

**Research Paper**



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

Sahar Asadolahizoj<sup>1</sup> , \*Dariush Saadati<sup>2</sup> , Mehdi Rasekh<sup>3</sup> , Amirsajad Jafari<sup>1</sup> , Amirmasood Jafari Nozad<sup>4</sup> , Faezeh Faghihi<sup>5</sup> , Zakkayeh Telmadarrai<sup>6</sup> , Asadollah Hosseini-Chegeni<sup>7</sup>

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.



**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 Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(3):328-339. <https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460>

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



**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* (59.39%) 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 anatomicum* (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](mailto: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 (Zabol, 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 -20°C 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, Nimroz, 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 5 CCCAACACCTCTTATTTC 3	Trans1 Trans2
	203	5 GAGCGAACCATGGTATCG 3 5 CTTAACAGCGTTAACGT 3	261F 463R

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

Area	Rhipicephalus			Hyalomma		
	Rhipicephalus Sanguineous	Hyalomma Anatomicum	Rhipicephalus Nymph	Hyalomma Anatomicum	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**  
**Journal of Medical Sciences**

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 Zabol, 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 anatomicum 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 Zabol (grant number UOZ-GR-9719-46) and the authors' personal expenses.

### Authors contributions

Conceptualization: Asadollah Hosseini-Chegeni, Zakkyeh Telmadarrai, 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 Telmadarrai and Faezeh Faghihi; Funding Acquisition: Sahar Asadolahizoj and Dariush Saadati; Resources, Author names: Sahar asadolahizoj, Asadollah Hosseini-Chegeni, Faezeh Faghihi and Zakkyeh Telmadarrai; Supervision, Author names: Dariush Saadati, Mehdi Rasekh, Zakkyeh Telmadarrai 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 کنهای سخت جداسده از دامهای اهلی منطقه سیستان به عنوان ناقلین بالقوه کوکسیلا بورنی

سحر اسداللهی زوج<sup>۱</sup>، \*داریوش سعادتی<sup>۲</sup>، مهدی راسخ<sup>۳</sup>، امیرسجاد جعفری<sup>۴</sup>، امیرمسعود جعفری نوزاد<sup>۵</sup>، فائزه فقیهی<sup>۶</sup>،  
زکیه تلمادرهای<sup>۷</sup>، اسدالله حسینی چگنی<sup>۸</sup>

۱. گروه دامپژوهشکی، دانشکده دامپژوهشکی زابل، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲. گروه بهداشت موادغذایی، دانشکده دامپژوهشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپژوهشکی، 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 حشرشناسی پزشکی و مبارزه با ناقلین، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
۷. گروه گیاه پزشکی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان، لرستان، ایران.



**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 Journal of Medical Sciences*. 2022; 21(3):328-339.  
<https://doi.org/10.32598/JSMJ.21.3.2460>



## چیکیده

؛ مبنیه و هدف کوکسیلا بورنی (عامل بیماری تب کیو) یک بیماری مشترک بین انسان و دام (زئونوز) با وجود جهانی است. کنهای 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 بورنی در کنهای سخت جداسده 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 کنهای سخت پس از جداسازی از برخی دامهای اهلی شناسایی شد. تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای، برای شناسایی زئوم باکتریایی استفاده شد.

یافته‌ها از نظر تنوع، دو جنس و سه گونه صید شد. جنس‌ها عبارت‌اند از: ۲۴۲ عدد ریپیسفالوس (۴۰/۶ درصد) و ۳۵۴ عدد هیالوما (۵۷/۳۹ درصد) و گونه‌ها شامل ۲۳۸ عدد ریپیسفالوس سانگوئینوس (۱۱/۴ درصد)، ۳ عدد نمف ریپیسفالوس (۵/۰ درصد)، ۲۸۳ هیالوما آناتولیکوم (۵/۷ درصد)، ۹ عدد سایر هیالومها (۱/۵ درصد)، ۶۲ عدد نمف هیالوما (۱۰/۴ درصد) و یک عدد ریپیسفالوس (بوفیلوس) آنولاتوس بود (۱/۶ درصد). در مطالعه حاضر هیچ آنودگی به کوکسیلا بورنی در استان سیستان مشاهده نشد.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج مطالعات پیشین در استان سیستان و بلوچستان و استان‌های همسایه آن که شیوع بالایی از باکتری را در کنهایی صیدشده گزارش کردند، بهنظر می‌رسد باید تحقیقات گسترده‌تر، با حجم نمونه بالاتر و گستره میزانی بیشتر، برای روشن شدن وضعیت این پاتوژن در ناقلین کنهای انجام شود.

