ORIGINAL ARTICLE

Identification of Fauna of Hard Ticks Collected from Livestock and Molecular Investigation of Coxiella burnetii as Potential Vectors of Q-Fever in South-Khorsan

Amirsajad Jafari[1],
Mehdi Rasekh[2],
Amir masood Jafari nozad[3],
Sahar Asadolahi zoj[1],
Dariush Saadati[4]
Faezeh Faghihi[5],
Zakkyeh Telmadarraiy[6,7],
Asadollah Hosseini-Chegeni[8],
Manizhe Roohnavaz[9]

[1] Doctor of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
[3] Medical Student, Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Nutrition and Animal Breeding, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
[5] Assistant Professor, Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[6] Associate Professor, Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran
[7] Rahyan Novin Danesh (RND) Private University, Sari, Iran
[8] Assistant Professor, Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[9] MSc in Medical Bactriology, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

(Received February 24, 2020 ; Accepted May 3, 2021)

Abstract

Background and purpose: *Coxiella burnetii* infection (causative agent of Q fever) is a public health problem and a zoonotic disease with a global prevalence. The importance of zoonotic diseases and their impact on the health of people in a community is undeniable. The aim of this study was to investigate the prevalence of *Coxiella burnetii* in hard ticks isolated from livestock in different parts of South Khorasan, Iran.

Materials and methods: In summer 2019, ticks were collected from cattle, sheep, camels, and goats in five counties of South Khorasan province. The genus and species of hard ticks were identified after isolation from livestock. Nested-PCR was used to identify the bacterial genome.

Results: We identified two genera and six species, including *Rhipicephalus sanguineus* (41. 3%), *Hyalomma detritum* (8.9%), *Hyalomma marginatum* (2.2%), *Hyalomma anatolicum* (3.3%), *Hyalomma asiaticum* (0.9%), *Hyalomma dromedarii* (33.5%), and *Hyalomma* spp. (3.7%). *Hyalomma* nymphs (n=11, 4.1%) and *Rhipicephalus* nymphs (n= 3, 1.1%) were also identified. In the present study, none of the samples were infected with *Coxiella burnetii*.

Conclusion: The present study revealed that South Khorasan province is free from epidemic and endemic foci of *Coxiella burnetii.*

Keywords: *Coxiella burnetii*, zoonotic, hard ticks, Q fever, South Khorasan

J Mazandaran Univ Med Sci 2021; 31 (199): 42-52 (Persian).

* **Corresponding Author: Mehdi Rasekh -** Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
(E-mail: mrasekh@uoz.ac.ir)

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره سی و یکم شماره 199 مرداد سال 1400 (52-42)

تعیین فون کنه های سخت دامی و شناسایی مولکولی باکتری *کوکسیلا بورنتی* در آن ها به عنوان ناقلین بالقوه بیماری تب کیو در استان خراسان جنوبی

امیرسجاد جعفری[1]
مهدی راسخ[2]
امیرمسعود جعفری نوزاد[3]
سحر اسدالهی زوج[1]
داریوش سعادتی[4]
فائزه فقیهی[5]
زکیه تلمادره ای [6,7]
اسدالله حسینی چگنی[8]
منیژه روحنواز[9]

چکیده

سابقه و هدف: آلودگی با *کوکسیلا بورنتی* (عامل بیماری تب کیو) یک مشکل بهداشت عمومی و یک بیماری مشترک بین انسان و دام با شیوع جهانی است. اهمیت بیماری‌های زئونوز و تأثیر آن‌ها بر سلامت افراد جامعه، غیرقابل انکار است. هدف مطالعه حاضر بررسی شیوع باکتری *کوکسیلا بورنتی* در کنه‌های سخت جدا شده از دام‌های مناطق مختلف خراسان جنوبی است.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی، در 5 شهرستان استان خراسان جنوبی در تابستان 1398 نمونه‌برداری از دام‌های گاو، گوسفند، شتر و بز صورت گرفت. جنس و گونه کنه‌های سخت پس از جداسازی از دام‌ها، مورد شناسایی قرار گرفت. تکنیک Nested-PCR برای شناسایی ژنوم باکتریایی استفاده شد.

یافته‌ها: 2 جنس و 6گونه شامل *ریپیسفالوس سانگوئینوس* (41/3 درصد)، *هیالوما دتریتیوم* (8,9 درصد)، *هیالوما مارژیناتوم* (2/2 درصد)، *هیالوما آناتولیکوم* (3/3 درصد)، *هیالوما آسیاتیکوم* (0/9 درصد)، *هیالوما* درومداری (33/5 درصد) و سایر *هیالوما*ها (3/7 درصد) شناسایی شد. 11 عدد (4/1 درصد) نمف *هیالوما* و 3 عدد (1/1 درصد) نمف *ریپیسفالوس* نیز در نمونه ها شناسایی شدند. در مطالعه حاضر هیچ نمونه کنه‌ای آلوده به *کوکسیلا بورنتی* در استان خراسان جنوبی مشاهده نشد.

استنتاج: نتایج مطالعه انجام شده نشان می‌دهد که درحال حاضر، استان خراسان جنوبی از نظر وجود کانون‌های اپیدمیک و اندمیک باکتری *کوکسیلابورنتی* در کنه‌ها پاک است.

