Jundishapur
Scientific Medical Journal

July, August 2022. Volume 21. Number 3

Research Paper

Molecular Investigation of Coxiella Burnetii in Hard Ticks Collected From Some Livestock in the Sistan Region

Sahar Asadolahizoj[1], *Dariush Saadati[2], Mehdi Rasekh[3], Amirsajad Jafari[1], Amirmasood Jafari Nozad[4], Faezeh Faghihi[5], Zakkyeh Telmadarraiy[6], Asadollah Hosseini-Chegeni[7]

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2. Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
3. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
4. Student Research Committee, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
5. Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
6. Department of Medical Entomology and Vector Control, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
7. Department of Plant Protection, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khorramābād, Iran.

Use your device to scan and read the article online

Citation Asadolahizoj S, Saadati D, Rasekh M, Jafari AS, Jafari Nozad AM, Faghihi F, et al. [Molecular Investigation of Coxiella Burnetii in Hard Ticks Collected From Some Livestock in Sistan Region (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(3):328-339. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460

CC BY NC

ABSTRACT

Background and Objectives Coxiella burnetii (causative agent of Q fever) is an important zoonotic disease with a universal occurrence. Ticks are natural and potential reservoirs of this bacterium and play an effective role in the transmission of Q fever. This study aimed to investigate the prevalence of Coxiella burnetii in hard ticks isolated from livestock in Sistan.

Subjects and Methods This cross-sectional study was conducted in five counties of the Sistan region. The genus and species of hard ticks were identified after collection from some domestic animals. The nested-PCR technique was used to identify the bacterial genome.

Results Of all examined ticks, two genera, including 354 Hyalomma (59.399%) and 242 Rhipicephalus (40.6%) were identified. The hard ticks are in three types of species as follows: Rhipicephalus sanguineus (40.1%), Rhipicephalus nymph (0.5%), Hyalomma anatolicum (47.5%), Hyalomma sp. (1.5%), Hyalomma nymph (10.4%), and Rhipicephalus (Boophilus) annulatus (0.16%). No infected specimen with Coxiella burnetii was observed in the Sistan region.

Conclusion According to the results of previous studies in Sistan and Baluchestan province and neighboring provinces that reported a high prevalence of Coxiella burnetii in collected ticks, it seems that more extensive research, with a larger sample size and host range, is necessary to clarify the situation of this pathogen.

Keywords Coxiella burnetii, Zoonotic, Hard ticks, Q fever, Sistan

Received: 11 Apr 2021
Accepted: 01 Sep 2021
Available Online: 23 July 2022

Corresponding Author:
Dariush Saadati, PhD.
Address: Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
Tel: +98 (54) 312322660
E-Mail: saadati.dariush@gmail.com

Extended Abstract

Introduction

Q fever is a zoonotic disease that is caused by the intracellular pathogen Coxiella burnetii (Coxiellaceae: Legionellales). Humans are known as the final host for this bacterium. Reservoirs of Coxiella burnetii include a wide range of animals, such as cattle, sheep, birds, and reptiles. In addition, arthropods can transmit the infection. Humans usually become infected by inhaling contaminated aerosols. However, it is possible to get infected through the digestive system, skin damage caused by tick bites, blood transfusions, consumption of raw milk and contaminated dairy products as well as sexual contact. Ticks are the most important extracellular parasites that can transmit a wide range of pathogens, including protozoa, bacteria, rickettsia, and viruses. As ticks can transmit Coxiella burnetii vertically as well as horizontally, they are considered carriers and reservoirs of the bacteria in nature and are essential for maintaining the bacteria in the natural transmission cycle. Although under natural conditions, Q fever is mostly transmitted through inhalation, Coxiella burnetii has been repeatedly detected in hard ticks and researchers have shown that some tick species are suitable carriers for Coxiella burnetii. The animals and ticks that feed on them from the natural transmission cycle and reservoirs of Coxiella burnetii. Due to the climate conditions (hot and dry climate, which favors the spread of ticks) and the poor animal husbandry in eastern Iran, Q fever is considered one of the most important zoonotic diseases in these regions. Considering the dangerous clinical complications of Coxiella burnetii in humans and domestic animals, as well as the lack of comprehensive studies in this field, the present study was done to investigate the prevalence of Coxiella burnetii in hard ticks isolated from domestic livestock in the Sistan region in the north of Sistan and Baluchistan province.

Methods

In this cross-sectional study, 220 livestock, including 150 sheep, 50 goats, and 20 cows, were sampled in five cities of the Sistan region (Zabul, Zahak, Hirmand, Nimroz, and Hamon) in July 2018. Different parts of the animal's body including ears, groin, the base of the tail, and abdomen were examined. Considering that the ticks must be collected alive, the samples were separated from the body of the target animals using forceps and then transferred into tubes. Tubes were placed in a special flask (cold chain condition) and transferred to the Tehran University of Medical Sciences for diagnosis. Ticks were identified using stereomicroscopy and valid identification keys. Then, 200 ticks were selected for molecular tests. Ticks were crushed and homogenized and DNA extraction was done by the Exgene extraction kit (South Korea). DNA samples were kept in the freezer at -20C until molecular tests were performed. Nested-PCR technique was performed using the primers and protocol used in the study reported by Parisi et al. for bacterial genome amplification (Table 1). The positive control of the test was the lyophilized strain of Nine Mile phase one killed with phenol and then purified. Distilled water was also used as the negative control of the test.

Results

A total of 139 animals were infested with ticks (69.5%) and a total of 596 ticks were collected from the animals. On average, the amount of tick infestation for each animal was 4.28%. The livestock contamination rates in Zabol, Nimiroz, Zahk, Hirmand, and Hamon were 47.5%, 85%, 78%, 75%, and 65%, respectively. The number of adult males, adult females, and nymphs were 300 (50.3%), 230 (38.6%), and 66 (11.1%), respectively. Out of all collected ticks, 52 ticks (8.7%) were isolated from cows, 80 ticks (13.4%) from goats, and 464 ticks (77.9%) from sheep. Two genera and three species were identified as follows: 242 Rhipicephalus (40.6%) and 354 Hyalomma (59.399%). The species included 238 Rhipicephalus sanguineous (40.1%), 3 Rhipiscephalus nymphs (0.5%), 283 Hyalomma anatolicum (47.5%), 9 Hyalomma spp. (1.5%), 62 Hyalomma nymphs (10.4%) and one Rhipicephalus (Boophilus) annulatus (0.16%). Hyalomma was the most abundant genus in cattle and goats while Rhipiscephalus was the most prevalent species in sheep. The prevalence of infestation with different ticks in different