کلیدواژه‌ها: کوکسیلا بورنی، زئونوز، کنهای سخت، تب کیو، سیستان

تاریخ دریافت: ۲۲ فروردین ۱۴۰۰

تاریخ پذیرش: ۱۰ شهریور ۱۴۰۰

تاریخ انتشار: ۱۰ مرداد ۱۴۰۱

\* نویسنده مسئول:

دکتر داریوش سعادتی

نشانی: زابل، دانشگاه زابل، دانشکده دامپژوهشکی، گروه بهداشت موادغذایی.

تلفن: +۹۸ (۵۴) ۳۱۲۳۲۶۶۰

رایانامه: saadati.dariush@gmail.com

بعضی از مواد ضد عفونی کننده 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، محتمل تر از روش‌های دیگر است. انتقال بیماری از انسان به انسان دیگر، شایع نیست. انسان‌ها به صورت مستقیم توسط کنه‌ها آلوده نمی‌شوند بلکه نقش اصلی کنه، حفظ چرخه زندگی باکتری در طبیعت است [۶، ۹]. با اینکه چرخه زندگی کوکسیلا بورنی در سراسر به طور 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 واکوئی 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 فعل از نظر متابولیکی را تشکیل می‌دهد. فرم واکوئی بزرگ، درون سلول میزبان تکثیر می‌یابد [۱۰، ۱۱].

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

کنه‌ها به لحاظ اقتصادی مهم‌ترین انگل‌های خارج سلولی می‌باشند که می‌توانند گستره زیادی از پاتوژن‌ها از جمله پروتوزوآله، باکتری‌ها، ریکتزاها و ویروس‌های متنقل کنند [۱۳]. تنوع گونه‌های کنه‌های سخت در چندین جنس گنجانده می‌شود که در بین آن‌ها ایکسوس، هیالوما، ریپیسفالوس، درماستور، آمبیلوما، بوفیلوس و همامفیزالیس از اهمیت بیشتری در پزشکی برخوردارند. ازانجایی که کنه‌ها می‌توانند کوکسیلا بورنی را به صورت عمودی و همچنین به صورت افقی منتقل کنند، به عنوان ناقل و مخزن باکتری در طبیعت به حساب می‌آیند و برای حفظ باکتری در چرخه انتقال طبیعی ضروری هستند [۱۴].

با توجه به شرایط آب و هوایی (گرم و خشک) که باعث گسترش کنه‌ها می‌شود و شیوه پرورش حیوانات در شرق ایران، تب کیو می‌تواند به عنوان یکی از مهم‌ترین بیماری‌های زئونوز در این مناطق به شمار آید. با درنظر گرفتن عوارض بالینی خطرناک کوکسیلا بورنی در انسان و حیوانات اهلی و همچنین فقدان مطالعات جامع در این زمینه، مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع کوکسیلا بورنی در کنه‌های سخت جدا شده از دام‌های اهلی منطقه سیستان در شمال استان سیستان و بلوچستان انجام شد تا با مخصوص کردن 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

## مقدمه

تب کیو<sup>۱</sup> یک بیماری مشترک بین انسان و دام، زئونوز<sup>۲</sup> است که توسط پاتوژن درون سلولی کوکسیلا بورنی (از خانواده ریکتزاپس) به وجود می‌آید. انسان به عنوان میزبان نهایی برای باکتری کوکسیلا بورنی شناخته می‌شود. تب کیو، اولین بار در سال ۱۹۳۵ در استرالیا و با شیوه تب گسترده در کارگران کشتارگاه‌ها گزارش شد [۱]. این بیماری می‌تواند گوهای مختلفی جهان گزارش شد [۲]. این بیماری می‌تواند گوهای از جمله اسپورادیک، اندمیک یا حتی پاندمی در کشورهای مختلف نشان دهد [۳]. عفونت با کوکسیلا بورنی می‌تواند حد یا مزمن باشد و طیف وسیعی از علائم بالینی را از خود نشان دهد. عفونت‌زایی شدید باکتری منجر به آلودگی‌های وسیع و گستردگی شده است و آنرا به یک اسلحه زیستی بالقوه تبدیل کرده است [۴]. هر چند 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 از جمله فرانسه و آلمان می‌باشد. در برخی کشورها نیز ممکن است آمار شیوع تب کیو به دلیل نظارت و تشخیص ضعیف، به اشتباہ پایین اعلام شود [۴].