واژه های کلیدی: کوکسیلا بورنتی، زئونوتیک،کنه‌های سخت، تب کیو، خراسان جنوبی

مقدمه

تب کیو یا "تب کوئری" (Q fever) یک بیماری مشترک انسان و دام است که اولین بار در سال 1937 در استرالیا توصیف شد. تب کیو که از مدت‌ها پیش به عنوان یک بیماری نادر شناخته شده است، توسط باکتری

مولف مسئول: مهدی راسخ - زابل: دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی
E-mail: mrasekh@uoz.ac.ir
1. دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی زابل، زابل، ایران
2. استادیار، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
3. دانشجوی دکتری عمومی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران
4. استادیار، گروه تغذیه و اصلاح نژاد دام، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران
5. استادیار پژوهشی زیست شناسی، مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران
6. دانشیار، گروه حشره شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
7. دانشگاه راهیان نوین دانش ساری، ساری، ایران
8. استادیار، گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران
9. کارشناس ارشد باکتری شناسی پزشکی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران
تاریخ دریافت : 1399/12/6 تاریخ ارجاع جهت اصلاحات :1399/12/11 تاریخ تصویب : 1400/2/13

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

کوکسیلا بورنتی ایجاد می‌شود. گستره جغرافیایی بیماری بسیار زیاد و تقریبا از تمامی مناطق کره زمین (به جز نیوزلند) گزارش شده است(۱،۲). این انگل داخل سلولی از میزبان‌هایی همچون علفخواران اهلی، حیوانات خانگی، پرندگان، خزندگان و حتی بی‌مهرگانی مانند کنه‌ها جدا شده است. اگرچه علفخواران اهلی مانند بز، گاو وگوسفند مخازن اصلی *کوکسیلا بورنتی* در نظرگرفته می‌شوند، بندپایان (اغلب کنه‌ها) نیز در انتقال بیماری به انسان نقش مهمی برعهده دارند(2،3). بیماری عموما از طریق استنشاق آئروسل‌های آلوده به انسان منتقل می‌شود. جابه‌جایی *کوکسیلا بورنتی* در اثر وزش باد نیز رخ می‌دهد و بروز عفونت‌های انسانی کیلومترها دورتر از کانون‌های ابتدایی نیز محتمل است(4). این بیماری با طیف علایم گسترده، از بدون علامت تا کشنده، ظاهر می‌شود. تب کیو در انسان به خصوص افراد دچار بیماری‌های دریچه‌ای قلب، دارای نقص ایمنی و زنان باردار می‌تواند به‌عنوان یک بیماری حاد (پنومونی) یا به صورت یک بیماری مزمن (عمدتاً به‌صورت اندوکاردیت) ظاهر شود(۵،۶). ظهور علائم بیماری ناگهانی است و می‌توان آن را نوعی بیماری شغلی به حساب آورد که به‌طور معمول در پرورش‌دهندگان حیوانات، افراد مشغول به کار در واحدهای تولید شیر، کشتارگاه‌ها، کارخانه چرم و یا افراد شاغل در آزمایشگاه مشاهده می‌شود. درصد مرگ و میر در جمعیت انسانی 1 تا 2 درصد گزارش شده است(2،۵،7). *کوکسیلا بورنتی* (از شاخه *پروتوباکتریا*، رده جی *پروتوباکتریا*، راسته *لژیونلا* و خانواده *کوکسیلاسه‌ها*) یک کوکوباسیل گرم منفی درون سلولی است. این ارگانیسم در سلول‌های یوکاریوتی تکثیر می‌شود و تعداد 32 جدایه از *کوکسیلا بورنتی* شناسایی شده که در 6 گروه مجزا تقسیم‌بندی شده است(5،8). چرخه زندگی *کوکسیلا بورنتی* کاملاً مشخص نیست، اما انواع واریانت های سلولی کوچک (SCV) عفونت زا و واریانت‌های سلولی بزرگ (LCV) فعال متابولیکی به سادگی با میکروسکوپ‌های الکترونی قابل تشخیص هستند. واریانت‌های کوچک در برابر فشار و حرارت مقاوم هستند و در محیط زنده می‌مانند در حالی که واریانت‌های بزرگ در مونوسیت‌ها یا ماکروفاژهای میزبان تکثیر می‌شود. هر دو فرم باکتری از طریق تقسیم دوتایی تکثیر می‌شوند. پس از تکثیر و افزایش تعداد باکتری درون سلول، آلوده شدن سایر سلول‌ها با خروج باکتری به وسیله لیز سلولی یا اگزوسیتوز از سلول آلوده اتفاق می افتد(2،۷،9).

تب کیو به‌عنوان یک بیماری نوظهور در جهان مطرح است. به دلیل اختلافات اپیدمیولوژیک و اینکه بیماری چقدر دقیق قابل گزارش است، شیوع تب کیو از یک کشور به کشور دیگر بسیار متغیر است(5). به عنوان مثال، تب کیو ابتدا در سال 1999 در ایالات متحده به یک بیماری قابل گزارش تبدیل شد(10). در بسیاری از کشورهای آفریقایی بیماری در جمعیت انسانی گزارش شده است که نشان‌دهنده گسترده بودن وسعت بیماری در منطقه جغرافیایی قاره آفریقا می‌باشد(11). در هلند بین سال‌های 2007 و 2010 شیوع گسترده بیماری با بیش از 4000 مورد ابتلا، گزارش شد(5). در کشورهای همسایه ایران نیز مانند ترکیه، پاکستان و عراق پاتوژن از انسان و حیوانات جداسازی شده است و به عنوان یک مسئله مهم در گسترش بیماری‌های فرامرزی قابل تامل می‌باشد(14–12). با این وجود مطالعات اندکی در ارتباط با اپیدمیولوژی این پاتوژن در انسان و مواد غذایی و میزبانان بی‌مهره و مهره‌دار در ایران صورت گرفته است، به‌طوری که خلیلی و همکاران آن را بیماری فراموش شده در ایران می‌خوانند و از این رو یکی از بعدهای اهمیت تحقیق در ارتباط با این پاتوژن در بخش‌های مختلف ایران آشکار می‌شود(2).