Table 1. Characterization of polymerase chain reaction primers for Coxiella burnetii genome amplification

Target gene	PCR Product Length (bp)	Primers Sequence (5′-3′)	Primers
IS1111	687	5 TATGTATCCACCGTAGCCAGTC 3	Trans1
		5 CCCAACAACACCTCCTTATTC 3	Trans2
	203	5 GAGCGAACCATTGGTATCG 3	261F
		5 CTTTAACAGCGCTTGAACGT 3	463R

Table 2. Frequency of the species and species of ticks caught according to the geographical area

Area	Rhipicephalus		Hyalomma			
	Rhipicephalus Sanguineous	Hyalomma Anatolicum	Rhipicephalus Nymph	Hyalomma Anatolicum	Hyalomma Nymph	Hyalomma Spp.
Zabol	6	0	1	40	61	2
Nimruz	85	0	0	4	0	1
Zahak	3	1	0	130	0	0
Hirmand	116	1	0	0	0	0
Hamoon	28	1	2	109	1	6
Total	238	1	3	283	62	9

Jundishapur
Scientific Medical Journal

hosts was statistically significant (P<0.001). The frequency of each species according to the geographical region is also shown in Table 2. The most abundant genus in Zabul, Zahak, and Hamon was Hyalomma while in Nimroz and Hirmand Rhipiscephalus was dominant. It was found that the prevalence of infestation with different ticks in different geographical areas had a statistically significant difference (P<0.001). Out of 200 ticks tested for molecular identification of Coxiella burnetii, none were infected with the bacteria.

Discussion

Due to their significant effects on human and livestock health, ticks have been studied for a long time. Diseases transmitted by arthropods, especially ticks, are of major importance in both the medical and veterinary fields. Coxiella burnetii, causes Q fever and has been identified in more than 40 species of ticks.

Hyalomma anatolicum forms the dominant fauna of the Sistan and Baluchistan region. It has been reported as a vector of Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran and around the world. The second dominant species in the present study was Rhipiscephalus sanguineous, which is also known as the brown dog tick. Considering the results obtained from the present study, it can be concluded that in the current situation, the Sistan region is free from endemic foci of Coxiella burnetii in the ticks. It is also important that due to the relatively high prevalence of this pathogen in the neighboring areas, conduct more extensive research with a larger sample size and a larger host range.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

All ethical principles have been observed in this article.

Funding

This paper was supported by the University of Zabul (grant number UOZ-GR-9719-46) and the authors' personal expenses.

Authors contributions

Conceptualization: Asadollah Hosseini-Chegeni, Zakkyeh Telmadarraiy, and Dariush Saadati; Methodology: Amirsajad Jafari, Amir masood Jafari nozad and Sahar asadolahizoj; Investigation: Mehdi Rasekh, Faezeh Faghihi, Sahar Asadolahizoj and Asadollah Hosseini-Chegeni; Writing Original Draft: Amirsajad Jafari and Amir masood Jafari nozad; Writing Review & Editing: Dariush Saadati, Mehdi Rasekh, Zakkyeh Telmadarraiy and Faezeh Faghihi; Funding Acquisition: Sahar Asadolahizoj and Dariush Saadati; Resources, Author names: Sahar asadolahizoj, Asadollah Hosseini-Chegeni, Faezeh Faghihi and Zakkyeh Telmadarraiy; Supervision, Author names: Dariush Saadati, Mehdi Rasekh, Zakkyeh Telmadarraiy and Faezeh Faghihi.

Conflicts of interest

The authors declared no conflict of interest.

Acknowledgements

we want to thank the University Of Zabol for their financial support.

مقاله پژوهشی

فون کنه‌ای و بررسی مولکولی کنه‌های سخت جداشده از دام‌های اهلی منطقه سیستان به‌عنوان ناقلین بالقوه کوکسیلا بورنتی

سحر اسدالهی زوج[۱]، *داریوش سعادتی[۲]، مهدی راسخ[۳]، امیرسجاد جعفری[۱]، امیرمسعود جعفری نوزاد[۴]، فائزه فقیهی[۵]، زکیه تلمادره‌ای[۶]، اسداله حسینی چگنی[۷]

۱. گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲. گروه بهداشت موادغذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۴. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
۵. مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۶. گروه حشره‌شناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۷. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.

Use your device to scan and read the article online

Citation Asadolahizoj S, Saadati D, Rasekh M, Jafari AS, Jafari Nozad AM, Faghihi F, et al. [Molecular Investigation of Coxiella Burnetii in Hard Ticks Collected From Some Livestock in Sistan Region (Persian)]. Jundishapur Scientific Medical Journal. 2022; 21(3):328-339. https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460

https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460

CC BY NC

چکیده

زمینه و هدف کوکسیلا بورنتی (عامل بیماری تب کیو) یک بیماری مشترک بین انسان و دام (زئونوز) با وقوع جهانی است. کنه‌های دامی از مخازن طبیعی و بالقوه این باکتری هستند و در زنجیره انتقال بیماری تب کیو نقش مؤثری دارند. هدف مطالعه حاضر، بررسی شیوع باکتری کوکسیلا بورنتی در کنه‌های سخت جدا شده از برخی دام‌های اهلی مناطق سیستان است.

روش بررسی این مطالعه از نوع مقطعی، در ۵ شهرستان از منطقه سیستان انجام شد. جنس و گونه کنه‌های سخت پس از جداسازی از برخی دام‌های اهلی شناسایی شد. تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای، برای شناسایی ژنوم باکتریایی استفاده شد.

یافته‌ها ازنظر تنوع، دو جنس و سه گونه صید شد. جنس‌ها عبارت‌اند از: ۲۴۲ عدد ریپیسفالوس (۴۰/۶ درصد) و ۳۵۴ عدد هیالوما (۵۹/۳۹۹ درصد) و گونه‌ها شامل ۲۳۸ عدد ریپیسفالوس سانگوئینوس (۴۰/۱ درصد)، ۳ عدد نمف ریپیسفالوس (۰/۵ درصد)، ۲۸۳ هیالوما آناتولیکوم (۴۷/۵ درصد)، ۹ عدد سایر هیالوماها (۱/۵ درصد)، ۶۲ عدد نمف هیالوما (۱۰/۴ درصد) و یک عدد ریپیسفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس بود (۰/۱۶ درصد) در مطالعه حاضر هیچ آلودگی به کوکسیلا بورنتی در استان سیستان مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری باتوجه‌به نتایج مطالعات پیشین در استان سیستان‌وبلوچستان و استان‌های همسایه آن که شیوع بالایی از باکتری را در کنه‌های صیدشده گزارش کردند، به‌نظر می‌رسد باید تحقیقات گسترده‌تر، با حجم نمونه بالاتر و گستره میزبانی بیشتر، برای روشن‌شدن وضعیت این پاتوژن در ناقلین کنه‌ای انجام شود.

