

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 Jafari¹,
Mehdi Rasekh²,
Amir masood Jafari nozad³,
Sahar Asadolahi zoj¹,
Dariush Saadati⁴,
Faezeh Faghihi⁵,
Zakkyeh Telmadarraiy^{6,7},
Asadollah Hosseini-Chegeni⁸,
Manizhe Roohnavaz⁹

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)

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

امیر سجاد جعفری¹

مهدی راسخ²

امیر مسعود جعفری نوزاد³

سحر اسدالهی زوج⁴

داریوش سعادت⁵

فائزه فقیهی⁶

زکیه تلمادره ای^{7,6}

اسدالله حسینی چگنی⁸

منیژه روحنواز⁹

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 بیماری های زئونوز و تأثیر آن ها بر سلامت افراد جامعه، غیر قابل انکار است. هدف مطالعه حاضر بررسی شیوع باکتری کوکسیلا بورنتی در کنه های سخت جدا شده از دام های مناطق مختلف خراسان جنوبی است.

مواد و روش ها: در این مطالعه مقطعی، در 5 شهرستان استان خراسان جنوبی در تابستان 1398 نمونه برداری از دام های گاو، گوسفند، شتر و بز صورت گرفت. جنس و گونه کنه های سخت پس از جداسازی از دام ها، مورد شناسایی قرار گرفت. تکنیک Nested-PCR برای شناسایی ژنوم باکتریایی استفاده شد.

یافته ها: 2 جنس و 6 گونه شامل ریپیسفالوس سانگوئینوس (41/3 درصد)، هیالوما دتریتیوم (8/9 درصد)، هیالوما مارژیناتوم (2/2 درصد)، هیالوما آنتولیکوم (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 کنه ای آلوده به کوکسیلا بورنتی در استان خراسان جنوبی مشاهده نشد. **استنتاج:** نتایج مطالعه انجام شده نشان می دهد که در حال حاضر، استان خراسان جنوبی از نظر وجود کانون های اپیدمیک و اندمیک باکتری کوکسیلا بورنتی در کنه ها پاک است.

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

مقدمه

استرالیا توصیف شد. تب کیو که از مدت ها پیش به عنوان یک بیماری نادر شناخته شده است، توسط باکتری

تب کیو یا "تب کوثری" (Q fever) یک بیماری مشترک انسان و دام است که اولین بار در سال 1937 در

E-mail: mrasekh@uoz.ac.ir

مؤلف مسئول: مهدی راسخ - زابل: دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی

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

کوکسیلا بورنتی ایجاد می شود. گستره جغرافیایی بیماری بسیار زیاد و تقریباً از تمامی مناطق کره زمین (به جز نیوزلند) گزارش شده است (۲،۱). این انگل داخل سلولی از میزبان‌هایی همچون علفخواران اهلی، حیوانات خانگی، پرندگان، خزندگان و حتی بی مهرگانی مانند کنه‌ها جدا شده است. اگرچه علفخواران اهلی مانند بز، گاو و گوسفند مخازن اصلی کوکسیلا بورنتی در نظر گرفته می شوند، بندپایان (اغلب کنه‌ها) نیز در انتقال بیماری به انسان نقش مهمی برعهده دارند (۳،۲). بیماری عموماً از طریق استنشاق آئروسل‌های آلوده به انسان منتقل می شود. جابه جایی کوکسیلا بورنتی در اثر وزش باد نیز رخ می دهد و بروز عفونت‌های انسانی کیلومترها دورتر از کانون‌های ابتدایی نیز محتمل است (۴). این بیماری با طیف علایم گسترده، از بدون علامت تا کشنده، ظاهر می شود. تب کیو در انسان به خصوص افراد دچار بیماری‌های دریچه‌ای قلب، دارای نقص ایمنی و زنان باردار می تواند به عنوان یک بیماری حاد (پنومونی) یا به صورت یک بیماری مزمن (عمدتاً به صورت اندوکاردیت) ظاهر شود (۵،۶). ظهور علائم بیماری ناگهانی است و می توان آن را نوعی بیماری شغلی به حساب آورد که به طور معمول در پرورش دهندگان حیوانات، افراد مشغول به کار در واحدهای تولید شیر، کشتارگاه‌ها، کارخانه چرم و یا افراد شاغل در آزمایشگاه مشاهده می شود. درصد مرگ و میر در جمعیت انسانی ۱ تا ۲ درصد گزارش شده است (۵،۷). کوکسیلا بورنتی (از شاخه پروتوباکتیریا، رده جی پروتوباکتیریا، راسته لژیونلا و خانواده کوکسیلاسه‌ها) یک کوکوباسیل گرم منفی درون سلولی است. این ارگانیزم در سلول‌های یوکاریوتی تکثیر می شود و تعداد ۳۲ جدایه از کوکسیلا بورنتی شناسایی شده که در ۶ گروه مجزا تقسیم بندی شده است (۵،۸). چرخه زندگی کوکسیلا بورنتی کاملاً مشخص نیست، اما انواع واریانت‌های 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 می مانند در حالی که واریانت‌های بزرگ در مونوسیت‌ها یا ماکروفاژهای میزبان تکثیر می شود. هر دو فرم باکتری از طریق تقسیم دوتایی تکثیر می شوند. 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 (۲،۹).