کنه‌ها به لحاظ اقتصادی، مهم‌ترین انگل‌های خارجی می‌باشند و به‌دلیل مشکلات زیادی که به واسطه خونخواری برای انسان‌ها و حیوانات ایجاد می‌کنند به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. کنه‌ها به عنوان ناقلین پاتوژن‌ها در بین تمام مهره‌داران عمل می‌کنند و می‌توانند

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

گستره زیادی از پاتوژن‌ها را از جمله پروتوزوآ، باکتری‌ها، ریکتزیا و ویروس‌ها را جابه‌جا کنند(15). بیماری‌هایی از قبیل تب لکه‌ای کوه‌های راکی، تب کنه‌ای کلرادو، تب خون‌ریزی‌دهنده کریمه کنگو و تب کیو توسط کنه به انسان منتقل می‌شود. آلودگی به کنه می‌تواند باعث اختلالات شدیدی از جمله از دست دادن خون، استرس ناشی از گزش، آسیب‌های پوستی و فلجی شود. کنه‌های سخت ناقل اصلی *کوکسیلا بورنتی* در میان حیوانات هستند. مهم‌ترین جنس‌های کنه‌های سخت عبارت‌اند از ایکسودس، درماسنتور، آمبلیوما، همافیزالیس، هیالوما، ریپیسفالوس و بوفیلوس. این کنه‌ها پس از تغذیه از خون میزبان آلوده، قادر به انتقال *باکتری* بوده و همچنین به عنوان مخزن *کوکسیلا بورنتی* نیز به حساب می آیند. گزارش شده است که 49 گونه کنه می‌توانند به طور طبیعی توسط *کوکسیلا بورنتی* و گونه‌های جنس *کوکسیالسه* آلوده شوند. هرچند کنه‌ها نقشی اساسی در انتقال تب کیو بین انسان و حیوانات ندارند اما برای حفظ باکتری در چرخه انتقال طبیعی ضروری هستند(17،16،4).

با علم به زئونوتیک بودن *کوکسیلا بورنتی* و امکان ایجاد عوارض بالینی خطرناک در انسان و با در نظر گرفتن عدم وجود بررسی‌های جامع و قابل استناد قبلی در این زمینه، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع *کوکسیلا بورنتی* در کنه‌های سخت جدا شده از دام‌های اهلی استان خراسان جنوبی انجام شد تا با یافتن کانون‌های آلودگی و تعیین میزان آلودگی در کنه‌های سخت اطلاعاتی مستند به منظور تدوین برنامه‌های بهداشتی در جنوب شرقی ایران در آینده را ارائه نماید. علاوه بر این شیوع گونه‌های مختلف کنه‌های سخت نیز در این مطالعه بررسی شدند.

مواد و روش‌ها

نمونه گیری

استان خراسان جنوبی با مساحت حدود150 هزار کیلومتر مربع و آب و هوای گرم و خشک بین 57 درجه و 1 دقیقه تا 60 درجه و 57 دقیقه طول شرقی و 30 درجه و 32 دقیقه تا 34 درجه و 36 دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. خراسان جنوبی از شمال با استان خراسان رضوی، از غرب با استان‌های یزد، اصفهان و سمنان، از شرق با کشور افغانستان و از جنوب با استان‌های سیستان و بلوچستان و کرمان مرز مشترک دارد. در این مطالعه که از نوع مقطعی می‌باشد از 684 دام شامل 302 گوسفند، 344 بز، 16 گاو و 22 شتر در 5 شهرستان استان خراسان جنوبی شامل بیرجند (390 عدد)، سربیشه (60 عدد)، خوسف (99 عدد)، در میان (45 عدد) و قائن (90 عدد) در بازه زمانی تاستان 1398 نمونه‌برداری صورت گرفت. افزایش شیوع کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از آن‌ها در فصول گرم سال خصوصا تابستان باعث شد تا این فصل برای نمونه‌گیری انتخاب شود. برای نمونه‌گیری‌ها از روش نمونه‌گیری تصادفی ساده استفاده شد؛ بدین صورت که از هر شهرستان حداقل یک روستا به تصادف و از هر روستا 3 الی 5 واحد نگهداری دام به صورت تصادفی، جهت جمع‌آوری نمونه کنه انتخاب شد.

روش جمع‌آوری، نگهداری و تشخیص جنس وگونه کنه‌ها

قسمت‌های مختلف بدن از جمله لاله گوش، کشاله ران، قاعده دم و پشت بدن، شکم و نقاط دارای پشم مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به این‌که کنه‌ها باید سالم و زنده جمع‌آوری می‌ش«دند، نمونه«ا با استفاده از پنس از بدن دام‌های موردنظر جدا و به درون لوله‌های مخصوص انتقال داده شدند و سپس با درج مشخصات دام شامل سن، جنس، کد دام، نام روستا و تاریخ جمع‌آوری کنه‌ها با حفظ زنجیره سرد به آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل شدند. برای مشخص نمودن جنس و گونه‌ی کنه‌ها، ویژگی‌های مورفولوژی کنه‌ها زیر لوپ بررسی و از کلیدهای معتبر جهت تشخیص استفاده شد(18).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

تست های مولکولی

200 کنه از میان کنه‌های صید شده برای آزمایشات مولکولی انتخاب شدند. کنه‌ها له و هموژن شده و استخراج DNA توسط کیت استخراج Exgen (Gene all، کره جنوبی) صورت پذیرفت. تکنیک Nested-PCR با استفاده از پرایمرهای استفاده شده در مطالعه بشیری بد و همکاران(4) برای تکثیر ژنوم باکتریایی استفاده شد. کنترل مثبت تست، سویه لیوفیلیزه فاز یک Nine mile کشته شده با فنل و سپس خالص‌سازی شده بود.

تجزیه و تحلیل داده ها

داده ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS23 و GraphPad Prism8 تجزیه و تحلیل شدند. رابطه بین متغیرها با آزمون آماری Likelihood Ratio Chi Square و سطح اطمینان 95 درصد بررسی شدند.

یافته ها

در این مطالعه از 684 دام بررسی شده تنها 104 دام به کنه آلوده بودند (15 درصد) که از دام‌های آلوده درمجموع 269 کنه جمع‌آوری شد. میانگین آلودگی به کنه برای هر راس دام برابر با 0/39 می‌باشد. از کل کنه‌های جمع آوری شده 97 عدد (36/4 درصد) از گوسفند، 89 عدد (32/7 درصد) از بز، 72 عدد (26/8 درصد) از شتر و 11 عدد (4 درصد) از گاو و جدا گردید. 2 جنس و 6 گونه شناسایی شدند جنس‌ها شامل 155عدد (58 درصد) *هیالوما* و 114 عدد (42 درصد) *ریپیسفالوس* و گونه‌ها شامل 111 عدد *ریپیسفالوس سانگوئینوس* (41/3 درصد)، 24 عدد *هیالوما دتریتیوم* (8/9 درصد)، 6 عدد *هیالوما مارژیناتوم* (2/2درصد)، 9 عدد *هیالوما آناتولیکوم* (3/3 درصد)، 5 عدد *هیالوما آسیاتیکوم* (0/09 درصد)، 90 عدد *هیالوما* درومداری (33/5 درصد) و 10 عدد سایر *هیالوما*ها (3/7 درصد) بودند. 11 عدد (4/1 درصد) نمف *هیالوما* و 3 عدد (1/1 درصد) نمف *ریپیسفالوس* نیز در نمونه‌ها شناسایی شدند. جنس *هیالوما* و گونه *ریپیسفالوس سانگوئینوس* بیش‌ترین فراوانی را تشکیل دادند. کم‌ترین فراوانی نیز در جنس *ریپیسفالوس* و *گونه‌ی هیالوما آسیاتیکوم* مشاهده شد (جدول شماره1).