کلیدواژه‌ها کوکسیلا بورنتی، زئونوز، کنه‌های سخت، تب کیو، سیستان

تاریخ دریافت: ۲۲ فروردین ۱۴۰۰
تاریخ پذیرش: ۱۰ شهریور ۱۴۰۰
تاریخ انتشار: ۰۱ مرداد ۱۴۰۱

* **نویسنده مسئول:**
دکتر داریوش سعادتی
نشانی: زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپزشکی، گروه بهداشت موادغذایی.
تلفن: ۳۱۲۳۲۲۶۶۰ (۵۴) ۹۸+
رایانامه: saadati.dariush@gmail.com

مقدمه

تب کیو[1] یک بیماری مشترک بین انسان و دام، زئونوز[2] است که توسط پاتوژن درون سلولی کوکسیلا بورنتی (از خانواده ریکتزیاسه) به‌وجود می‌آید. انسان به‌عنوان میزبان نهایی برای باکتری کوکسیلا بورنتی شناخته می‌شود. تب کیو، اولین‌بار در سال ۱۹۳۵ در استرالیا و با شیوع تب گسترده در کارگران کشتارگاه‌ها گزارش شد. کمی بعد از آن، موارد مشابه در سراسر جهان گزارش شد [۱]. این بیماری می‌تواند الگوهای مختلفی ازجمله اسپورادیک، اندمیک یا حتی پاندمی در کشورهای مختلف نشان دهد [۲]. عفونت با کوکسیلا بورنتی می‌تواند حاد یا مزمن باشد و طیف وسیعی از علائم بالینی را از خود نشان دهد. عفونت‌زایی شدید باکتری منجر به آلودگی‌های وسیع و گسترده شده است و آن‌را به یک اسلحه زیستی بالقوه تبدیل کرده است [۳]. هرچند تب کیو به ندرت در انسان بیماری شدید و با اهمیت ایجاد می‌کند و بروز آن در بیشتر کشورها قابل ارزیابی نیست، مطالعات اپیدمیولوژی حاکی از وجود مشکلات بهداشتی ناشی از این بیماری در بسیاری از کشورها ازجمله فرانسه و آلمان می‌باشد. در برخی کشورها نیز ممکن است آمارشیوع تب کیو به دلیل نظارت و تشخیص ضعیف، به اشتباه پایین اعلام شود [۴].

تب کیو در انسان معمولاً نشانه‌های بالینی خاص ندارد؛ بنابراین ممکن است به اشتباه به‌عنوان بیماری‌های شبه آنفلوانزا تشخیص داده شود [۱]. عفونت در شکل حاد به‌صورت شبه آنفلوانزا همراه با علائم عمومی ناخوشی ازجمله شروع ناگهانی تب، بدن درد وکوفتگی، تعریق، سردرد و کم‌شدن اشتها تشخیص داده شده است. در برخی بیماران پنومونی، آنسفالوپاتی، التهاب کبد و مننژیت نیز گزارش شده است. بیماری در فرم مزمن می‌تواند باعث سندرم خستگی مزمن و اندوکاردیت شود [۵].

کوکسیلا بورنتی[3] یک کوکوباسیل گرم منفی و پاتوژن اجباری درون سلولی است که برخلاف اکثر باکتری‌ها، در محیط اسیدی فاگولیزوزوم‌های یوکاریوتی قابلیت تکثیر دارد. با اینکه کوکسیلا بورنتی دیواره سلولی مشابه باکتری‌های گرم منفی دارد، با روش گرم قابل رنگ‌آمیزی نیست [۶]. مخازن کوکسیلا بورنتی طیف وسیعی از حیوانات ازجمله گاو، گوسفند، پرندگان و خزندگان را شامل می‌شود. علاوه‌بر این، بندپایان نیز می‌توانند عفونت را منتقل کنند. انسان معمولاً توسط استنشاق آئروسل‌های آلوده بیمار شود اما امکان آلوده‌شدن ازطریق دستگاه گوارش، آسیب‌های جلدی ناشی از گزش کنه، تزریق خون، مصرف شیر خام و محصولات لبنی آلوده و طی تماس جنسی نیز وجود دارد [۲، ۷، ۸]. کوکسیلا بورنتی برخلاف بسیاری از پاتوژن‌های بیماری‌زای دیگر به عوامل فیزیکی و شیمیایی ازجمله دمای بالا، خشکی و بعضی از مواد ضدعفونی‌کننده مقاوم است. به دلیل پایداری بالای باکتری در خاک و محیط‌های خارج سلولی، آلودگی حیوانات اهلی به دو طریق استنشاق ذرات آلوده و کنه‌های ناقل، محتمل‌تر از روش‌های دیگر است. انتقال بیماری از انسان به انسان دیگر، شایع نیست. انسان‌ها به‌صورت مستقیم توسط کنه‌ها آلوده نمی‌شوند بلکه نقش اصلی کنه، حفظ چرخه زندگی باکتری در طبیعت است [۴، ۹]. با اینکه چرخه زندگی کوکسیلا بورنتی به‌طور کامل شناخته نشده است، اما آنچه که مشخص است این است که باکتری پس از ورود به بدن، توسط سلول‌های ایمنی میزبان بلعیده می‌شود و در فاگولیزوزوم شروع به تکثیر می‌کند. باکتری در چرخه زندگی خود به دو فرم واکوئلی کوچک و بزرگ دیده می‌شود. واریانت کوچک عفونت‌زا در برابر گرما و خشکی مقاوم است و هنگام ورود به بدن میزبان، واریانت سلولی بزرگ و فعال ازنظر متابولیکی را تشکیل می‌دهد. فرم واکوئلی بزرگ، درون سلول میزبان تکثیر می‌یابد [۱۰، ۱۱].

باوجوداین که در شرایط طبیعی، تب کیو بیشتر ازطریق راه استنشاقی منتقل می‌شود، کوکسیلا بورنتی به‌طور مکرر در کنه‌های سخت تشخیص داده شده است و آزمایشات نشان داده‌اند که برخی از گونه‌های کنه ناقل مناسبی برای کوکسیلا بورنتی هستند [۱۲]. حیوانات و کنه‌هایی که از آن‌ها تغذیه می‌کنند، چرخه انتقال طبیعی و مخازن کوکسیلا بورنتی را تشکیل می‌دهند.