تب کیو به عنوان 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 (۵). به عنوان مثال، تب کیو ابتدا در سال ۱۹۹۹ در ایالات متحده به یک بیماری قابل گزارش تبدیل شد (۱۰). در بسیاری از کشورهای آفریقایی بیماری در جمعیت انسانی گزارش شده است که نشان دهنده گسترده بودن وسعت بیماری در منطقه جغرافیایی قاره آفریقا می باشد (۱۱). در هلند بین سال‌های ۲۰۰۷ و ۲۰۱۰ شیوع گسترده بیماری با بیش از ۴۰۰۰ مورد ابتلا، گزارش شد (۵). 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 فرامرضی قابل تامل می باشد (۱۴-۱۲). با این وجود مطالعات اندکی در ارتباط با اپیدمیولوژی این پاتوژن در انسان و مواد غذایی و میزبانان بی مهره و مهره دار در ایران صورت گرفته است، به طوری که خلیلی و همکاران آن را بیماری فراموش شده در ایران می خوانند و از این رو یکی از بعدهای اهمیت تحقیق در ارتباط با این پاتوژن در بخش‌های مختلف ایران آشکار می شود (۲).

کنه‌ها به لحاظ اقتصادی، مهم ترین انگل‌های خارجی می باشند و به دلیل مشکلات زیادی که به واسطه خونخواری برای انسان‌ها و حیوانات ایجاد می کنند به خوبی مورد مطالعه قرار گرفته اند. کنه‌ها به عنوان ناقلین پاتوژن‌ها در بین تمام مهره داران عمل می کنند و می توانند

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، درماستور، 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 می‌آیند. 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 (4، 16، 17).

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

نمونه‌گیری

استان خراسان جنوبی با مساحت حدود 150 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)، سریشه (60 عدد)، خوسف (99 عدد)، در میان (45 عدد) و قائن (90 عدد) در بازه زمانی تابستان 1398 نمونه‌برداری صورت گرفت. افزایش شیوع کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از آن‌ها در فصول گرم سال خصوصاً 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 و گونه 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 این که کنه‌ها باید سالم و زنده جمع‌آوری می‌ش «دند، نمونه» 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).

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 لیوفلیزه فاز یک Nine mile کشته شده با فلن و سپس خالص سازی شده بود.

تجزیه و تحلیل داده ها

داده ها با استفاده از نرم افزار 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 در مجموع 269 کنه جمع آوری شد. میانگین آلودگی به کنه برای هر راس دام برابر با 0/39 می باشد. 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 155 عدد (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 (2/2 درصد)، 9 عدد هیالوما آنتولیکوم (3/3 درصد)، 5 عدد هیالوما آسیاتیکوم (0/09 درصد)، 90 عدد هیالوما درومداری (33/5 درصد) و 10 عدد سایر هیالوماها (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 شماره 1).

