یافته‌های نوین در علوم زیستی
جلد ۷، شماره ۳، صفحات ۳۱۵الی ۳۲۱ (۱۳۹۹)
انتشارات دانشگاه خوارزمی

Nova Biologica Reperta 7(3): 315-321 (2020)
Print ISSN: 2423-6330/Online ISSN: 2476-7115
https://nbr.khu.ac.ir; Kharazmi University Press; DOI: 10.29252/nbr.7.3.315

شناسایی مولکولی کوکسیلا بورنتی در کنه‌های جدا شده از بزهای شهرستان مشکین شهر، استان اردبیل، ایران

بیژن اسمعیل‌نژاد[۱]، جمال قره‌خانی[۲،۱]، آوات سمیعی[۱] و هادی رضایی[۱]

[۱]گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ [۲]سازمان دامپزشکی کشور، همدان، ایران
مسئول مکاتبات: بیژن اسمعیل نژاد، b.esmaeilnejad@urmia.ac.ir

چکیده. کوکسیلا بورنتی عامل تب‌کیو است که بیش از ۴۰ گونه کنه در انتقال آن نقش دارند. هدف از مطالعه حاضر بررسی گونه‌های کنه سخت در گردش بزهای شهرستان مشکین شهر در استان اردبیل و نقش آن‌ها در انتقال کوکسیلا بورنتی بود. در یک نمونه‌گیری تصادفی از فروردین ۱۳۹۴ لغایت فروردین ۱۳۹۵، تعداد ۳۶۵ بز از نظر آلودگی به کنه‌های سخت مورد بازرسی قرار گرفتند. تعداد ۲۸۰ کنه جمع‌آوری شده از سطح بدن دام‌ها مورد شناسایی قرار گرفته و از نظر آلودگی به کوکسیلا بورنتی به روش مولکولی بررسی شدند. ۴۰/۸ درصد از دام‌ها حداقل به یک کنه آلوده بودند. هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۳۳/۹ درصد)، ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۲۲/۱ درصد)، ریپی‌سفالوس تورانیکوس (۱۷/۱ درصد)، هیالوما اکسکاواتوم (۱۱/۱ درصد)، ریپی‌سفالوس بورسا (۵ درصد)، هیالوما دتریتوم (۳/۹ درصد)، هیالوما درومداری (۳/۶ درصد)، هیالوما اسیاتیکوم اسیاتیکوم (۱/۸ درصد) و هیالوما مارژیناتوم (۱ درصد) گونه‌های شناسایی‌شده هستند. اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان آلودگی دام‌ها به کنه و فصول مختلف، جنس و سن آن‌ها مشاهده نشد (p=۰/۰۵). در بررسی مولکولی ۲۸۰ کنه صید شده، ۵ مورد از ۴۰ دسته شامل هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۳ pool)، هیالوما اکسکاواتوم (۱ pool) و ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۱ pool) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند. بررسی حاضر اولین گزارش از وضعیت آلودگی کنه‌ها به کوکسیلا بورنتی در شمال‌غرب ایران است. با توجه به زئونوز بودن تب‌کیو، مطالعه بیشتر در مورد ناقلین و میزبان‌های دیگر ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی. بز، تب‌کیو، شمال‌غرب ایران، کنه سخت، واکنش زنجیره پلی‌مراز

Molecular detection of *Coxiella burnetii* in ticks isolated from goats of Meshkin-Shahr County, Ardabil Province, Iran

Bijan Esmaeilnejad[1], Jamal Gharekhani[1,2], Awat Samiei[1]& Hadi Rezaei[1]

[1]Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran; [2]Iranian Veterinary Organization, Hamedan, Iran
Correspondent author: Bijan Esmaeilnejad, b.esmaeilnejad@urmia.ac.ir

Abstract. Q fever is caused by *Coxiella burnetii* and is transmitted by more than 40 tick species. This study aimed to identify the tick species in goats of Meshkin-Shahr, Ardabil Province, Iran, and their role in the transmission of *C. burnetii*. A number of 365 goats were inspected for the infestation of hard ticks in a randomized sampling design, during a 1-year period from April 2013 to April 2014. A total number of 280 tick specimens were collected and identified and were then examined by molecular methods for the presence of *C. burnetii* infection. 40.8% of the infected animals had at least one species of tick. The goats which were studied were found to be infested by the following tick species: *Hyalomma anatolicum anatolicum* (33.9%), *Rhipicephalus sanguineus* (22.1%), *Rhipicephalus turanicus* (17.1%), *Hyalomma excavatum* (11.1%), *Rhipicephalus bursa* (5%), *Hyalomma detritum* (3.9%), *Hyalomma dromedarii* (3.6%), *Hyalomma asiaticum asiaticum* (1.8%), and *Hyalomma marginatum* (1%). There were no significant differences between the infestation rate in different seasons, genders and ages of the animals which were studied (p=0.05). The molecular assay of 280 tick specimens revealed the presence of *C. burnetii* infection in 5 out of 40 pool samples (6-8 tick individuals of the same species in each pool), including *H. anatolicum anatolicum* (3 pools), *H. excavatum* (1 pool) and *R. sanguineus* (1 pool). The present study, therefore, reports the rate of *C. burnetii* infection transmitted by hard ticks in North-West of Iran for the first time. According to the zoonotic aspect of Q fever, further studies on the carriers as well as other hosts of the infection were found to be necessary.