کنه‌ها به‌لحاظ اقتصادی مهم‌ترین انگل‌های خارج سلولی می‌باشند که می‌توانند گستره زیادی از پاتوژن‌ها ازجمله پروتوزوآها، باکتری‌ها، ریکتزیاها و ویروس‌ها را منتقل کنند [۱۳]. تنوع گونه‌ای کنه‌های سخت در چندین جنس گنجانده می‌شود که در بین آن‌ها ایکسودس، هیالوما، ریپیسفالوس، درماسنتور، آمبلیوما، بوفیلوس و همافیزالیس از اهمیت بیشتری در پزشکی برخوردارند. ازآنجایی‌که کنه‌ها می‌توانند کوکسیلا بورنتی را به صورت عمودی و همچنین به‌صورت افقی منتقل کنند، به‌عنوان ناقل و مخزن باکتری در طبیعت به حساب می‌آیند و برای حفظ باکتری در چرخه انتقال طبیعی ضروری هستند [۱۴].

باتوجه‌به شرایط آب و هوایی (گرم‌وخشک که باعث گسترش کنه‌ها می‌شود) و شیوه پرورش حیوانات در شرق ایران، تب کیو می‌تواند به‌عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز در این مناطق به‌شمار آید. با درنظر گرفتن عوارض بالینی خطرناک کوکسیلا بورنتی در انسان و حیوانات اهلی و همچنین فقدان مطالعات جامع در این زمینه، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع کوکسیلا بورنتی در کنه‌های سخت جدا شده از دام‌های اهلی منطقه سیستان در شمال استان سیستان‌وبلوچستان انجام شد تا با مشخص‌کردن کانون‌های آلودگی و تعیین میزان آلودگی، برنامه‌های کنترل آلودگی در دستور کار مراجع مربوطه قرار بگیرد که منجر به کاهش و کنترل بیماری در جمعیت‌های انسانی نیز

1. Q Fever
2. Zoonotic Diseases
3. Coxiella Burnetii

جدول ۱. مشخصات پرایمرهای واکنش زنجیرهای پلیمراز برای تکثیر ژنوم کوکسیلا بورنتی

پرایمر	توالی پرایمر (3′-5′)	طول محصول PCR(bp)	محصول تکثیر
Trans1	5 TATGTATCCACCGTAGCCAGTC 3	687	IS1111
Trans2	5 CCCAACAACACCTCCTTATTC 3		
261F	5 GAGCGAACCATTGGTATCG 3	203	
463R	5 CTTTAACAGCGCTTGAACGT 3		

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

خواهد شد. علاوه‌بر این، شیوع و فون گونه‌های مختلف کنه‌های سخت نیز در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند.

روش بررسی

منطقه جغرافیایی و نمونه‌گیری

در این مطالعه که از نوع مقطعی بود، از ۲۲۰ رأس دام شامل ۱۵۰ گوسفند، ۵۰ بز، ۲۰ گاو در پنج شهرستان منطقه سیستان (زابل، زهک، هیرمند، نیمروز و هامون) در بازه زمانی تیرماه ۱۳۹۸، نمونه‌برداری صورت گرفت. استان سیستان‌وبلوچستان با وسعتی حدود ۱۸۰/۷۲۶ کیلومتر مربع، با قرارگرفتن در بین ۲۵ درجه و ۳ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی از خط استوا و ۵۸ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۶۳ درجه و ۲۱ دقیقه طول شرقی از شمال با استان خراسان جنوبی، از شرق با کشورهای افغانستان و پاکستان، از غرب با کرمان و هرمزگان و از جنوب با دریای عمان هم‌مرز است. منطقه سیستان در شمال استان سیستان و بلوچستان و در طول جغرافیایی ۶۱/۴۹۶۲ و عرض جغرافیایی ۳۱/۰۳۸۵ قرار گرفته است. قسمت‌های مختلف بدن شامل لاله گوش، کشاله ران، قاعده دم و پشت بدن، شکم و نقاط دارای پشم مورد بررسی قرار گرفت. باتوجه‌به اینکه کنه‌ها باید سالم و زنده جمع‌آوری شوند، نمونه‌ها 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، صاحب دام و کد دام، نام روستا، نام بخش و تاریخ جمع‌آوری کنه‌ها، نام جمع‌آوری‌کننده و با ثبت کد دام و تعداد کنه صیدشده بر روی لوله آزمایش، با قراردادن آن‌ها در فلاسک مخصوص و حفظ زنجیره سرد، برای تشخیص به آزمایشگاه دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران منتقل شدند. کنه‌ها با استفاده از استریومیکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰ تا ۸۰ برابر و مقایسه با کلیدهای معتبر تشخیص تعیین جنس و گونه شدند [۱۵].

آزمون‌های مولکولی

۲۰۰ عدد کنه از میان کنه‌های صیدشده برای آزمایشات مولکولی انتخاب شدند. کنه‌ها براساس جنسیت، گونه، میزبان و مکان صید در گروه‌های ۳-۵ طبقه‌بندی شدند. سپس کنه‌ها هموژن (ازت مایع در منفی ۱۹۶ درجه سانتی‌گراد) و له‌شده و استخراج DNA توسط کیت استحراج اکس ژن (جین‌آل، کره جنوبی، کره جنوبی) صورت پذیرفت. تا زمان انجام آزمایشات مولکولی، نمونه‌های DNA در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای با استفاده از پرایمرها و پروتکل استفاده‌شده در مطالعه پاریسی و همکاران [۱۶] برای تکثیر ژنوم باکتریایی انجام شد (جدول شماره ۱). کنترل مثبت تست، سویه لئوفیلیزهی فاز یک نایین مایل (RSA-493، دانشگاه شهید باهنر کرمان) با فنل کشته و سپس خالص‌سازی شده بود. آب مقطر نیز به‌عنوان کنترل منفی تست استفاده شد. نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در بافر تریس بورات ای دی تی ای الکتروفورز شدند و با استفاده از اتیدیم بروماید و دستگاه ژل داک، آشکارسازی و عکس‌برداری انجام شد.

تجزیه‌وتحلیل داده‌ها

داده‌های مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۳ و نرم‌افزار گراف پد پریزم، نسخه ۸ تجزیه و تحلیل شدند. رابطه بین متغیرها با آزمون آماری نسبت درست نمایی مربع کای و سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شدند.