جدول شماره 1: فراوانی گونه کنه بر اساس میزبان

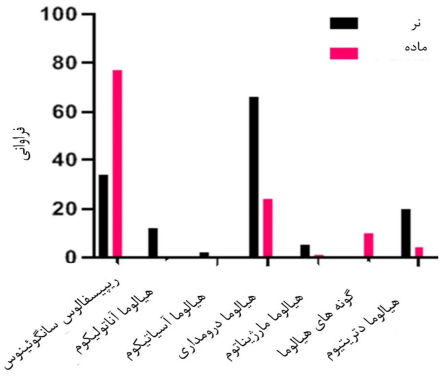
جنس و گونه کنه	میزبان				
	شتر	گوسفند	بز	گاو	جمع کل
	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)	تعداد (درصد)
ریپیسفالوس سانگوئینوس	0 (0)	36 (37)	75 (84)	0 (0)	111 (41)
هیالوما آناتولیکوم	2 (2)	4 (4)	1 (1)	2 (2)	9 (3)
هیالوما آسیاتیکوم	0 (0)	3 (3)	1 (1)	1 (1)	5 (1)
هیالوما درومداری	54 (77)	23 (23)	7 (7)	6 (6)	90 (33)
هیالوما مارژیناتوم	1 (1)	4 (4)	1 (0)	0 (0)	6 (2)
هیالوما دتریتیوم	0 (0)	23 (2)	1 (0)	0 (0)	24 (8)
گونه های هیالوما	5 (4)	1 (1)	3 (3)	2 (2)	10 (3)
نمف ریپیسفالوس	0 (0)	3 (3)	0 (0)	0 (0)	3 (1)
نمف هیالوما	15 (11)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	11 (4)
جمع کل	72 (100)	97 (100)	89 (100)	11 (100)	269 (100)

فراوان‌ترین گونه در شتر و گاو *هیالوما درومداری* و در بز و گوسفند *ریپیسفالوس سانگوئینوس* به دست آمده است. آزمون آماری نشان داد که شیوع آلودگی به کنه های مختلف در میزبان های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارد (P <0/001). فراوانی هر گونه بر اساس منطقه جغرافیایی در جدول شماره 2 ارائه شده است. فراوان‌ترین گونه در سربیشه، خوسف و درمیان *ریپیسفالوس سانگوئینوس* و در قائن و بیرجند *هیالوما درومداری* بود. همچنین مشخص شد که شیوع آلودگی به کنه‌های مختلف در مناطق جغرافیایی مختلف، تفاوت آماری معنی‌داری نشان می‌دهد (P <0/001). تعداد کنه های بالغ نرو بالغ ماده به ترتیب برابر با 125 (46/5 درصد) و 144 (53/5 درصد) بوده است. نمف ها نیز به عنوان یک مرحله از زندگی در کنار کنه های نر و ماده بالغ مقایسه شدند. تعداد کنه‌های نر، ماده و نمف جمع‌آوری شده به ترتیب عبارت بودند از 140 (52 درصد)، 116(43 درصد) و 14(5 درصد). نمودار شماره 1 فراوانی گونه کنه بر اساس جنسیت را نشان می‌دهد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

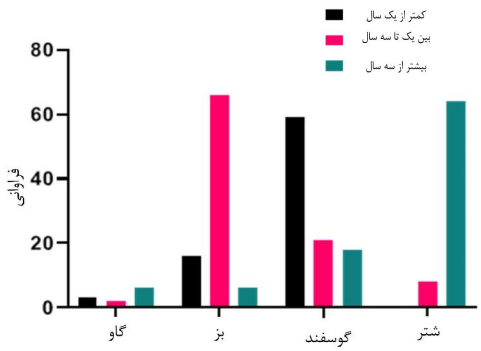
جدول شماره 2: فراوانی گونه کنه بر اساس محل جمع آوری

جنس و گونه کنه	محل جمع آوری کنه											
	درمیان		قائن		خوسف		بیرجند		سربیشه		جمع کل	
	تعداد (درصد)		تعداد (درصد)		تعداد (درصد)		تعداد (درصد)		تعداد (درصد)		تعداد (درصد)	
ریپیسفالوس سانگوئینوس	5 (55/5)	6	33,33	55	56,70	28	21,87	9 (100)		111	41,26	
هیالوما آناتولیکوم	0 (0)		0 (0)		0 (0)		9 7,03	0 (0)		9	3,34	
هیالوما آسیاتیکوم	0 (0)		0 (0)		0 (0)		5 3,90	0 (0)		5	1,85	
هیالوما درومداری	1 (11/11)	9	50	25	25,77	55	42,96	0 (0)		90	33,45	
هیالوما مارژیناتوم	0 (0)	3	16,66		0 (0)	3	2,34	0 (0)		6	2,23	
هیالوما دتریتیوم	0 (0)		0 (0)		0 (0)	24	17,75	0 (0)		24	8,92	
گونه های هیالوما	1 (11/11)		0 (0)		3 3,09	6	4	0 (0)		10	3,71	
نمف ریپیسفالوس	2 (22/22)		0 (0)		0 (0)	1	0,78	0 (0)		3	1,11	
نمف هیالوما	0 (0)		0 (0)		11 11,34	2	1,56	0 (0)		11	4,08	
جمع کل	9 (100)		19 (100)		97 (100)		128 (100)	9 (100)		269 (100)		