Key words. goat, hard tick, north-east Iran, PCR, Q fever

Received 13.05.2018/ Revised 21.05.2020/ Accepted 09.06.2020/ Published 21.11.2020

دریافت: ۱۳۹۷/۰۲/۲۳/ اصلاح: ۱۳۹۹/۰۳/۰۱/ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۳/۲۰/ انتشار: ۱۳۹۹/۰۹/۰۱

مقدمه

تب‌کیو (Q fever) یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و دام با گستره جهانی (به جز نیوزلند) است که عامل آن کوکسیلا بورنتی یک باکتری گرم منفی داخل سلولی اجباری است (Marrie, 1995; Khalili et al., 2011). کوکسیلا بورنتی از میزبان‌های مختلفی چون علفخواران اهلی، حیوانات خانگی، حیات وحش، پرندگان، ماهی‌ها، خزندگان و حتی بی‌مهرگانی نظیر کنه‌ها جدا شده است. اگرچه بز، گاو وگوسفند به عنوان مخازن اصلی کوکسیلا بورنتی معرفی شده‌اند؛ ولیکن پرندگان و بندپایان (عمدتاً کنه‌ها) نیز در انتقال آلودگی به انسان نقش برجسته‌ای دارند (Nourollahi-Fard & Khalili, 2011). کنه‌ها در انتقال طیف وسیعی از عوامل بیماری‌زا (باکتری، ویروس، ریکتزیا، اسپیروکت و تک یاخته) به انسان و دام‌ها نقش مهمی بر عهده دارند (Vilcins et al., 2005; Psaroulaki et al., 2006). بیش از ۴۰ گونه از کنه‌ها توانایی انتقال کوکسیلا بورنتی به روش افقی (از طریق مدفوع یا بزاق) و همچنین عمودی (از طریق تخم) را دارند (Kazar, 2005).

مهم‌ترین راه آلودگی در انسان از طریق استنشاق آئروسل‌های آلوده به کوکسیلا بورنتی در شیر، مدفوع، ادرار و ترشحات زایمانی نشخوارکنندگان آلوده است. تب‌کیو به عنوان یکی از مخاطرات بهداشتی وابسته به شغل در افرادی که با دام و محصولات آن‌ها در تماس هستند، مطرح است. به همین دلیل، دامپزشکان، کارشناسان آزمایشگاه، دامداران و کارگران کشتارگاه‌ها بیشترین افراد در معرض خطر هستند (Khalili et al., 2011). بیماری در انسان معمولاً بدون علائم بالینی بوده و در فرم ملایم آن به شکل یک بیماری شبه آنفولانزا بروز می‌کند. مواردی از پنومونی، هپاتیت و اندوکاردیت نیز گزارش شده است (Raoult et al., 2005). آلودگی در دام‌ها به خصوص در نشخوارکنندگان اغلب به صورت تحت بالینی بوده و با علائم سقط‌جنین، زایمان زودرس و یا ناباروری همراه است (Muskens et al., 2007). امروزه روش‌های تشخیص مولکولی به عنوان یک روش حساس با ویژگی بالا، نقش بسیار مهمی در شناسایی ناقلین و همچنین میزبانان آلوده به کوکسیلا بورنتی را دارند (Capin et al., 2013).

گزارشات متعددی از وقوع تب‌کیو در مناطق مختلف جهان به خصوص کشورهای همسایه ایران (عراق، افغانستان و ترکیه) در دسترس است (Leung-Shea & Danaher, 2006; Bailey et al., 2011; Karabay et al., 2011). از سال ۱۹۹۹ تا ۲۰۰۴ سه طغیان بیماری تب‌کیو از جمعیت بزها در جهان گزارش شده است (Nourollahi-Fard & Khalili, 2011). در یک مطالعه سرمی در همدان، ۵۴ درصد از جمعیت بزها و ۱۰۰ درصد از گله‌های بزی دارای تیتر آنتی‌بادی ضد کوکسیلا بورنتی بودند (Edalati Shokat et al., 2015). در مطالعه‌ای دیگر، ۲۷/۲ درصد از بزهای ایران از نظر سرمی مثبت گزارش شدند (Asadi et al., 201). هدف از مطالعه حاضر بررسی تنوع گونه‌ای کنه‌های سخت در جمعیت بزهای شهرستان مشکین شهر و نقش آن‌ها در انتقال کوکسیلا بورنتی در این منطقه است.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری کنه