یافته‌ها

در این مطالعه که بر روی ۲۰۰ رأس دام شامل ۱۴۰ رأس گوسفند، ۴۰ رأس بز، ۲۰ رأس گاو در ۵ شهرستان استان سیستان‌وبلوچستان (زابل، زهک، نیمروز، هامون، هیرمند) صورت گرفت، ۱۳۹ دام به کنه آلوده بودند ۶۹/۵ درصد که از دام‌های آلوده مجموعاً ۵۹۶ کنه، صید شد. به‌طور متوسط میزان آلودگی به کنه برای هر رأس دام برابر با ۴/۲۸ می‌باشد. درصد آلودگی دام‌ها در زابل، نیمروز، زهک، هیرمند و هامون به‌ترتیب عبارت است از: ۴۷/۵ درصد، ۸۵ درصد، ۷۸ درصد، ۷۵ و ۶۵ درصد، تعداد کنه‌های بالغ نر، بالغ ماده و نمف به‌ترتیب برابر با ۳۰۰ (۵۰/۳)، ۲۳۰ (۳۸/۶) و ۶۶ (۱۱/۱ درصد) بوده است. از کل کنه‌های صید شده ۵۲ عدد (۸/۷ درصد) از گاو، ۸۰ عدد ۱۳/۴ از بز و ۴۶۴ عدد (۷۷/۹ درصد) از گوسفند جدا شد. ازنظر تنوع دو جنس و سه گونه صید شد که جنس‌ها عبارت‌اند از: ۲۴۲ عدد ریپیسفالوس

جدول ۲. فراوانی جنس و گونه کنه‌های صیدشده براساس میزبان

میزبان	کنه‌های ریپیسفالوس				کنه‌های هیالوما	
	ریپیسفالوس سانگوئینوس	ریپیسفالوس (بووفیلوس) آنولاتوس	نمف ریپیسفالوس	هیالوما آناتولیکوم	نمف هیالوما	سایر هیالوماها
گاو	۲	۰	۰	۱۵	۳۵	۰
بز	۱۳	۰	۲	۵۲	۱۳	۰
گوسفند	۲۲۳	۱	۱	۲۱۶	۱۴	۹
مجموع	۲۳۸	۱	۳	۲۸۳	۶۲	۹

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

(۴۰/۶ درصد) و ۳۵۴ عدد هیالوما (۵۹/۳۹۹ درصد) وگونه‌ها شامل ۲۳۸ عدد ریپیسفالوس سانگوئینوس (۴۰/۱ درصد)، ۳ عدد نمف ریپیسفالوس (۰/۵ درصد)، ۲۸۳ هیالوما آناتولیکوم (۴۷/۵ درصد)، ۹ عدد سایر هیالوماها (۱/۵ درصد)، ۶۲ عدد نمف هیالوما (۱۰/۴ درصد) و یک عدد ریپیسفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس بود (۰/۱۶ درصد). جدول شماره ۲ فراوانی جنس و گونه را براساس میزبان نشان می‌دهد. در گاو و بز، فراوان‌ترین جنس هیالوما و در گوسفند ریپیسفالوس بود (جدول شماره ۲).

شیوع آلودگی به کنه‌های مختلف در میزبان‌های مختلف ازنظر آماری معنادار بود (P<۰/۰۰۱). فراوانی هرگونه براساس منطقه جغرافیایی نیز در جدول شماره ۳ نشان داده شده است. فراوان‌ترین جنس در زابل، زهک و هامون هیالوما و در نیمروز و هیرمند ریپیسفالوس بود. مشخص شد که شیوع آلودگی به کنه‌های مختلف در مناطق جغرافیایی مختلف، تفاوت آماری معناداری دارد (P<۰/۰۰۱).

تعداد کنه‌های نر، ماده و نمف صید شده به‌ترتیب عبارت بودند از: ۱۴۲ (۸۲/۸ درصد)، ۱۱۳ (۴۲ درصد) و ۱۴ (۵/۲ درصد). بنابراین تعداد کنه‌های بالغ نر و بالغ ماده به‌ترتیب برابر با ۳۰۰ (۵۶ درصد)، ۲۳۰ (۴۴ درصد) و فراوانی جنسیت ماده در هر دو جنس هیالوما و ریپیسفالوس کمتر از جنسیت نر می‌باشد. تعداد بالغین ۵۳۰ عدد (۸۹ درصد) و تعداد نمف‌ها ۶۶ عدد (۱۱ درصد) می‌باشد (جدول شماره ۳).

جدول شماره ۴ آلودگی دام‌ها به کنه را براساس سن نشان می‌دهد. فراوانی گاوهای آلوده، عموماً در بازهی سنی بیشتر از سه سال و گوسفندان و بزهای آلوده در بازه کمتر از ۳ سال بودند. اکثریت دام‌های آلوده در محدوده سنی ۱ تا ۳ سال بودند. شیوع آلودگی به کنه در گروه‌های سنی میزبانان مختلف، تفاوت آماری معناداری دارد (P<۰/۰۰۱).

آزمایش تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای

از ۲۰۰ عدد کنه تست شده برای شناسایی مولکولی کوکسیلا بورنتی، هیچ‌کدام آلوده به باکتری نبودند.

جدول ۳. فراوانی جنس و گونه کنه‌های صیدشده براساس منطقه جغرافیایی

میزبان	تعداد کنه‌های ریپیسفالوس				تعداد کنه‌های هیالوما	
	ریپیسفالوس سانگوئینوس	ریپیسفالوس (بووفیلوس) آنولاتوس	نمف ریپیسفالوس	هیالوما آناتولیکوم	نمف هیالوما	سایر هیالوماها
زابل	۶	۰	۱	۴۰	۶۱	۲
نیمروز	۸۵	۰	۰	۴	۰	۱
زهک	۳	۱	۰	۱۳۰	۰	۰
هیرمند	۱۱۶	۰	۰	۰	۰	۰
هامون	۲۸	۰	۲	۱۰۹	۱	۶
مجموع	۲۳۸	۱	۳	۲۸۳	۶۲	۹

مجله علمی پزشکی
جندی شاپور

جدول۴. فراوانی کنه‌های صیدشده برحسب نوع و سن میزبانان دامیا

میزبان	تعداد کنه‌ها برحسب گروه‌های سنی دام		
	کمتر از ۱ سال	۱-۳ سال	بیشتر از ۳ سال
گاو	۰	۴۱	۱۱
بز	۰	۷۸	۲
گوسفند	۱۱۰	۲۸۳	۷۱
مجموع	۱۱۰	۴۰۲	۸۴

مجله علمی پزشکی
جنـــدی شـــاپور

بحث

کنه‌ها با پراکندگی جهانی، به دلیل تأثیرات قابل‌توجه بر سلامت انسان و دام از مدت‌ها پیش مورد بررسی قرار گرفته‌اند و مطالعه فون انگلی آن‌ها از اهمیت زیادی برخوردار است. بیماری‌هایی که توسط بندپایان، به‌خصوص کنه‌ها، منتقل می‌شوند از عمده‌ترین مشکلاتی هستند که در هر دو حیطه پزشکی و دامپزشکی با آن‌ها مواجه هستیم و شیوع آن‌ها نیز رو به افزایش است [۱۷-۱۹].