تب کیو در انسان معمولاً نشانه‌های بالینی خاص ندارد؛ بنابراین ممکن است به اشتباہ به عنوان بیماری‌های شبیه آنفلوآنزا تشخیص داده شود [۱]. عفونت در شکل حاد به صورت شبیه آنفلوآنزا همراه با علائم عمومی ناخوشی از جمله شروع ناگهانی تب، بدن درد و کوفتگی، تعریق، سردرد و کم‌شدن اشتها تشخیص داده شده است. در برخی بیماران پنومونی، آسفالوباتی، التهاب کبد و منژیت نیز گزارش شده است. بیماری در فرم مزمن می‌تواند باعث سندروم خستگی مزمن و اندوکاردیت شود [۵].

کوکسیلا بورنی<sup>۳</sup> 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 بورنی دیواره سلولی مشابه باکتری‌های گرم منفی دارد، با روش گرم قابل رنگ‌آمیزی نیست [۶]. مخازن کوکسیلا بورنی طیف وسیعی از حیوانات از جمله گاو، گوسفند، پرندگان و خزنده‌گان را شامل می‌شود. علاوه بر این، بندپایان نیز می‌توانند عفونت را منتقل کنند. انسان معمولاً توسط استنشاق آئروسل‌های آلوده بیمار شود اما امکان آلوده‌شدن از طریق دستگاه گوارش، آسیبهای جلدی ناشی از گزش کنه، تزریق خون، مصرف شیر خام و محصولات لبنی آلوده و طی تماس جنسی نیز وجود دارد [۷، ۸]. کوکسیلا بورنی برخلاف بسیاری از پاتوژن‌های بیماری‌زای دیگر به عوامل فیزیکی و شیمیایی از جمله دمای بالا، خشکی و

1. Q Fever

2. Zoonotic Diseases

3. Coxiella Burnetii

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

پرایمر	توالی پرایمر (۵'-۳')	طول مخصوص PCR(bp)	محصول تکثیر
Trans1	5 TATGTATCCACCGTAGGCCAGTC 3	687	IS1111
Trans2	5 CCCAACACACCTCTTATTTC 3		
261F	5 GAGCGAACCATGGTATCG 3		
463R	5 CTTAACAGCGCTTGAACGT 3		

## جندي شاپور

هموزن (ازت مایع در منفی ۱۹۶ درجه سانتی گراد) و لهشده و استخراج DNA توسط کیت استخراج اکس ژن (جین آل، کره جنوبی، کره جنوبی) صورت پذیرفت. تا زمان انجام آزمایشات مولکولی، نمونه‌های DNA در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند. تکنیک واکنش زنجیرهای پلیمراز آشیانه‌ای با استفاده از پرایمرها و پروتوكل استفاده شده در مطالعه پاریسی و همکاران [۱۶] برای تکثیر ژنوم باکتریایی انجام شد (جدول شماره ۱). کنترل مثبت تست، سویه لئوفیلیزهی فاز یک ناین مایل (RSA-493، دانشگاه شهید بهمن کرمان) با فنل کشته و سپس خالص‌سازی شده بود. آب مقطر نیز به عنوان کنترل منفی تست استفاده شد. نمونه‌ها روی ژل آکارز 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.

### تجزیه و تحلیل 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 آزمون آماری نسبت درست نمایی مرربع 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 سیستان و بلوچستان (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. به طور متوسط میزان آلودگی به کنه برای هر رأس دام برابر با ۴/۲۸ می‌باشد. درصد آلودگی دامها در زابل، نیمروز، زهک، هیرمند و هامون به ترتیب عبارت است از: ۴۷/۵ درصد، ۸۵ درصد، ۷۸ درصد، ۷۵ و ۶۵ درصد، تعداد کنه‌های بالغ نر، بالغ ماده و نمف به ترتیب برابر با ۳۰۰ (۵۰/۳)، ۵۰/۳، ۲۳۰ (۳۸/۶) و ۱۱/۱ (۳۸/۶) 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. از نظر تنوع دو جنس و سه گونه صید شد که جنس‌ها عبارت‌اند از: ۲۴۲ عدد ریپیسفالوس

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 سیستان و بلوچستان با وسعتی حدود ۱۸۰/۷۲۶ کیلومتر مربع، با قرار گرفتن 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 ۶۱/۴۹۶ 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. با توجه به 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 جمع‌آوری کننده 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، میزان و مکان صید در گروه‌های ۳-۵ طبقه‌بندی شدند. سپس کنه‌ها