در یک نمونه‌گیری تصادفی از فروردین ۱۳۹۴ لغایت فروردین ۱۳۹۵(در طول چهار فصل مختلف)، نواحی مختلف بدن ۳۶۵ رأس بز در منطقه مشکین‌شهر (استان اردبیل) از نظر وجود کنه‌های سخت مورد بازرسی قرار گرفت. نمونه‌های کنه به‌طور جداگانه با ذکر مشخصات دموگرافیک دام‌ها در بطری‌های درب‌دار شیشه‌ای استریل حاوی الکل دناتوره (اتانول ۹۵ درصد + متانول ۴ درصد + پیریدین ۱درصد) جمع‌آوری و جهت تشخیص گونه و همچنین آزمایشات مولکولی به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه منتقل شدند. کنه‌های بالغ با استفاده از میکروسکوپ لوپ و کلیدهای تشخیصی معتبر شناسایی شدند (Walker et al., 2003). کنه‌های هم گونه به ۴۰ دسته (pool) تقسیم شدند (هر دسته شامل ۸-۶ کنه).

سویه استاندارد کوکسیلا بورنتی

در این مطالعه از کنترل مثبت DNA ژنومی کوکسیلا بورنتی استاندارد موجود در کیت تشخیصی تجاری (K047, Genekam Biotechnology AG, Germany) استفاده شد.

استخراج DNA

برای استخراج DNA کوکسیلا بورنتی، ابتدا کنه‌ها از اتانول ۷۰ درصد خارج و روی کاغذ صافی تحت جریان هوا خشک شدند. سپس DNA با استفاده از یک کیت تجاری (DNA Extraction Kit, MBST, Iran) استخراج گردید. نمونه‌های DNA تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در فریزر با دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

Nested Trans- PCR

این روش به دلیل استفاده از پرایمرهای ژن IS1111 دارای حساسیت و ویژگی بالایی است (Vaidya et al., 2008). روش واکنش زنجیره پلیمراز آشیانه‌ای نسبت به روش‌های کلاسیک از سرعت، دقت، اختصاصیت و حساسیت بسیار بالایی

جدول۱- مشخصات پرایمرهای مورد استفاده در تشخیص کوکسیلا بورنتی.
Table 1. The primers used in the diagnosis of *C. burnetii*.

نام پرایمرها	توالی پرایمرها	نام ژن	طول قطعات (bp)
Trans1	5´ TATGTATCCACCGTAGCCAGTC 3´	IS1111	687
Trans2	5´ CCCAACAACACCTCCTTATTC 3´		
Trans1	5´ TATGTATCCACCGTAGCCAGTC 3´	IS1111	687
Trans2	5´ CCCAACAACACCTCCTTATTC 3´		
261 F	5´ GAGCGAACCATTGGTATCG 3´		203
463 R	5´ CTTTAACAGCGCTTGAACGT 3´		

برخوردار است؛ به همین دلیل از این روش برای تشخیص کوکسیلا بورنتی استفاده شد (Zabihi et al., 2014). حساسیت روش واکنش زنجیره پلیمراز آشیانه‌ای ۱۰ برابر بیشتر از واکنش زنجیره پلیمراز می‌باشد (Ogawa et al., 2004). برای انجام این روش، از دو جفت پرایمر ترانس ۱و ترانس ۲ و 2161F-463R ، (Trans-PCR) براساس قطعات شبه‌ترانس پوزیون تکراری (Trans-PCR) استفاده شد (جدول ۱) (Parisi et al., 2006).

واکنش‌های PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی۳ میکرولیتر DNA الگو، ۲۰۰ میکرومول dNTPs، ۱/۵ میکرومول Mgcl2، ۱/۵ واحد Taq DNA پلی‌مراز (شرکت سیناژن، ایران) و ۱ میکرولیتر از پرایمرها انجام شد. در مورد دو جفت پرایمر ترانس ۱ و ۲ هر واکنش PCR شامل ۳۵ سیکل بود. پیش از شروع سیکل‌ها یک مرحله دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه انجام شد. در طی انجام سیکل‌ها، مرحله دناتوراسیون در۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ در ۶۱ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه انجام شد. اکستنشن نهایی در دمای۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. در مورد پرایمر 2161F-463R نیز هر واکنش PCR شامل ۳۵ سیکل بود که مرحله دناتوراسیون در۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، آنیلینگ در ۵۴ درجهٔ سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه و اکستنشن در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ ثانیه انجام شد (Nourollahi-Fard & Khalili, 2011). پس از پایان برنامه PCR، ۸ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد حاوی ۲ میکرولیتر سایپرگرین منتقل و الکتروفورز با ولتاژ ۸۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه انجام شد. تصویر ژل با استفاده از ترانس لومیناتور (BTS- 20M, Japan) UV-Transilluminator مورد بررسی قرار گرفت.