کوکسیلا بورنتی که عامل ایجاد بیماری تب کیو می‌باشد، در بیش از ۴۰ گونه کنه شناسایی شده است [۲۰]. براساس بررسی حاضر، جنس هیالوما و گونه هیالوما آناتولیکوم فون غالب منطقه سیستان‌وبلوچستان را تشکیل می‌دهد. هیالوما آناتولیکوم به‌عنوان یک ناقل تب خونریزی‌دهنده کریمه-کنگو در ایران گزارش شده است [۲۱]. دومین گونه غالب در تحقیق حاضر ریپیسفالوس سانگوئینوس بود که به‌نام کنه قهوه‌ای سگ نیز شناخته می‌شود.

اغلب مطالعات پیشین در زمینه فون کنه‌ای در شرق ایران و منطقه سیستان با نتایج مطالعه حاضر در یک راستا هستند. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۴ توسط گنجعلی و همکاران به‌منظور مشخص‌کردن توزیع گونه‌های کنه سخت در شهر زابل انجام شد، جنس‌های غالب کنه در منطقه سیستان، هیالوما و ریپیسفالوس گزارش شدند [۲۲]. جعفربکلو و همکاران نیز با بررسی نشخوارکنندگان شهرستان‌های زابل و زهک، فون انگلی غالب را هیالوما آناتولیکوم بیان کردند [۲۳]. بخشایی و همکاران طی بررسی ۲۲۴ عدد کنه در شهرستان جیرفت و کهنوج استان کرمان، بیشترین آلودگی نمونه‌ها را به دو جنس هیالوما و ریپیسفالوس گزارش کردند [۲۴]. چم‌پور و همکاران (سال تحقیق قید شود) با جدا کردن کنه‌های سخت از میزبان شتر تک کوهانه منطقه خراسان و بررسی آن‌ها، گونه غالب را هیالوما درومداری اعلام کردند [۲۵]. مطالعه قشقائی و همکاران در سال ۲۰۱۹ فون غالب استان ایلام را هیالوما و ریپیسفالوس نشان داد [۲۶]. در بررسی دیگری که در استان یزد بر روی نشخوارکنندگان اهلی صورت گرفت، جنس‌های هیالوما درومداری (۵۵/۹۲ درصد)، هیالوما مارژیناتوم (۱۳/۲۰ درصد)، هیالوما آناتولیکوم (۹/۷۸ درصد) و هیالوما سوپنس (دتریتوم) (۹۸/۴ درصد) به‌عنوان فون غالب منطقه گزارش شدند [۲۷]. مطالعات ذکر شده با نتایج مقاله حاضر هم‌خوانی دارند.

بررسی‌های صورت گرفته پیشین در کشورهای همسایه ایران ازجمله ترکیه، پاکستان و عربستان نیز حاکی از شیوع گسترده و غالب بودن فون انگلی هیالوما و ریپیسفالوس در این کشورها دارد [۲۸-۳۱]. این مطالعات نشان‌دهنده غالب‌بودن فون هیالوما و ریپیسفالوس در آسیا می‌باشد، حال آنکه مطالعات پیشین بیانگر غالبیت ایکسودس در اروپا می‌باشند [۳۲]. اختلافات جزئی بین نتایج مطالعه حاضر با نتایج بررسی‌های گذشته باتوجه‌به تنوع اقلیم‌های آب و هوایی، متفاوت‌بودن فصول و مکان نمونه‌گیری و همچنین به کارگیری روش‌های متفاوت در حذف ناقلین توجیه‌پذیر است .

در مطالعه حاضر و با بررسی ۲۰۰ نمونه کنه سخت جدا شده از دام‌های اهلی منطقه زابل، هیچ ژنوم باکتریایی کوکسیلا بورنتی شناسایی نشد. در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۵ توسط بشیری بد و همکاران در غرب مازندران انجام شد نیز هیچ نمونه مثبت باکتری کوکسیلا یافت نشد. آن‌ها ضمن بررسی ۱۰۵۲ نمونهٔ (شامل نمونه خون انسان، گوسفند، گاو، بز، سگ و جوجه تیغی) و ۶۰۵ عدد کنه سخت، وجود ژنوم کوکسیلا بورنتی در نمونه‌ها را منفی اعلام کردند [۳۳].

با این حال، مطالعات انجام‌شده در استان‌های همسایه از جمله کرمان و منطقه بلوچستان و برخی دیگر از استان‌های غربی کشور، شیوع بالایی از کوکسیلا بورنتی را در نمونه‌های بررسی‌شده از کنه‌های سخت نشان داده‌اند. خلیلی و همکاران با انجام مطالعه‌ای در کرمان و بررسی ۱۰۰ قلاده سگ و ۳۷۵ عدد کنه جدا شده از آن‌ها، وجود کوکسیلا بورتنی را در ۱۲ درصد کنه‌ها گزارش کردند. جالب توجه است که تمام کنه‌ها از جنس ریپیسفالوس سانگوینئوس بودند [۲۰]. نورالهی فرد و همکارش در طی مطالعه خود با بررسی کنه‌های سخت جدا شده

از دام‌های استان کرمان، میزان آلودگی را ۱۳ درصد بیان کردند [۱۳]. قشقایی و همکاران در سال ۲۰۱۸ نیز در مطالعه‌ای با هدف بررسی حضور ژنوم کوکسیلا بورنتی در کنه‌های استان سیستان و بلوچستان، میزان آلودگی را ۵۷ درصد گزارش کرد [۳۴]. می‌توان علت تفاوت مطالعه حاضر با مطالعه قشقایی و همکاران را در زمان نمونه‌گیری، اختصاصیت میزبانی در تحقیق قشقایی و همچنین تفاوت در مکان نمونه‌گیری بیان کرد. در مطالعه حاضر تمرکز تنها بر منطقه سیستان بوده است، حال آنکه قشقایی و همکاران از کل استان سیستان و بلوچستان نمونه‌های خود را جمع‌آوری کردند. از طرف دیگر، در آن مطالعه نمونه‌های کنه‌ای فقط از میزبان گاو جدا شده بود که گستره‌ای محدودتر از تحقیق حاضر را دربر می‌گرفت. باید خاطر نشان کرد در مطالعه قشقایی، حجم نمونه بیشتری در محدوده زمانی متنوع‌تر (چند فصل سال) جمع‌آوری شده بود.