جدول ۲. فراوانی جنس و گونه کنه های صید شده براساس میزان

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

مجله علمی پژوهشی  
جندی شاپور

از: ۱۴۲ (۸۲/۸ درصد)، ۱۱۳ (۴۲ درصد) و ۱۴ (۵/۲ درصد). بنابراین تعداد کنه های بالغ نر و بالغ ماده به ترتیب برابر با ۳۰۰ (۵۶ درصد)، ۲۳۰ (۴۴ درصد) و فراوانی جنسیت ماده در هر دو جنس هیالوما و ریپیسفالوس کمتر از جنسیت نر می باشد. تعداد بالغین ۵۳۰ عدد (۸۹ درصد) و تعداد نمف ها ۶۶ عدد (۱۱ درصد) می باشد (جدول شماره ۳).

**جدول شماره ۴** آلودگی دامها به کنه را براساس سن نشان می دهد. فراوانی گواههای آلوده، عموماً در بازه 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 گروه های سنی میزانهای مختلف، تفاوت آماری معناداری دارد ( $P<0.01$ ).

آزمایش تکنیک واکنش زنجیره ای پلیمراز آشیانه ای از ۲۰۰ عدد کنه تست شده برای شناسایی مولکولی کوکسیلا بورنی، هیچ کدام آلوده به باکتری نبودند.

شامل ۳۵۴ عدد هیالوما (۵۹/۳۹۹ درصد) و گونه ها عدد ۲۳۸ عدد ریپیسفالوس سانگوئینوس (۴۰/۱ درصد)، ۳ عدد نمف ریپیسفالوس (۵/۰ 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 (۱۶/۰ درصد). **جدول شماره ۲** فراوانی جنس و گونه را براساس میزان نشان می دهد. در گاو و بز، فراوان ترین جنس هیالوما و در گوسفند ریپیسفالوس بود (جدول شماره ۲).

شیوع آلودگی به کنه های مختلف در میزانهای مختلف از نظر آماری معنادار بود ( $P<0.01$ ). فراوانی هر گونه براساس منطقه جغرافیایی نیز در **جدول شماره ۳** نشان داده شده است. فراوان ترین جنس در زابل، زهک و هامون هیالوما و در نیمروز و هیرمند ریپیسفالوس بود. مشخص شد که شیوع آلودگی به کنه های مختلف در مناطق جغرافیایی مختلف، تفاوت آماری معناداری دارد ( $P<0.01$ ).

تعداد کنه های نر، ماده و نمف صید شده به ترتیب عبارت بودند

جدول ۳. فراوانی جنس و گونه کنه های صید شده براساس منطقه جغرافیایی

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

مجله علمی پژوهشی  
جندی شاپور

جدول ۴. فراوانی کنه‌های صیدشده بر حسب نوع و سن میزبانان دامیا

تعداد کنه‌ها بر حسب گروه‌های سنی دام			میزان
بیشتر از ۳ سال	۱-۳ سال	کمتر از ۱ سال	
۱۱	۴۱	۰	گلو
۲	۷۸	۰	بز
۷۱	۲۸۳	۱۱۰	گوسفند
۸۴	۴۰۲	۱۱۰	مجموع

## محله علمی پژوهشی جندي شاپور

هیالوما مارژیناتوم (۱۳/۲۰ درصد)، هیالوما آناتولیکوم (۹/۷۸ درصد) و هیالوما سوپنس (دتریتوم) (۸/۴ درصد) به عنوان فون غالب منطقه گزارش شدند [۲۷]. مطالعات ذکر شده با نتایج مقاله حاضر هم خوانی دارند.

بررسی‌های صورت گرفته پیشین در کشورهای همسایه ایران از جمله 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 غالب بودن فون هیالوما و ریپیسفالوس در آسیا می‌باشد، حال آنکه مطالعات پیشین بیانگر غالبيت ایکسوسدوس در اروپا می‌باشند [۳۲]. اختلافات جزئی بین نتایج مطالعه حاضر با نتایج بررسی‌های گذشته با توجه به تنوع اقلیم‌های آب و هوایی، متفاوت بودن فصول و مکان نمونه‌گیری و همچنین به کارگیری روش‌های متفاوت در حذف ناقلين توجیه پذیر است.

در مطالعه حاضر و با بررسی ۲۰۰ نمونه کنه سخت جدا شده از دام‌های اهلی منطقه زابل، هیچ ژنوم باکتریایی کوکسیلا بورنیتی 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 ۱۰۵ نمونه (شامل نمونه خون انسان، گوسفند، گاو، بز، سگ و جوجه تیغی) و ۶۰۵ عدد کنه سخت، وجود ژنوم کوکسیلا بورنیتی در نمونه‌ها را منفي اعلام کردند [۳۳].