تحلیل داده‌ها

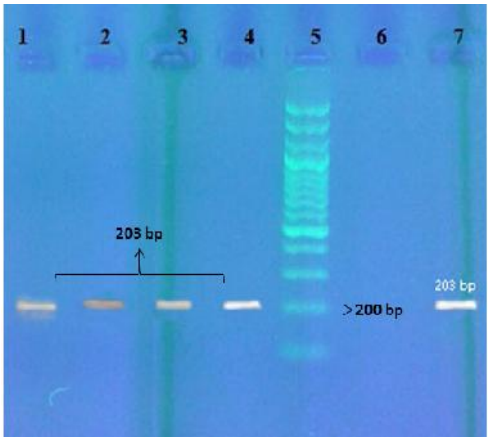
داده‌ها با استفاده از Stata, version 11.2 (College Station, TX, USA) تحلیل شدند. از آزمون مربع کای جهت محاسبه *P-value* با سطح معنی‌دار کوچکتر از ۰/۰۵ استفاده شد. همچنین از رگرسیون خطی برای تعیین اثر شاخص‌های خطر (سن، جنس و فصل) بر میزان آلودگی استفاده شد.

نتایج

تعداد ۱۴۹ از ۳۶۵ دام (۴۰/۸ درصد) حداقل به یک گونه ازکنه آلوده بودند (جدول ۲). هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۳۳/۹ درصد)، ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۲۲/۱ درصد)، ریپی‌سفالوس تورانیکوس (۱۷/۱ درصد)، هیالوما اکسکاواتوم (۱۱/۱ درصد)، ریپی‌سفالوس بورسا (۵ درصد)، هیالوما دتریتوم (۳/۹ درصد)، هیالوما درومداری (۳/۶ درصد)، هیالوما اسیاتیکوم اسیاتیکوم (۱/۸ درصد) و هیالوما مارژیناتوم (۱درصد) گونه‌های شناسایی شده هستند (جدول ۳). میزان آلودگی در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب (۵۴/۹ درصد)، (۳۲/۱ درصد)، (۳۹/۳ درصد) و (۲۲ درصد) محاسبه شد. در بررسی آلودگی با توجه به سن دام، میزان آلودگی ۴۱/۱ درصد در بزهای کمتر از ۲ سال، ۳۹/۹ درصد بین ۴-۲ سال و ۳۹/۷ درصد بیشتر از ۴ سال مشاهده شد. همچنین این میزان در بزهای نر (۴۵/۳ درصد) بیشتر از ماده (۳۷/۷ درصد) گزارش گردید. اختلاف آماری معنی‌داری بین میزان آلودگی به کنه در دام‌ها در فصول مختلف، جنس و گروه‌های مختلف سنی در دام‌ها مشاهده نشد (*P*=۰/۰۵، جدول ۲). در بررسی مولکولی ۲۸۰ کنه صید شده، ۵ مورد از ۴۰ دسته شامل هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۳ دسته)، هیالوما اکسکاواتوم (۱ دسته) و ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۱ دسته) آلوده به کوکسیلا بورنتی بودند (شکل ۱).

بحث

کنه‌ها از شایعترین گونه‌های بندپایان هستند که توانایی آلوده‌کردن گونه‌های مختلف حیوانات اهلی و وحشی و همچنین انسان را دارند. آن‌ها نقش بسیار مهمی در انتقال کوکسیلا بورنتی به میزبانان به‌ویژه



شکل ۱- تشخیص مولکولی کوکسیلا بورنتی در کنه‌ها با روش Nested Trans – PCR: خط ۵ به عنوان نشانگر (۱۰۰)، خط ۶ کنترل منفی و خط ۷ کنترل مثبت (203bp) و خطوط ۱ الی ۴ باندهای مربوط به نمونه‌های مثبت کوکسیلا بورنتی هستند.

Fig. 1. Molecular identification of *Coxiella burnetii* in ticks by means of nested trans- PCR method: Line 5 (marker 100), line 6 (negative control), Line 7 (positive control) and line 1-4 (positive samples of C. burnetii).

جدول۲- فراوانی آلودگی بزها به کنه‌های سخت براساس فصل، جنس و سن دام در مشکین شهر.

Table 2. Infestation rate of the goats of Meshkin-Shahr with hard ticks, on the basis of the season of sampling and the sex and the age of animals studied.