در مطالعه‌ای که به تازگی توسط اسمعیل‌نژاد روی کنه‌های بزهای شهرستان مشکین شهر استان اردبیل انجام شده است، وجود کوکسیلا بورنتی در برخی گونه‌ها ازجمله هیالوما آناتولیکوم‌آناتولیکوم،هیالوماکسکاواتوم،هیالوماآسیاتیکوم آسیاتیکوم، هیالوما مارژیناتوم، هیالوما سوپنس (دتریتوم)، هیالوما درومداری، ریپیسفالوس تورانیکوس، ریپیسفالوس بورسا و ریپیسفالوس سانگوئینوس گزارش شد [۳۵].

نوروزیان و همکاران در سال ۲۰۱۴ با بررسی ۵۰۰ نمونه خام شیر حیوانات اهلی ازجمله گوسفند و بز در مناطق خرم‌آباد و نورآباد استان لرستان، گزارش کرد ۱/۸ درصد نمونه شیرها آلوده به باکتری کوکسیلا بورنتی بودند. قابل ذکر است که تمام نمونه‌های جمع‌آوری شده از منطقه نورآباد ازنظر وجود ژنوم کوکسیلا بورنتی منفی بودند [۳۶].

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۷ توسط موهبتی و همکاران به منظور بررسی وجود یا عدم وجود باکتری کوکسیلا بورنتی در نمونه شیر حیوانات ۴۳ مزرعه در استان‌های تهران، همدان و مازندران انجام شد ۱۴/۲ درصد نمونه‌ها توسط تست واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، مثبت اعلام شد. کوکسیلا بورنتی در ۱۷/۱۰ درصد از نمونه‌های شیر بز، ۱۸/۶ درصد نمونه‌های شیر گوسفندی و ۱۵ درصد نمونه‌های شیر گاو تشخیص داده شد [۳۷]. این یافته‌ها بیانگر این است که عفونت کوکسیلا بورنتی، به‌خصوص در نمونه‌های شیر خام، باید بیشتر موردتوجه سیستم بهداشت و سازمان دامپزشکی ایران قرار گیرد.

با نگاهی به مطالعات پیشین در سایر کشورها ازجمله مطالعه باسلار و همکاران در سال ۱۹۹۱ در کشور پرتغال، ریهاسک و همکاران در سال ۱۹۹۳ در آلمان، کروزواسکا و همکاران در سال ۱۹۹۶ در لهستان، آندو و همکاران در سال ۲۰۰۸، حلاجیان و همکاران در سال ۲۰۱۳ در آفریقای جنوبی و غنیم و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مصر می‌توان اظهار کرد که نتایج به‌دست آمده در مطالعه حاضر هم‌سو و مشابه مطالعات نامبرده می‌باشد [۳۳، ۳۸-۴۰].

نتیجه‌گیری

نتیجه تحقیق حاضر بیانگر عدم وجود ژنوم باکتریایی در کنه‌های صید شده از دام‌های منطقه سیستان می‌باشد. با این حال، باتوجه‌به نتایج مطالعات پیشین در استان سیستان و بلوچستان و استان‌های همسایه آن که شیوع بالایی از باکتری را در کنه های صید شده گزارش کردند، به‌نظر می‌رسد تحقیقات گسترده‌تر، با حجم نمونه بالاتر و گستره میزبانی بیشتر برای روشن‌شدن وضعیت این پاتوژن در ناقلین کنه‌ای انجام شود.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق پژوهش

تمامی اصول اخلاقی در این مقاله رعایت شده است.

حامی مالی

این مقاله با حمایت مالی دانشگاه زابل (با شماره کمک هزینه UOZ-GR-9719-46) و هزینه شخصی نویسندگان انجام شد.

مشارکت نویسندگان

مفهوم‌سازی: اسدالله حسینی چگنی، زکیه تلمادره‌ای و داریوش سعادتی؛ روش‌شناسی: امیرسجاد جعفری، امیر مسعود جعفری نوزاد و سحر اسدالهی زوج؛ تحقیق: مهدی راسخ، فائزه فقیهی، سحر اسدالهی زوج و اسدالله حسینی چگنی؛ نگارش پیش‌نویس اصلی: امیرسجاد جعفری و امیرمسعود جعفری نوزاد؛ نگارش نقد و ویرایش: داریوش سعادتی، مهدی راسخ، زکیه تلما دره‌ای و فائزه فقیهی؛ تأمین مالی: سحر اسدالهی زوج و داریوش سعادتی؛ منابع: سحر اسدالهی زوج، اسدالله حسینی چگنی، فائزه فقیهی و زکیه تلمادرایی؛ سرپرستی: داریوش سعادتی، مهدی راسخ، زکیه تلمادره‌ای و فائزه فقیهی.

تعارض منافع

بنابر اظهار نویسندگان این مقاله تعارض منافع ندارد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه زابل قدردانی می‌کنند.

References

[1] Yin MY, Tan QD, Qin SY, Hu LY, Liu GH, Zhou DH, et al. First serologic survey of Q fever in free-range yaks in China. Iran J Vet Res. 2015; 16(2):210-2. [PMID] [PMCID]

[2] Million M, Raoult D. Recent advances in the study of Q fever epidemiology, diagnosis and management. J. Infect. 2015; 71 (Suppl 1):S2-9. [DOI:10.1016/j.jinf.2015.04.024] [PMID]

[3] Raoult D, Marrie T, Mege J. Natural history and pathophysiology of Q fever. Lancet Infect Dis. 2005; 5(4):219-26. [DOI:10.1016/S1473-3099(05)70052-9] [PMID]

[4] Maurin M, Raoult D. Q fever. Clin Microbiol Rev. 1999; 12(4):518-53. [DOI:10.1128/CMR.12.4.518] [PMID] [PMCID]

[5] Aflatoonian M, KHalili M, Rahanjam M, Aflatoonian B. [Q fever seroepidemiology and associated risk factors in veterinarians and vet staff in Southern Khorasan, Iran (Persian)]. Iran J Epidemiol. 2016; 11(4):38-45. [Link]

[6] 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):115-90. [DOI:10.1128/CMR.00045-16] [PMID] [PMCID]