جدول شماره 1: فراوانی گونه کنه بر اساس میزبان

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

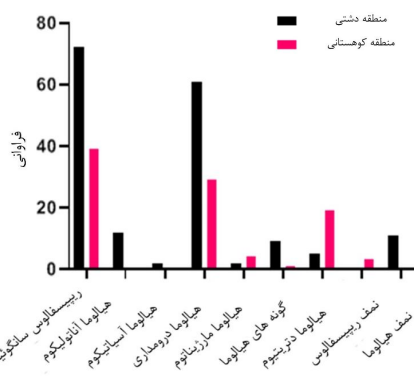
فراوانترین گونه در شتر و گاو هیالوما درومداری و در بز و گوسفند ریپیسفالوس سانگوئینوس به دست آمده است. آزمون آماری نشان داد که شیوع آلودگی به کنه های مختلف در میزبان های مختلف تفاوت آماری معنی داری دارد ($P < 0/001$). فراوانی هر گونه بر اساس منطقه جغرافیایی در جدول شماره 2 ارائه شده است. فراوانترین گونه در سریش، خوسف و درمیان ریپیسفالوس سانگوئینوس و در قائن و بیرجند هیالوما درومداری بود. همچنین مشخص شد که شیوع آلودگی به کنه های مختلف در مناطق جغرافیایی مختلف، تفاوت آماری معنی داری نشان می دهد ($P < 0/001$). 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 کنه های نر، ماده و نمف جمع آوری 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 می دهد.

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

جنس و گونه کنه	محل جمع آوری کنه					
	درمیان تعداد (درصد)	قائن تعداد (درصد)	خوسف تعداد (درصد)	بیرجند تعداد (درصد)	سربیشه تعداد (درصد)	جمع کل تعداد (درصد)
ریپیسفالوس سانگوینوس	5 (56/5)	6	55	28	9 (100)	41,26
هیالوما آتاتریکوم	0 (0)	0 (0)	0 (0)	9	9 (0)	3,34
هیالوما آسیاتیکوم	0 (0)	0 (0)	0 (0)	5	0 (0)	1,85
هیالوما درومداری	1 (11/11)	9	25,77	55	0 (0)	33,45
هیالوما مارزیناتوم	0 (0)	3	0 (0)	3	0 (0)	2,23
هیالوما دتریتوم	0 (0)	0 (0)	0 (0)	24	0 (0)	8,92
گونه های هیالوما	1 (11/11)	0 (0)	3,09	6	0 (0)	3,71
نمف ریپیسفالوس	2 (22/22)	0 (0)	0 (0)	1	0 (0)	1,11
نمف هیالوما	0 (0)	0 (0)	11,34	2	0 (0)	4,08
جمع کل	9 (100)	19 (100)	97 (100)	128 (100)	9 (100)	269 (100)

فراوانی شتر و گاوهای آلوده عموماً در بازه سنی بیش تر از سه سال و گوسفندها و بزهای آلوده در بازه کم تر از سه سال مشاهده شد. در میزبان های مختلف نیز رابطه معنی دار آماری میان گروه های مختلف مشاهده شد ($P < 0/001$).

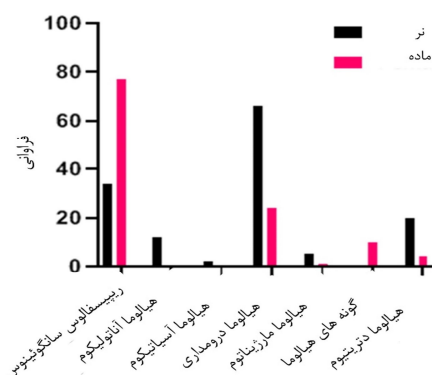
بررسی ها نشان داد که رابطه معنی داری از نظر آماری میان ارتفاع محل جمع آوری (کوهستانی یا دشتی) با شیوع گونه ها وجود دارد که مقایسه آن در نمودار شماره 3 آمده است ($P < 0/001$). تمام گونه ها به جز هیالوما دتریتوم و هیالوما مارزیناتوم در دشت بیش تر جمع آوری شده اند.