با اين حال، مطالعات انجام شده در استان‌های همسایه از جمله کرمان و منطقه بلوچستان و برخی دیگر از استان‌های غربی کشور، شیوع بالایی از کوکسیلا بورنیتی را در نمونه‌های بررسی شده 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 بورنیتی 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

## بحث

کنه‌های پراکندگی جهانی، به دلیل تأثیرات قابل توجه 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 پژوهشی و دامپزشکی با آن‌ها مواجه هستیم و شیوع آن‌ها نیز رو به افزایش است [۱۷-۱۹].

کوکسیلا بورنیتی 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 سیستان و بلوچستان را تشکیل می‌دهد. هیالوما آناتولیکوم به عنوان یک ناقل تب خونریزی دهنده کریمه-کنگو در ایران گزارش شده است [۲۱]. دومین گونه غالب در تحقیق حاضر ریپیسفالوس سانگوئینوس بود که به نام 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 مشخص کردن توزیع گونه‌های کنه سخت در شهر زابل انجام شد، جنس‌های غالب کنه در منطقه سیستان، هیالوما و ریپیسفالوس گزارش شدند [۲۲]. عجفریکلو 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 کهنوچ 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 میزان شتر تک کوهانه منطقه خراسان و بررسی آن‌ها، گونه غالب را هیالوما درودمباری 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 درودمباری (۵۵/۹۲ درصد)،

همکاران در سال ۲۰۱۳ در آفریقای جنوبی و غنیم و همکاران در سال ۲۰۱۹ در مصر می‌توان اظهار کرد که نتایج به دست آمده در مطالعه حاضر همسو و مشابه مطالعات نامبرده می‌باشد [۳۳، ۴۰-۴۸].

### نتیجه‌گیری

نتیجه تحقیق حاضر بیانگر عدم وجود ژنوم باکتریایی در کنه‌های صید شده از دام‌های منطقه سیستان می‌باشد. با این حال، با توجه به نتایج مطالعات پیشین در استان سیستان و بلوچستان و استان‌های همسایه آن که شیوع بالای از باکتری را در کنه‌های صید شده گزارش کردند، به نظر می‌رسد تحقیقات گسترشده‌تر با حجم نمونه بالاتر و گستره میزانی بیشتر برای روشن شدن 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 نویسنده انجام شد.

#### مشارکت نویسنده‌گان

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

#### تعارض منافع

بنابر اظهار نویسنده‌گان این مقاله تعارض منافع ندارد.

#### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان از حمایت مالی [دانشگاه زابل](#) قدردانی می‌کنند.

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 بورنی 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 میزانی 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 اسماعیل نژاد روی کنه‌های بزهای شهرستان مشکین شهر استان اردبیل انجام شده است، وجود کوکسیلا بورنی در برخی گونه‌ها از جمله هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم، هیالوما اکسکواوتوم، هیالوما آسیاتیکوم آسیاتیکوم، هیالوما مارژیناتوم، هیالوما سوبنس (دتریتوم)، هیالوما درومداری، ریپیسفالوس تورانیکوس، ریپیسفالوس بورسا و ریپیسفالوس سانگوئنوس گزارش شد [۳۵].

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

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۷ توسط موهبتی و همکاران به منظور بررسی وجود یا عدم وجود باکتری کوکسیلا بورنی 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 بورنی 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 بورنی، به خصوص در نمونه‌های شیر خام، باید بیشتر مورد توجه سیستم بهداشت و سازمان دامپزشکی ایران قرار گیرد.

با نگاهی به مطالعات پیشین در سایر کشورها از جمله 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

## 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] Špitálská 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, Tijssenklasen 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, Shahheidarpour 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] Telmadarrai 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 (Acaria: Ixodidae) in Zabol County, Eastern Iran. *J Arthropod Borne Dis.* 2014; 8(2):219-23. [PMID] [PMCID]
- [23] Jafarbekloo A, Bakhshi H, Faghihi F, Telmadarrai 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, Khakifirooz 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 (Acaria: 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, Telmadarrai 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, Alyousif M, Puschendorf R, Abdel-Shafy S. Ticks (Acaria: Ixodidae) infesting domestic and wild mammals 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, Oshaghii MA, Edalat H, Telmadarraiyan 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, Takanoh 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, Abuwarda 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