[7] Shannon JG, Heinzen RA. Adaptive immunity to the obligate intracellular pathogen coxiella burnetii. Immunol Res. 2009; 43(1-3):138-48. [DOI:10.1007/s12026-008-8059-4] [PMID] [PMCID]

[8] Hartzell JD, Wood-Morris RN, Martinez LJ, Trotta RF. Q fever: Epidemiology, diagnosis, and treatment. Mayo Clin Proc. 2008; 83(5):574-9. [DOI:10.4065/83.5.574] [PMID]

[9] Angelakis E, Raoult D. Q fever. Vet Microbiol. 2010; 140(3-4):297-309. [DOI:10.1016/j.vetmic.2009.07.016] [PMID]

[10] Mediannikov O, Fenollar F, Socolovschi C, Diatta G, Bassene H, Molez JF, et al. Coxiella burnetii in humans and ticks in rural Senegal. PLoS Negl Trop Dis. 2010; 4(4):e654. [DOI:10.1371/journal.pntd.0000654] [PMID] [PMCID]

[11] Parker NR, Barralet JH, Bell AM. Q fever. Lancet. 2006; 367(9511):679-88. [DOI:10.1016/S0140-6736(06)68266-4] [PMID]

[12] Duron O, Sidi-Boumedine K, Rousset E, Moutailler S, Jourdain E. The importance of ticks in Q fever transmission: What has (and has not) been demonstrated? Trends Parasitol. 2015; 31(11):536-52. [DOI:10.1016/j.pt.2015.06.014] [PMID]

[13] Fard SN, 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. [PMID] [PMCID]

[14] Špitalská E, Kocianová E. Detection of coxiella burnetii in ticks collected in Slovakia and Hungary. Eur J Epidemiol. 2003; 18(3):263-6. [DOI:10.1023/A:1023330222657] [PMID]

[15] Walker AR, Bouattour A, Camicas JL, Estrada-Peña A, Horak IG, Latif AA, et al. Ticks of domestic animals in Africa: A guide to identification of species. Scotland:Edinburgh; 2003. [Link]

[16] Parisi A, Fraccalvieri R, Cafiero M, Miccolupo A, Padalino I, Montagna C, et al. Diagnosis of Coxiella burnetii-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. Vet Microbiol. 2006; 118(1-2):101-6. [PMID]

[17] Ghosh S, Nagar G. Problem of ticks and tick-borne diseases in India with special emphasis on progress in tick control research: A review. J Vector Borne Dis. 2014; 51(4):259-70. [PMID]

[18] Psaroulaki A, Hadjichristodoulou C, Loukaides F, Soteriades E, Konstantinidis A, Papastergiou P, et al. Epidemiological study of Q fever in humans, ruminant animals, and ticks in Cyprus using a geographical information system. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2006; 25(9):576-86. [DOI:10.1007/s10096-006-0170-7] [PMID]

[19] Sprong H, Tijsseklasen E, Langelaar M, De Bruin A, Fonville M, Gassner F, et al. Prevalence of coxiella burnetii in ticks after a large outbreak of Q fever. Zoonoses Public Health. 2012; 59(1):69-75. [DOI:10.1111/j.1863-2378.2011.01421.x] [PMID]

[20] 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. [Link]

[21] Telmadarraiy Z, Chinikar S, Vatandoost H, Faghihi F, Hosseini-Chegeni A. Vectors of Crimean Congo hemorrhagic fever virus in Iran. Iran J Arthropod Borne Dis. 2015; 9(2):137-47. [PMID] [PMCID]

[22] 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):219-23. [PMID] [PMCID]

[23] 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):919-26. [DOI:10.4236/jbise.2014.711089]

[24] Bakhshai A, Askari N, Etebar F, Ebrahimzade E. Hard ticks fauna in the area of domestic Ruminants and Kohnuj Jiroft, Kerman Province, Iran. J Vet Lab Res. 2012; 4(1):145-9.

[25] Champour M, Chinikar S, Mohammadi G, Razmi G, Shah-Hosseini N, Khakifirouz S, et al. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus detected from ticks of one humped camels (Camelus dromedarius) population in Northeastern Iran. J Parasit Dis. 2016; 40(1):110-5. [PMID] [PMCID]

[26] Ghashghaei O, Yakhchali M, Nourollahi-Fard SR. [Hard ticks (Acari: Ixodidae) infestation in ruminants of some areas in Ilam province, Iran (Persian)]. J Vet Res. 2019; 74(3):322-9. [DOI:10.22059/jvr.2019.203153.2448]

[27] Salim Abadi Y, Telmadarraiy Z, Vatandoost H, Chinikar S, Oshaghi M, Moradi M, 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. [PMID] [PMCID]

[28] 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. 2018; 15(2):75-82. [DOI:10.3923/je.2018.75.82]

[29] Aydin L, Bakirci S. Geographical distribution of ticks in Turkey. Parasitol Res. 2007; 101(Suppl 2):S163-6. [DOI:10.1007/s00436-007-0694-5] [PMID]

[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. [DOI:10.1007/s10493-012-9530-4] [PMID]

[31] 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 Acarol. 2020; 46(2):83-7. [DOI:10.1080/01647954.2020.1711803]

[32] 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 (Persian)]. Iran J Public Health. 2019; 17(1):71-82. [Link]

[33] 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 (Persian)]. Res Med. 2008; 32(3):253-7. [Link]

[34] Ghashghaei O, Nourollahi Fard SR, 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. [DOI:10.3906/vet-1601-83]

[35] Esmaeilnejad B, Gharekhani J, Samiei A, Rezaei H. [Molecular detection of Coxiella burnetii in ticks isolated from goats of Meshkin-Shahr county, Ardabil province, Iran (Persian)]. Nova Biologica Reperta. 2020; 7(3):315-21. [DOI:10.52547/nbr.7.3.315]

[36] 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. J Med Bacteriol. 2018; 7(1-2):31-5. [Link]

[37] Mobarez AM, Mostafavi E, Khalili M, Esmaeili S. Identification of coxiella burnetii in raw milk of livestock animal in Iran. Int J Microbiol. 2021; 2021:6632036. [DOI:10.1155/2021/6632036] [PMID] [PMCID]

[38] Andoh M, Andoh R, Teramoto K, Komiya T, Kaneshima T, Takano A, et al. Survey of coxiella burnetii in ticks collected from dogs in Japan. J Vet Med Sci. 2013; 75(8):1115-7. [PMID]

[39] 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 Rumin Res. 2020; 191:106173. [DOI:10.1016/j.smallrumres.2020.106173]

[40] 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):361-6. [DOI:10.1016/j.ttbdis.2015.12.008] [PMID]

This Page Intentionally Left Blank