متغیر		تعداد دام نمونه‌گیری‌شده	(درصد) تعداد دام آلوده	*P*-value
فصل	بهار	۱۴۲	۷۸(۵۴/۹)	>۰/۰۵
	تابستان	۱۱۲	۳۶(۳۲/۱)	
	پاییز	۶۱	۲۴(۳۹/۳)	
	زمستان	۵۰	۱۱(۲۲)	
گروه های سنی (سال)	کمتر از ۲	۱۶۴	۶۹(۴۲/۱)	>۰/۰۵
	۲-۴	۱۳۸	۵۵(۳۹/۹)	
	بیشتر از ۴	۶۳	۲۵(۳۹/۷)	
جنس	نر	۱۵۰	۶۸(۴۵/۳)	>۰/۰۵
	ماده	۲۱۵	۸۱(۳۷/۷)	
جمع		۳۶۵	۱۴۹(۴۰/۸)	

جدول۳- فراوانی و تنوع گونه‌ای کنه‌های سخت جدا شده از بزهای مشکین شهر.

Table 3. Prevalence and diversity of hard ticks collected from the goats of Meshkin-Shahr.

گونه‌های کنه	تعداد جمع آوری شده	فراوانی
هیالوما اناتولیکوم اناتولیکوم	۹۵	۳۳/۹
ریپی‌سفالوس سانگوئینوس	۶۲	۲۲/۱
ریپی‌سفالوس تورانیکوس	۴۸	۱۷/۱
هیالوما اکسکاواتوم	۳۱	۱۱/۱
ریپی‌سفالوس بورسا	۱۴	۵
هیالوما دتریتوم	۱۱	۳/۹
هیالوما درومداری	۱۰	۳/۶
هیالوما اسیاتیکوم اسیاتیکوم	۵	۱/۸
هیالوما مارژیناتوم	۴	۱
جمع	۲۸۰	۱۰۰

جوندگان و پرندگان وحشی را دارند (Angelakis & Raoult, 2010). در بررسی حاضر، میزان شیوع آلودگی به کنه‌های سخت در بزهای مورد مطالعه، ۴۰/۸ درصد محاسبه گردید که در مطالعات پیشین این میزان در ایلام ۴۹/۶ درصد، کرمانشاه ۲۳/۵ درصد و آذربایجان غربی ۲/۹ درصد گزارش شده است (Rasouli et al., 2010; Sohrabi et al., 2013). همچنین میزان آلودگی در اتیوپی و پاکستان به‌ترتیب ۸۶/۱ درصد و ۷۲/۹ درصد گزارش شده است (Were de & Afera, 2014; Sajid et al., 2009). عمده تفاوت‌ها در نتایج به دلیل توزیع جغرافیایی، شرایط اقلیمی و سیستم‌های مدیریت در پرورش دام است (Sajid et al., 2009).

۱۶ گونه کنه سخت از دام‌های مناطق مختلف ایران جدا شده است که شایعترین آن‌ها مربوط به جنس هیالوما است (Nabian et al., 2007; Nabian & Rahbari, 2008). در یک مطالعه جامع از مناطق مختلف غرب و شمال‌غرب ایران، گونه‌های ریپی-سفالوس بورسا (۲۱/۹ درصد)، هیالوما مارژیناتوم (۱۳ درصد)، درماسنتور نیوئوس (۱۲/۹ درصد)، هیالوما اسیاتیکوم (۷/۳ درصد)، درماسنتور مارژیناتوس (۷/۳ درصد)، هیالوما دتریتوم (۵/۹ درصد)، هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۵/۲ درصد)، هیالوما اکسکاواتوم (۴/۸ درصد)، ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۴/۵ درصد)، درماسنتور راسکمنسیس (۴/۱ درصد) بوافیلوس کوهلسی (۳/۶ درصد)، همافیزالیس پونکتاتا (۳/۵ درصد)، ریپی‌سفالوس تورانیکوس (۲/۹ درصد)، همافیزالیس کولدوکوسکی (۲ درصد) و همافیزالیس پاروا (۰/۶ درصد) گزارش گردید (Nabian & Rahbari, 2008). همچنین در بررسی مشابه در استان اصفهان، گونه‌های هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم (۴۵/۸ درصد)، ریپی‌سفالوس سانگوئینوس (۳۳/۱ درصد)، هیالوما مارژیناتوم (۲۰/۸ درصد)، ریپی‌سفالوس بورسا (۲ درصد) و بوافیلوس آنولاتوس (۰/۰۷ درصد) گزارش گردید (Noaman et al., 2008). از ۸ گونه کنه جمع‌آوری شده متعلق به نواحی شمالی ایران، هیالوما اسیاتیکوم اسیاتیکوم و ریپی‌سفالوس بورسا به ترتیب بیشترین و کمترین فراوانی را داشتند (Keyhani et al., 2013).

