechaise, P., Natorp, J.C., Vadet, J.P., Arricau -Bou –ver, y N.: Comparison of *Coxiella burnetii* shedding in milk of dairy bovine, caprine and ovine herds. J.DairySci. 2007; 90:5352-5360.
8. Radinović, M.: Nalaz specifičnih antitela za *Coxiella burnetii* kod hronično inficiranih krava i kontrola njenog izlučivanja mlekom. doktorska disertacija, Novi Sad, 2012.
9. Vellema P, van den Brom R, Dercksen D P, Moll L, Roest H J, 2010. Research in relation to the approach of Q fever in the Netherlands. In: proceedings of: Q-fever conference, Breda, the Netherlands, February 2010.

## EXCRETION OF COXIELLA BURNETII IN MILK OF SEROPOSITIVE COWS

*Miodrag Radinović, Stanko Boboš, Marija Pajić, Annamaria Galfi, Ivana Davidov, Branka Vidić*

### SUMMARY

*Coxiella burnetii is the infectious agent of great importance in veterinary and human medicine. Infected animals are usually with no clinical symptoms but may exude Coxiella burnetii in large quantities over a long period of time. Long-term survival of pathogen in the external environment and low infectious dose for humans additionally provide importance of this cause. Domestic animals are the most important source of infection for humans and they are especially important in cattle sheep and goats. We should emphasize the importance of small ruminants during birth or abortion as a source for the spread of infection by forming infectious aerosols. Excretion through milk is most important in cattle and in small ruminants through feces, urine and lochia. Herd may be with small percentage of infected animals, less than 5%, but there are herds where the percentage of infected animals is over 80%. Coxiella burnetii is held in the air and carried by the wind can be transferred at a distance up to one mile so human infection with this bacteria may occur even though they were not in direct contact with the animals. Transfer to humans through milk of infected animals has not been proven it is only proven the possibility of seroconversion. In the period of 30 months was carried out surveillance on a dairy farm over a group of animals that were serologically positive for Q fever. The dynamics of pathogens secretion through milk and the occurrence of clinical symptoms that may indicate the infection were observed. From a total of nine experimental animals abortion was detected in only one cow in the fourth month of pregnancy. In all animals the application of the PCR method showed intermittently secretion through milk The lowest intensity of secretion through milk was during the first 60 days of lactation (16.6%) and highest in the period from 60 to 180 days of lactation (80%). PCR positive results obtained by testing of tank milk on the farm is not proof that the milk present infectious form of Coxiella burnetii.*

*Keywords: Coxiella burnetii, milk cows*

Primljeno: 30. 09. 2014.

Prihvaćeno: 24. 10. 2014.