نمودار شماره 1: فراوانی کنه های جمع آوری شده بر اساس جنسیت

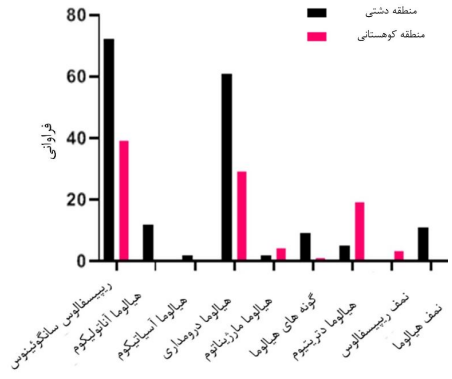
در تمامی گونه ها به جز *ریپیسفالوس سانگوئینس* و سایر گونه‌های *هیالوما* فراوانی جنس نر بیش‌تر از جنس ماده بود. تست آماری نشان داد میان مراحل مختلف زندگی کنه‌ها و جنسیت آن‌ها، تفاوت آماری معنی‌دار وجود دارد (P <0/001). نمودار شماره 2 آلودگی دام‌ها به کنه بر اساس سن را نشان می‌دهد.



نمودار شماره 2: فراوانی کنه بر اساس میزبان

فراوانی شتر و گاوهای آلوده عموما در بازه سنی بیش‌تر از سه سال و گوسفندها و بزهای آلوده در بازه کم‌تر از سه سال مشاهده شد. در میزبان‌های مختلف نیز رابطه معنی‌دار آماری میان گروه‌های مختلف مشاهده شد (P <0/001).

بررسی‌ها نشان داد که رابطه معنی‌داری از نظر آماری میان ارتفاع محل جمع‌آوری (کوهستانی یا دشتی) با شیوع گونه‌ها وجود دارد که مقایسه آن در نمودار شماره 3 آمده است (P <0/001). تمام گونه‌ها به جز *هیالوما دتریتیوم* و *هیالوما مارژیناتوم* در دشت بیش‌تر جمع‌آوری شده‌اند.



نمودار شماره 3: فراوانی کنه بر اساس ارتفاع منطقه جمع آوری

آزمایش Nested-PCR

از 200 کنه تست شده برای شناسایی مولکولی *کوکسیلا بورنتی*، هیچ‌کدام آلوده به باکتری نبودند.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

بحث

کنه‌های سخت دارای انتشار جهانی بوده و از شایع‌ترین گونه‌های بندپایان می‌باشند. کنه‌ها انگل خارجی و اجباری مهره‌داران بوده و درانتقال عوامل بیماری‌زایی همچون ویروس‌ها، باکتری‌ها و انگل‌ها و آلوده کردن گونه‌های مختلف حیوانات و انسان نقش برجسته‌ای دارند. به‌دلیل انتقال پاتوژن‌ها، بیماری‌زایی و آسیب‌های اقتصادی، مطالعه فون انگلی از اهمیت زیادی در پزشکی و دامپزشکی برخوردار است(3). در استان خراسان جنوبی گونه غالب ریپیسفالوس سانگوئینوس و در درجات بعد به‌ترتیب هیالوما درومداری و هیالوما دتریتیوم شناسایی شد.

بخشایی و همکاران با بررسی 224 کنه در شهرستان جیرفت و کهنوج استان کرمان، اظهار کردند که بیش‌ترین آلودگی نمونه‌ها به دو جنس *هیالوما* و *ریپیسفالوس* تعلق داشت(19).

چم پور و همکاران با بررسی شیوع کنه‌های سخت در میزبان شتر تک کوهانه در منطقه خراسان، گونه غالب را *هیالوما درومداری گزارش کردند*(20). در بررسی حاضر گونه *هیالوما درومداری* دومین گونه غالب می‌باشد. علت این تفاوت ممکن است ناشی از محدود بودن مطالعه چم‌پور و همکاران به یک میزبان باشد. نعمان و همکاران با جدا کردن و بررسی 1109 کنه از دام‌های استان اصفهان، متوجه شدند کنه ها متعلق به سه جنس *هیالوما*، *ریپیسفالوس* و *بوفیلوس* بودند. گونه *هیالوما* با 45/8 درصد و *ریپیسفالوس سانگینوس* با 31/3 درصد بیش‌ترین فراوانی را داشتند(21).

جعفربکلو و همکاران با مطالعه بر روی دام‌های اهلی در نوار مرزی افغانستان، گونه‌های غالب کنه سخت درشهر قاین را به ترتیب *هیالوما آناتولیکوم*، *هیالوما آسیاتیکوم* و *هیالوما مارژیناتوم* اعلام کردند(22). اسمعیل‌نژاد با بررسی 365 عدد بز در شهرستان مشکین شهر نشان داد تعداد 149 بز حداقل به یک گونه کنه آلوده بودند. شایع‌ترین گونه‌ها شامل *هیالوما آناتولیکوم* (33/9 درصد)، *ریپیسفالوس سانگوئینوس* (22/1 درصد)، *ریپیسفالوس تورانیکوس*(17/1 درصد) و *هیالوما اکسکاواتوم* (11/1 درصد) بودند. گونه‌های *ریپیسفالوس بورسا*، *هیالوما دتریتوم*، *هیالوما درومداری*، *هیالوما آسیاتیکوم* *آسیاتیکوم* و *هیالوما مارژیناتوم* به ترتیب در رده‌های بعدی قرار داشتند(3).

گنجعلی و همکاران در سال 2012، مطالعه‌ای به منظور مشخص کردن توزیع گونه‌های کنه سخت در شهر زابل انجام دادند. در این مطالعه ریپیسفالوس سانگوئینوس (21/2 درصد) وهیالوما درومداری (17/3 درصد) گونه‌های غالب را تشکیل دادند که با نتایج مطالعه حاضر همسو است(23).