در مطالعه حاضر هیچ‌گونه ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان آلودگی در دام‌ها با گروه‌های سنی مختلف، جنسیت دام‌ها و همچنین فصل مورد مطالعه یافت نشد (جدول ۲). بیشترین میزان آلودگی در جمعیت بزهای شهرستان میاندوآب در خردادماه گزارش شد (Rasouli et al., 2010). همچنین در پژوهشی مشابه، بیشترین شیوع آلودگی به کنه به ترتیب در فصول تابستان و بهار گزارش گردید (Salimabadi et al., 2010). کاهش جمعیت کنه‌ها در جمعیت دامی نسبت مستقیمی با کاهش رطوبت نسبی و میزان بارندگی و رابطه معکوسی با دمای محیط دارد. بیشترین تعداد کنه در دمای ۲۰-۱۰ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰-۵۰ درصد مشاهده می‌شود. در فصول گرم وخشک، کنه‌های بالغ برای بقاء گرایش به سطح زمین و استقرار در سطوح خاک دارند. این زمان بهترین شرایط برای اجرای برنامه‌های کنترلی و مبارزه با کنه‌ها است (Noaman et al., 2008). نتایج پژوهش‌های منتشر شده از کرمانشاه، ارومیه، اشنویه و تربت‌جام، حاکی از ارتباط معنی‌دار (p=۰/۰۵) آلودگی در بزهای بین سنین ۱ تا ۲ سال است (Yakhchali & Hajihasanzadehzarza, 2004; Yakhchali & Hosseine, 2006; Yakhchali & Azizi, 2007; Yakhchali & Ranjbargarmabolia, 2008; Sohrabi et al., 2013). افزایش سن دام ارتباط مستقیمی با آلودگی دارد. بر خلاف نتایج حاصل از این مطالعه، میزان آلودگی به کنه‌های سخت در کرمانشاه به طور معنی‌داری در دام‌های ماده بیش‌تر از نرها گزارش شده است (Sohrabi et al., 2013). تمایل دامداران به نگهداری از دام‌های ماده برای افزایش زایش و سود اقتصادی آن می‌تواند یکی از دلایل این موضوع باشد. همچنین سطح بالای هورمون‌های پرولاکتین و پروژسترون، استرس ناشی از آبستنی و شیرواری، در افزایش حساسیت دام‌ها به آلودگی‌های انگلی بسیار موثر است.

کنه‌ها به هنگام تغذیه، حجم بالایی از کوکسیلا بورنتی را به همراه مدفوع خود روی پوست میزبان دفع می‌کنند. استراتژی-های مناسب در کنترل کنه و رعایت موازین بهداشتی نقش بسیار مهمی را در کاهش آلودگی محیط دارند (Nabian et al., 2007). در این مطالعه برای استخراج DNA از دسته‌های کنه به دلیل فراهم‌شدن شرایط آزمایش برای تعداد بیشتری از نمونه‌ها استفاده شد. تاکنون، آلودگی به کوکسیلا بورنتی در بیش از ۴۰ گونه از کنه تشخیص داده شده است (Asadi et al., 2014). در این پژوهش، حضور کوکسیلا بورنتی در گونه‌های هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم، هیالوما اکسکاواتوم، هیالوما اسیاتیکوم اسیاتیکوم، هیالوما مارژیناتوم، هیالوما دتریتوم، هیالوما درومداری، ریپی‌سفالوس تورانیکوس، ریپی‌سفالوس بورسا و ریپی‌سفالوس سانگوئینوس تأیید گردید. در مطالعه‌ای مشابه در کرمان، هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم و ریپی‌سفالوس سانگوئینوس آلوده به کوکسیلا بورنتی تشخیص داده شدند (Nourollahi-Fard & Khalili, 2011). از مجموع ۲۳۵ کنه که از سبزیجات مختلف مناطق اسلواکی و مجارستان جمع‌آوری شده بود، کوکسیلا بورنتی از ایکسودس رسینوس، درماسنتور مارژیناتوس و همافیزالیس کونسینا با استفاده از روش PCR-RFLP شناسایی گردید (Špitalská & Elena 2003)

Kocianova,). همچنین، آلودگی کنه‌های جدا شده از سگ‌ها، اسب‌ها، گربه‌ها و انسان‌ها (ریپی‌سفالوس سانگوئینوس، ریپی-سفالوس تورانیکوس و درماسنتور مارژیناتوس) به کوکسیلا بورنتی با استفاده از روش Real time PCR تایید شده است (Socolovschi et al., 2012). ۱۲/۵ درصد از کنه‌های ریپی-سفالوس سانگوئینوس متعلق به سگ‌های منطقه کرمان، پس از بررسی آلودگی به کوکسیلا بورنتی به روش Nested Trance-PCR مثبت گزارش شدند (Khalili et al., 2018).

مطالعه حاضر اولین گزارش از گونه‌های کنه سخت در بزهای منطقه مشکین شهر و همچنین وضعیت آلودگی کنه‌ها به کوکسیلا بورنتی در شمال غرب ایران است. با توجه به زئونوز بودن تب‌کیو، مطالعه بیشتر در مورد ناقلین و همچنین میزان آلودگی در سایر مخازن و میزبان‌ها ضروری است. مبارزه منظم و زمان‌بندی شده با انگل‌های خارجی (بخصوص کنه‌ها) در دام‌ها در فصول چرای آزاد توصیه می‌گردد.