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

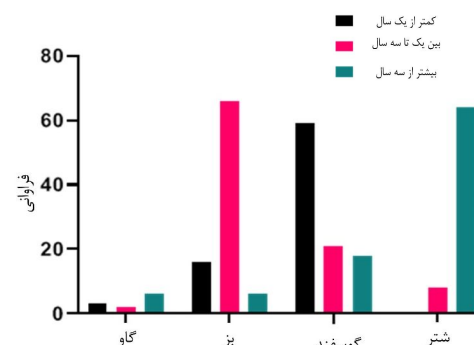
آزمایش Nested-PCR

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



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

در تمامی گونه ها به جز ریپیسفالوس سانگوینوس و سایر گونه های هیالوما فراوانی جنس نر بیش تر از جنس ماده بود. تست آماری نشان داد میان مراحل مختلف زندگی کنه ها و جنسیت آن ها، تفاوت آماری معنی دار وجود دارد ($P < 0/001$). نمودار شماره 2 آلودگی دام ها به کنه بر اساس سن را نشان می دهد.



نمودار شماره 2: فراوانی کنه بر اساس میزبان

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. به دلیل 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 به ترتیب هیالوما درومداری و هیالوما دتریتوم 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).

چم‌پور 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 کنه‌ها متعلق به سه جنس هیالوما، ریپیسفالوس و بوفیلوس بودند. گونه هیالوما با 45/8 درصد و ریپیسفالوس سانگوئینوس با 31/3 درصد بیش‌ترین فراوانی را داشتند (21).

جعفر بکلو و همکاران با مطالعه بر روی دام‌های اهلی در نوار مرزی افغانستان، گونه‌های غالب کنه سخت در شهر قاین را به ترتیب هیالوما آنتاتولیکوم، 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 آنتاتولیکوم

(33/9 درصد)، ریپیسفالوس سانگوئینوس (22/1 درصد)، ریپیسفالوس تورانیکوس (17/1 درصد) و هیالوما اکسکواتوم (11/1 درصد) بودند. گونه‌های ریپیسفالوس بورس، 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) و هیالوما 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 آنتاتولیکوم (9/78 درصد) و هیالوما دتریتوم (4/98 درصد) به دست آمد (24). هم راستا با نتایج مطالعه حاضر، در مطالعه قشقائی و همکاران که در سال 2019 در استان 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 (27-30). این نتایج بیانگر غالب بودن فون هیالوما و ریپیسفالوس در آسیا می‌باشد.

حال آن که 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. به عنوان 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 به کارگیری روش‌های متفاوت در حذف ناقلین در هر منطقه تا حدودی توجیه کرد.

در مطالعه حاضر بیش‌ترین آلودگی به کنه در گوسفند و بز در سن کم‌تر از 3 سال مشاهده شد در حالی 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 خصوصاً 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 به دست آمده در این بررسی با نتایج بشیری بد و همکاران در یک راستا است. آن‌ها بیان کردند از مجموع 1052 نمونه 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 درومداری، ریپیسفالوس تورانیکیوس، ریپیسفالوس بورس و ریپیسفالوس سانگوئینوس گزارش کردند (3). نورالهی فرد با بررسی کنه‌های جمع‌آوری شده از دام‌های استان کرمان، شیوع آلودگی را 13 درصد و قشقای 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). اخیراً 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 پلیمرز نمونه خون 130 راس شتر نشان داد 14 (10/76 درصد) 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. (36-38). با این حال مطالعات دیگر از شیوع آلودگی به کوکسیلا در کنه‌های سخت مناطق مختلف دنیا حکایت دارد (39-41).

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

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-9618-141 و UOZ-GR-9618-159). 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, Aflatonian 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, Swardlow 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.

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 mammals 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

- 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.