در مطالعه دیگری که در استان یزد بر روی کنه‌های سخت نشخوارکنندگان اهلی صورت گرفت، فون غالب انگلی شامل *هیالوما درومداری* (55/92 درصد)، *هیالوما مارژیناتوم* (13/20 درصد)، *هیالوما آناتولیکوم* (9/78 درصد) و *هیالوما دتریوم* (4/98 درصد) به‌دست آمد(24). هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه قشقائی و همکاران که در سال 2019 دراستان ایلام و بر روی نشخوارکنندگان صورت گرفت، جنس‌های غالب منطقه *هیالوما* و *ریپیسفالوس* بیان شد(25).

در بررسی 1725 کنه سخت جدا شده از گوسفندان و بزهای شهرستان صالح آباد تربت جام استان خراسان رضوی توسط یخچالی و همکاران، چهار جنس کنه شناسایی شدند که جنس *هیالوما* با دو گونه *آسیاتیکوم* و *مارژیناتوم* بیش‌ترین تنوع گونه‌ای را داشتند. بیش‌ترین فراوانی نیز به کنه *هیالوما مارژیناتوم* با 80 درصد آلودگی و سپس *ریپیسفالوس* با 15 درصد آلودگی گزارش شده است(26).

مطالعات پیشین در کشورهای همسایه ایران از جمله پاکستان، ترکیه و عربستان سعودی نیز گسترش و غالب بودن جمعیت انگلی *هیالوما* و *ریپیسفالوس* در این کشورها را گزارش کرده‌اند(30-27). این نتایج بیانگر غالب بودن فون *هیالوما* و *ریپیسفالوس* در آسیا می‌باشد.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

حال آن‌که مطالعات بیانگر غالبیت *ایکسودس* در اروپا می‌باشند(31).

لازم به ذکر است که در پاره‌ای از موارد اختلافات جزئی *میان* نتایج تحقیق حاضر با نتایج مطالعات پیشین وجود دارد. به‌عنوان مثال در مطالعه حاضر تنها دو جنس *هیالوما* و *ریپیسفالوس* شناسایی شدند در حالی که در مطالعات پیشین سایر جنس‌ها از جمله *همافیزالیس* نیز شناسایی شده بودند. این اختلافات را می‌توان با توجه به متنوع بودن اقلیم‌های آب و هوایی، اختلاف در فصول و مکان نمونه‌گیری، حجم نمونه، جا به جایی دام‌ها و به‌کارگیری روش‌های متفاوت در حذف ناقلین در هر منطقه تا حدودی توجیه کرد.

درمطالعه حاضر بیش‌ترین آلودگی به کنه در گوسفند و بز در سن کم‌تر از 3 سال مشاهده شد درحالی که در گاو و شتر بیش‌تر از 3 سال، بیش‌ترین آلودگی را داشتند. این امر را می‌توان با توجه به عدم نگهداری گوسفند و بزهای گوشتی بیش‌تر از سه سال به علت ذبح و نگهداری گاوها و خصوصا شترها تا سنین بالا برای مقاصد مختلف از جمله شیردوشی و تولید مثل عنوان کرد.

در بررسی دام‌های اهلی استان خراسان جنوبی، از 200 نمونه تست شده کنه سخت، هیچ ژنوم باکتری *کوکسیلا بورنتی* شناسایی نشد. نتیجه منفی به‌دست آمده در این بررسی با نتایج بشیری بد و همکاران در یک راستا است. آن‌ها بیان کردند از مجموع 1052 نمونهٔ مورد بررسی (شامل نمونه خون انسان، گوسفند، گاو، بز، سگ و جوجه تیغی) و 605 عدد کنه سخت از 5 گونه متفاوت، هیچ نمونه مثبت *کوکسیلا بورنتی* در غرب استان مازندران مشاهده نشد(4).

با این حال، مطالعات پیشین شیوع بالایی از *کوکسیلا بورنتی* را در نمونه‌های کنه سخت در استان‌های همسایه از جمله کرمان و سیستان و بلوچستان و همچنین برخی دیگر از استان‌های غربی کشور گزارش کرده‌اند. اسمعیل‌نژاد با بررسی کنه‌های جدا شده از بزهای شهرستان مشکین شهر استان اردبیل، وجود *کوکسیلا بورنتی* در گونه‌های *هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم*، *هیالوما اکسکاواتوم*، *هیالوما آسیاتیکوم آسیاتیکوم*، *هیالوما مارژیناتوم*، *هیالوما دتریتوم*، *هیالوما دروماداری*، *ریپیسفالوس تورانیکوس*، *ریپیسفالوس بورسا* و *ریپیسفالوس سانگوئینوس* گزارش کردند(3). نورالهی فرد با بررسی کنه‌های جمع‌آوری شده از دام‌های استان کرمان، شیوع آلودگی را 13 درصد و قشقایی با بررسی کنه‌های سخت استان سیستان و بلوچستان 57 درصد آلودگی را گزارش کرده‌اند(15،17).

در مطالعه خلیلی و همکاران نیز 12/5 درصد از کنه‌های *ریپیسفالوس سانگوئینوس* جدا شده از سگ‌های منطقه‌ای در کرمان، آلوده به *کوکسیلا بورنتی* بودند(32). اخیرا خادمی و همکاران با بررسی نمونه سرم 200 اسب در شمال ایران نشان دادند 15 نمونه (7/5 درصد) از نظر آلودگی به *کوکسیلا بورنتی* مثبت بودند(33). دوستی نیز با بررسی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز نمونه خون 130 راس شتر نشان داد 14 (10/76درصد) آن‌ها آلوده به این باکتری بودند(34). شیوع *کوکسیلا بورنتی* در شیر باعث مطرح شدن این باکتری به عنوان یک خطر مهم برای سلامتی افراد در ایران شده است. در یک مقاله مروری که توسط اسماعیلی و همکاران در سال 2019 منتشر شده است فراوانی باکتری *کوکسیلا بورنتی* در نمونه‌های شیر گاو، بز، گوسفند و شتر به ترتیب، 15/1، 7/8، 3/8 و 1/4 درصد تخمین زده شد. همچنین بیان شد این پاتوژن در 34/78 درصد نمونه شیر گوسفندان استان خراسان رضوی شناسایی شده است(35).