سپاسگزاری

نویسندگان از کلیه همکاران دامپزشک به خاطر جمع‌آوری نمونه‌های این تحقیق تشکر و قدردانی می‌کنند.

REFERENCES

Angelakis, E. &Raoult, D. 2010. Q fever. Veterinary Microbiology 140: 297-309.

Asadi, H., Khalili M., Kafi, M., Ansari Lari, & M. Hosseini, S.M. 2014. Risk factors of Q fever in sheep and goat flocks with history of abortion. Comparative Clinical Pathology 23: 625-630.

Bailey, M.S., Trinick, T.R., Dunbar, J.A., Hatch, R., Osborne, J.C., Brooks, T.J. & Green, A.D. 2011. Undifferentiated febrile illnesses amongst British troops in Helmand, Afghanistan. The Journal of the Royal Army Medical Corps 157: 150-155.

Capin, G.A., Emre, Z., Canpolat, S., Vatansever, Y. & Duzgun, A. 2013. Detection of *Coxiella burnetii* from ticks by Polymerase Chain Reaction and restriction fragment length polymorphism. Ankara University Veterinary Faculty Journal 60: 263-268.

Edalati Shokat, H., Abbasi Doulatshahi, E., Hajian Bidar, H., Gharekhani, J. & rezaei, A.A. 2015. Q fever in domestic ruminants: a seroepidemiological survey in Hamedan, Iran. International Journal Current Microbiology and Applied Science 4: 1-9.

Karabay, O., Gozdas, H.T., Ozturk, G., Tuna, N. & Utku, A.C. 2011. A Q fever case mimicking Crimean-Congo haemorrhagic fever. Indian Journal of Medical Microbiology 29: 418.

Kazar, J. 2005. *Coxiella burnetii* infection. Annals of the New York Academy of Sciences 1063: 105-114.

Keyhani, A., Nejati, J., Rostami, A., Hosseini, M., Davari, B. & Mousa-Kazemi, S.H. 2013. Study on hard tick species and their infection to Enterobacteriacea in animals in Amol. Scientific Journal of Medical University of Kurdistan 17: 78-85.

Khalili, M., Rezaei, M., Akhtardanesh, B., Abiri, Z. & Shahheidaripour, S. 2018. Detection of *Coxiella burnetii* (Gammaproteobacteria: Coxiellaceae) in ticks collected from infested dogs in Kerman, Southeast of Iran. Persian Journal of Acarology 7: 93-100.

Khalili, M., Shahabi-Nejad, N. & Aflatoonian, M.R. 2011. Q fever a forgotten disease in Iran. Journal of Kerman University of Medical Sciences 18: 93-97

Leung-Shea, C. & Danaher, P.J. 2006. Q fever in members of the United States armed forces returning from Iraq. Clinical Infection Diseases 43: 77-82.

Marrie, T.J. 1995. *Coxiella burnetii* (Q fever) pneumonia. Clinical Infection Diseases 21: 253-264.

Muskens, J., Mars, M.H. & Franken, P. 2007. Q fever: an overview. Tijdschr Diergeneeskd 132: 912-917.

Nabian, S. & Rahbari, S. 2008. Occurrence of soft and hard ticks on ruminants in Zagros mountainous areas of Iran. Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases 2: 16-20.

Nabian, S., Rahbari, S., Shayan, P. & Haddadzadeh, H.R. 2007. Current status of tick fauna in North of Iran. Iranian Journal of Parasitology 2: 12-17.

Noaman, V., Abdi-Goudarzi, M., Nabinejad, A.R., Heidari, M.R. & Khalilifard, M. 2008. Identification of hard ticks of domestic ruminants in two ecological zones of Isfahan province, Iran. Pajouhesh & Sazandegi 77: 88-95.

Nourollahi-Fard, S.R. & Khalili, M. 2011. PCR-detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected from sheep and goats in southeast Iran. Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases 5: 1-6.

Ogawa M, Setiyono A, Sato K, Cai Y, Shiga S, Kishimoto T. 2004. Evaluation of PCR and nested PCR assays currently used for detection of *Coxiella burnetii* in Japan. Southeast Asia Journal of Tropical Medicine and Public Health 35: 852-855.

Parisi, A., Fraccalvieri, R., Cafiero, M., Miccolupo, A., Padalino, I., Montagna, C., Capuano, F. & Sottili, R. 2006. Diagnosis of *Coxiella burnetii*-related abortion in Italian domestic ruminants using single-tube nested PCR. Veterinary Microbiology 118: 101-106.