با مقایسه نتایج مطالعه حاضر با مطالعات پیشین انجام شده در سایر کشورها، نتایج ما همسو و در تشابه با نتایج منفی کشورهای آلمان، لهستان، آفریقای جنوبی و مصر می‌باشد. (38–36). با این حال مطالعات دیگر از شیوع آلودگی به *کوکسیلا* در کنه‌های سخت مناطق مختلف دنیا حکایت دارد(41–39).

با در نظر گرفتن نتایج به‌دست آمده از مطالعه حاضر و بررسی‌های مولکولی می‌توان نتیجه‌گیری کرد

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

که در شرایط فعلی، استان خراسان جنوبی از نظر وجود کانون‌های اندمیک باکتری *کوکسیلابورنتی* در میزبان کنه، پاک است. این نکته نیز حایز اهمیت است که چرخه *کوکسیلا بورنتی* در میزبانان بی‌مهره در هر منطقه، متفاوت بوده و بر این اساس، تفاوت‌های بسیاری در میزان شیوع *کوکسیلا* در مطالعات پیشین در مناطق جغرافیایی مختلف گزارش شده است. با توجه به این‌که ممکن است دام‌ها آلوده به پاتوژن بوده باشند و به هر دلیلی انتقال پاتوژن به کنه‌های جمع‌آوری شده رخ نداده باشد، توصیه می‌شود علاوه بر مطالعه ناقلین بندپا، مطالعات مولکولی و سرولوژی بر روی نمونه‌های خونی میزبان مهره‌دار، همراه با بررسی محصولات دامی مثل شیر برای روشن شدن هرچه بهتر وضعیت اپیدمیولوژیک این باکتری در منطقه انجام شود. با توجه به اهمیت بیماری به علت مشترک بودن بین انسان و دام و آلودگی نقاط هم مرز، پایش مستمر دام‌ها و ناقلین بی مهره و مشاغل پرخطر (پزشکان، دامپزشکان، دامداران، افراد شاغل در کشتارگاه) در مناطق اندمیک و مناطق مجاور آن‌ها صورت پذیرد و دام‌های آلوده کشتار و معدوم گردند. همچنین کنترل ناقلین خصوصا در مناطق با آب و هوای گرم در کنترل بیماری موثر خواهد بود.

سپاسگزاری

نویسندگان از دانشگاه زابل به علت فراهم نمودن منابع مالی پروژه تحقیقاتی حاضر، کمال تشکر خود را بیان می‌کنند (UOZ-GR-9618-159 و UOZ-GR-9618-141). این مقاله با کد اخلاق (IR-UOZ-REC-1399-0010) در کمیته اخلاق دانشگاه زابل به ثبت رسیده است.

References

1. Angelakis E, Raoult D. Q fever. Vet Microbiol 2010; 140(3-4): 297-309.
2. KHalili M, SHahabinejhad N, Aflatoniyan MR. Q fever a forgotten disease in Iran. J Kerman Univ Med Sci 2011; 17(1): 93-97 (Persian).
3. Esmaeilnejad B, Gharekhani J, Rezaei ASH. Molecular detection of Coxiella burnetii in ticks isolated from goats of Meshkin-Shahr County, Ardabil Province, Iran. Nov Biol Reper 2020; 7(3): 315-321.
4. Bashiribod H, Rahbarian N, Eslami G, Kazemi B, Jannatsharif E, Mahmoudirad M, et al. Prevalence of coxiella burnetii in human, animal hosts and hard ticks in west mazandaran province Iran, 2003-4. Research in Medicine 2008; 32(3): 253-257.
5. Eldin C, Melenotte C, Mediannikov O, Ghigo E, Million M, Edouard S, et al. From Q fever to Coxiella burnetii infection: a paradigm change. Clin Microbiol Rev 2017; 30(1): 115-190.
6. Million M, Raoult D. Recent advances in the study of Q fever epidemiology, diagnosis and management. J Infect 2015; 71: S2-S9.
7. Parker NR, Barralet JH, Bell AM. Q fever. Lancet 2006; 367(9511): 679-688.
8. Kazar J. Coxiella burnetii Infection. Ann N Y Acad Sci 2005; 1063(1): 105-114.
9. Maurin M, Raoult D fever. Q fever. Clin Microbiol Rev 1999; 12(4): 518-553.
10. McQuiston JH, Holman RC, McCall CL, Childs JE, Swerdlow DL, Thompson HA. National surveillance and the epidemiology of human Q fever in the United States, 1978-2004. Am J Trop Med Hyg 2006; 75(1): 36-40.
11. Kaplan MM, Bertagna P. The geographical distribution of Q fever. Bull World Health Organ 1955; 13(5): 829-860.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