Psaroulaki, A., Ragiadakou, D., Kouris, G., Papadopoulos, B., Chaniotis, B. & Tselentis, Y. 2006. Ticks, tick-borne Rickettsiae, and *Coxiella burnetii* in the Greek island of Cephalonia. Annals of the New York Academy of Sciences 1078: 389-399.

Raoult, D., Marrie, T.J. & Mege, J.L. 2005. Natural history and pathophysiology of Q fever. Lancet Infection Disease 5: 219-226.

Rasouli, S., Sadagian, M., Jafari, K., Valizadeh, E. & Mojarad, M. 2010. Study on caprine hard tick fauna and seasonal variations of tick population in West Azarbaijan province. Veterinary Journal of Islamic Azad University of Tabriz 3: 667-671.

Sajid, M.S., Iqbal, Z., Khan, M.N., Muhammad, G. & Khan, M.K. 2009. Prevalence and associated risk factors for bovine tick infestation in two districts of lower Punjab, Pakistan. Preventive Veterinary Medicine 92: 386-391.

Salimabadi, Y., Telmadarraiy, Z., Vatandoost, H., Chinikar, S., Oshaghi, M.A., Moradi, M., Mirabzadeh- Ardakan, E., Hekmat, S. & Nasiri, A. 2010. Hard ticks on domestic ruminants and their seasonal population dynamics in Yazd Province, Iran. Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases 4: 66-71.

Socolovschi, C., Reynaud, P., Kernif, T., Raoult, D. & Parola, P. 2012. Rickettsiae of spotted fever group, *Borrelia valaisiana*, and *Coxiella burnetii* in ticks on passerine birds and mammals from the Camargue in the south of France. Tick and Tick-borne Diseases 3: 355-360.

Sohrabi, S., Yakhchali, M. & Ghashghai, O. 2013. Hard ticks (Acarina: Ixodidae) diversity in the natural habitat of Iranian domestic ruminants: a provincial study in Kermanshah. Journal of Veterinary Research 68: 39-46.

Špitalská, E. & Kocianova, E. 2003. Detection of *Coxiella burnetii* in ticks collected in Slovakia and Hungary. Europe Journal of Epidemiology 18: 263-266.

Vaidya, V.M., Malik, S., Simranpreet, K., Kumar, S. & Barbuddh, S. 2008. Comparison of PCR, Immunoflourescence assay and pathogen isolation for diagnosis of Q fever in humans with spontaneous abortions. Journal of Clinical Microbiology 46: 2038-2044.

Vilcins, I.M., Old, J.M. & Deane, E.M. 2005. The impact of ticks and tick-borne diseases on native animal species in Australia. Australian Journal of Microbiology 26: 76-78.

Walker, A., Bouattour, A. & Camicas, J. 2003. Ticks of domestic animals in Africa: a guide to identification of species. 1st ed. Scotland, (UK). Bioscience Report 1: 149-209.

Werede, H. & Afera, B. 2014. Prevalence of ixodid ticks on bovine of Werieleke Wereda, Tigray. Acta Parasitologica 5: 146-150.

Yakhchali, M. & Azizi, C. 2007. A study on ixodid tick infestation of cattle, sheep and goats in Bukan suburb, Iran. Iranian Journal of Veterinary Medicine 3: 100-104.

Yakhchali, M. & Hajihasanzadehzarza, S.H. 2004. Study on some ecological aspects and prevalence of different species of hard ticks (Acarina: Ixodidae) on cattle, buffalo and sheep in Oshnavieh suburb. Pajuhesh & Sazandegi 63: 31-35.

Yakhchali, M. & Hosseine, A. 2006. Prevalence and ectoparasites fauna of sheep and goats flocks in Urmia suburb, Iran. Veterinary Arhive 76: 441-450.

Yakhchali, M. & Ranjbargarmabolia, B. 2008. A study on ixodid ticks' fauna in sheep and goats of Salehabad in Torbatjam, Iran. Pajuhesh & Sazandegi 80: 27-32.

Zabihi, R., Majidzadeh, K., Mohseni, M. & Soleimani, M. 2014. Review on the Laboratory diagnosis of Q-Fever. Journal of Army University of Medical Science 11: 383-388.

*****

How to cite this article:

Esmaeilnejad, B., Gharekhani, J., Samiei, A. & Rezaei, H. 2020. Molecular detection of *Coxiella burnetii* in ticks isolated from goats of Meshkin-Shahr County, Ardabil province. Nova Bioloica Reperta 7: 315-321. (In Persian).

اسمعیل‌نژاد، ب.، قره‌خانی، ج.، سمیعی، ا. و رضایی، ه. ۱۳۹۹. شناسایی مولکولی کوکسیلا بورنتی در کنه‌های جدا شده از بزهای شهرستان مشکین شهر، استان اردبیل. یافته‌های نوین در علوم زیستی ۷: ۳۲۱-۳۱۵.