12. Karagul MS, Malal ME, Akar K. Seroprevalence of Q fever in sheep and goats from the Marmara region, Turkey. J Vet Res 2019; 63(4): 527-532.
13. Zahid MU, Hussain MH, Saqib M, Neubauer H, Abbas G, Khan I, et al. Seroprevalence of Q fever (Coxiellosis) in small ruminants of two districts in Punjab, Pakistan. Vector-Borne Zoonotic Dis 2016; 16(7): 449-454.
14. Faix DJ, Harrison DJ, Riddle MS, Vaughn AF, Yingst SL, Earhart K, et al. Outbreak of Q fever among US military in western Iraq, June–July 2005. Clin Infect Dis 2008; 46(7): e65-e68.
15. Fard SRN, Khalili M. PCR-detection of Coxiella burnetii in ticks collected from sheep and goats in southeast Iran. Iran J Arthropod Borne Dis 2011;5(1):1-6 16.
16. Arthur DR. Ticks and disease. Oxford :Pergamon Press Oxford; 1962.
17. Ghashghaei O, FARD SRN, Khalili M, Sharifi H. A survey of ixodid ticks feeding on cattle and molecular detection of Coxiella burnetii from ticks in Southeast Iran. Turkish J Vet Anim Sci 2017;41(1): 46-50.
18. Hosseini-Chegeni A, Tavakoli M, Telmadarraiy Z. The updated list of ticks (Acari: Ixodidae & Argasidae) occurring in Iran with a key to the identification of species. Syst Appl Acarol 2019; 24(11): 2133-2166.
19. Bakhshai A, Askari N, Etebar F, Ebrahimzade E. Hard ticks fauna in the area of domestic ruminants and Kohnuj Jiroft, Kerman Province, Iran. J Veterinary Laboratory Research 2012; 4(1): 145-149 (Persian).
20. Champour M, Chinikar S, Mohammadi G, Razmi G, Mostafavi E, Shah-Hosseini N, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in the one-humped camel (Camelus dromedarius) in East and Northeast of Iran. J Arthropod Borne Dis 2016; 10(2): 168-177.
21. Noaman V, Abdi Gm, Nabinezhad Aar, Heydari Mr, Khalilifard M. Identification of hard ticks of domestic ruminants in two ecological zones of Isfahan province, Iran. Pajouhesh-Va-Sazandegi 2008; 20(4): 88-95.
22. Jafarbekloo A, Bakhshi H, Faghihi F, Telmadarraiy Z, Khazeni A, Oshaghi MA, et al. Molecular detection of Anaplasma and Ehrlichia infection in ticks in borderline of Iran-Afghanistan. J Biomed Sci Eng 2014; 7(11): 919-926.
23. Ganjali M, Dabirzadeh M, Sargolzaie M. Species diversity and distribution of ticks (Acari: Ixodidae) in Zabol County, eastern Iran. J Arthropod Borne Dis 2014; 8(2): 219-223.
24. Telmadarraiy Z, Vatandoost H, Chinikar S, Oshaghi MA, Moradi M, Ardakan EM, et al. Hard ticks on domestic ruminants and their seasonal population dynamics in Yazd Province, Iran. Iran J Arthropod Borne Dis 2010; 4(1): 66-71.
25. Ghashghaei O, Yakhchali M, Nourollahi-Fard SR. Hard ticks (Acari: Ixodidae) Infestation in Ruminants of Some Areas in Ilam Province, Iran. Journal of Veterinary Research 2019; 74(3): 322-329.
26. Yakhchali M, Ranjbargarmabolia B. Ixodid ticks fauna in sheep and goats flocks in Torbatejam suburb (South Khorasan province), Iran. Pajouhesh-Va-Sazandegi 2008; 21(3): 27-32.
27. Alanazi A, Al-Mohamed H, Alysousif M, Puschendorf R, Abdel-Shafy S. Ticks (Acari: Ixodidae) infesting domestic and wild mammalians on the Riyadh Province, Saudi Arabia. J Entomol 2018; 15(2): 75-82.
28. Ramzan M, Naeem-Ullah U, Saba S, Iqbal N, Saeed S. Prevalence and identification of tick

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]

species (Ixodidae) on domestic animals in district Multan, Punjab Pakistan. Int J Acarology 2020; 46(2): 83-87.

29. Aydin L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res 2007; 101(2): 163-166.
30. Bursali A, Keskin A, Tekin S. A review of the ticks (Acari: Ixodida) of Turkey: species diversity, hosts and geographical distribution. Exp Appl Acarol 2012; 57(1): 91-104.
31. Abdoli R, Sedaghat MM, Oshaghi MA, Edalat H, Telmadarraiy Z, Azarmi S, et al. The Distribution of Hard Ticks as a Vector of Crimean-Congo Hemorrhagic Fever in the Border Areas in the North West of Iran. Scientific Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research 2019; 17(1): 71-82.
32. Khalili M, Rezaei M, Akhtardanesh B, Abiri Z, Shahheidaripour S. Detection of Coxiella burnetii (Gammaproteobacteria: Coxiellaceae) in ticks collected from infested dogs in Kerman, Southeast of Iran. Persian J Acarol 2018; 7(1): 93-100.
33. Khademi P, Ownagh A, Ataei B, Kazemnia A, Eydi J, Khalili M, et al. Molecular detection of Coxiella burnetii in horse sera in Iran. Comp Immunol Microbiol Infect Dis 2020; 72: 101521.
34. Doosti A, Arshi A, Sadeghi M. Investigation of Coxiella burnetii in Iranian camels. Comp Clin Path 2014; 23(1): 43-46.
35. Esmaeili S, Mobarez AM, Khalili M, Mostafavi E, Moradnejad P. Molecular prevalence of Coxiella burnetii in milk in Iran: a systematic review and meta-analysis. Trop Anim Health Prod 2019; 51(6): 1345-1355.
36. Halajian A, Palomar AM, Portillo A, Heyne H, Luus-Powell WJ, Oteo JA. Investigation of Rickettsia, Coxiella burnetii and Bartonella in ticks from animals in South Africa. Ticks Tick Borne Dis 2016; 7(2): 361-366.
37. Ghoneim NH, Abdel-Moein KA, Zaher HM, Abuowarda MM. Investigation of Ixodidae ticks infesting camels at slaughterhouse and its potential role in transmitting Coxiella burnetii in Egypt. Small Ruminant Res 2020; 191: 106173.
38. Khoo J-J, Lim F-S, Chen F, Phoon W-H, Khor C-S, Pike BL, et al. Coxiella detection in ticks from wildlife and livestock in Malaysia. Vector-Borne Zoonotic Dis 2016; 16(12): 744-751.
39. Dhaka P, Malik SVS, Yadav JP, Ghosh S, Kumar M, Barbuddhe SB, et al. Molecular investigation of the status of ticks on infected cattle for Coxiella burnetii in India. Acta Parasitol 2020; 65(3): 779-782.
40. Bolaños-Rivero M, Carranza-Rodríguez C, Rodríguez NF, Gutiérrez C, Pérez-Arellano J-L. Detection of Coxiella burnetii DNA in peridomestic and wild animals and ticks in an endemic region (Canary Islands, Spain). Vector-Borne Zoonotic Dis 2017; 17(9): 630-634.
41. Mediannikov O, Fenollar F, Socolovschi C, Diatta G, Bassene H, Molez J-F, et al. Coxiella burnetii in humans and ticks in rural Senegal. PLoS Negl Trop Dis 2010; 4(4): e654.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2024-06-12]