بررسی مولکولی تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در ناقلین کنه‌ای درمناطق روستایی شرق ایران

امیرسجاد جعفری[۱]، مهدی راسخ[۲*]، داریوش سعادتی[۳]، فائزه فقیهی[۴]، مهدی فضلعلی پور[۵]، سحر خاکی فیروز[۵]، تهمینه جلالی[۵]، زهرا احمدی[۵]

۱- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۴- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران.
۵- بخش آربوویروس‌ها و تب‌های خونریزی دهنده ویروسی، انستیتوپاستور، تهران، ایران.

دریافت مقاله: ۲۱ مهر ۱۳۹۹، بازنگری: ۲۵ مهر ۱۳۹۹ ، پذیرش نهایی: ۲۷ مهر ۱۳۹۹

چکیده

تب خونریزی‌دهنده کریمه کنگو یک عفونت ویروسی کشنده (نرخ مرگ و میر بین ۳ تا ۳۰ درصد) می‌باشد که از بیش از ۳۰ کشور دنیا گزارش شده است. این بیماری بین انسان و دام مشترک بوده و انتقال از طریق گزش کنه، تماس با خون و ترشحات یا لاشه دام و انسان آلوده رخ می‌دهد. هدف از مطالعه‌ی حاضر مشخص شدن شیوع ویروس تب خونریزی‌دهنده کریمه کنگو در کنه‌های جدا شده از دام‌های اهلی روستاهای شهرستان بیرجند در استان خراسان جنوبی می‌باشد. در این مطالعه از ۳۹۰ رأس دام شامل ۱۶۷ گوسفند، ۲۰۵ بز، ۹ گاو و ۹ شتر، در چهار روستای نوفرست، حسن‌آباد، امیرآباد و شوکت آباد نمونه‌برداری صورت گرفت. هشت گونه کنه سخت شناسایی شد که شامل شامل *ریپیسفالوس سانگوئینوس* (۲۱/۹ درصد)، *هیالوما دتریتیوم* (۲۵ درصد)، *هیالوما مارژیناتوم* (۴/۲ درصد)، *هیالوما آناتولیکوم* (۰/۸٪)، *هیالوما آسیاتیکوم*(۱/۶٪)، *هیالوما درومداری* (۴۳٪) و سایر *هیالوما* ها (۷/۴ درصد) بود. حضور ویروس در ۱۵/۹ درصد از نمونه‌های ارسال شده به آزمایشگاه با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس مورد تأیید قرار گرفت. حضور ژنوم ویروسی در کنه‌های *ریپیسفالوس سانگوئینوس*، *هیالوما دتریتیوم* و *هیالوما آسیاتیکوم* به تأیید رسید. آلوده‌ترین میزبان‌ها گوسفند و بز بودند و کنه‌های صید شده همه از مناطق کم‌ارتفاع بودند. روستاهای این منطقه را می‌توان به عنوان کانون‌های آلودگی در نظر گرفت. بنابراین توصیه می‌شود سیاست‌های کنترلی و پایشی دام‌ها ی منطقه، با دقت بیشتری دنبال شود.

واژگان کلیدی: *تب خونریزی دهنده کریمه کنگو، کنه سخت، بیرجند، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: Mrasekh@ut.ac.ir

مقدمه

تب خونریزی دهنده کریمه کنگو (Crimean Congo Haemorrhagic Fever) یک عفونت ویروسی کشنده (نرخ مرگ و میر بین ۳ تا ۳۰ درصد) می‌باشد که از بیش از ۳۰ کشور دنیا گزارش شده است (۲۲). این بیماری بین انسان و دام مشترک بوده و انتقال از طریق گزش کنه، تماس با خون و ترشحات یا لاشه دام و انسان آلوده ممکن می‌باشد (۶). ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو یک RNA ویروس است که در جنس *نایرو ویروس* و خانواده *بنیاویریده* قرار می‌گیرد (۷). این بیماری برای اولین بار در سال ۱۹۴۴ در کریمه گزارش شد و نام آن تب هموراژیک کریمه بود. این بیماری بعداً در سال ۱۹۶۹ به‌عنوان علت بیماری در کنگو شناخته شد و به این ترتیب نام فعلی این بیماری به صورت ترکیبی از دو اسم انتخاب گردید (۱۳، ۲۴). این ویروس مانند سایر عوامل زئونوتیک منتقل شونده از کنه ، چرخه کنه- مهره داران- کنه را دنبال می‌کند و با وجود عدم شواهدی از بیماری بالینی در حیوانات (به جز نوزاد موش)، وقوع آن در طیف گسترده‌ای از مخازن حیوانی اهلی و وحشی از جمله اسب، الاغ، بز، گاو، گوسفند، خوک و جوجه تیغی گزارش شده است. از سال ۱۹۵۰ تا کنون اپیدمی‌های زیادی در مناطق مختلف رخ داده است. به‌عنوان مثال در سال ۲۰۰۸ در کشورهای ترکیه، سودان و بلغارستان، در سال ۲۰۰۹ در ایران، قزاقستان و تاجیکستان و ۲۰۱۷ در پاکستان شیوع گسترده ویروس (Out Break) گزارش شده است (۳، ۱۱). نرخ مرگ و میر بالا، انتقال توسط ناقلین بندپا، مشترک بودن بین انسان و دام و توزیع گسترده‌ی جغرافیایی از علل اهمیت این ویروس می‌باشد (۸). جمعیت نشخوارکنندگان سبک و سنگین استان خراسان جنوبی به ترتیب ۱۳۹۱۹۹۰ و ۳۴۸۰۷ راس دام می‌باشد که نقش قابل توجهی در اقتصاد و معیشت مردم منطقه ایفا می‌کند (۱۰). از طرف دیگر پرورش دام به روش‌های سنتی و نیمه صنعتی در استان رواج دارد. خراسان جنوبی ۴۶۰ کیلومتر مرز مشترک با کشور افغانستان دارد که بیماری‌های زیادی از جمله مالاریا، لشمانیوز، انسفالیت کنه‌ای و تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در آن اندمیک هستند (۹، ۱۵، ۲۶). هدف از مطالعه‌ی حاضر تعیین میزان شیوع آلودگی کنه‌های جمع‌آوری شده از برخی مناطق روستایی خراسان جنوبی به ویروس خونریزی دهنده تب کریمه کنگو می‌باشد.

مواد و روش‌ها

منطقه جغرافیایی و نمونه‌برداری: در این مطالعه از ۳۹۰ رأس دام شامل ۱۶۷ رأس گوسفند، ۲۰۵ بز، ۹ گاو و ۹ شتر، در چهار روستای نوفرست، حسن آباد، امیرآباد و شوکت آباد از شهرستان بیرجند در بازه زمانی تیر ۱۳۹۸، نمونه‌برداری صورت گرفت. استان خراسان جنوبی با مساحت ۱۵۱۱۹۳ کیلومتر مربع و آب و هوای گرم و خشک بین ۵۷ درجه و ۱ دقیقه تا ۶۰ درجه و ۵۷ دقیقه طول شرقی و ۳۰ درجه و ۳۲ دقیقه تا ۳۴ درجه و ۳۶ دقیقه عرض شمالی قرار گرفته است. این استان از شمال با استان خراسان رضوی، از غرب با استان‌های یزد، اصفهان و سمنان، از شرق با کشور افغانستان و از جنوب با استان‌های سیستان و بلوچستان و کرمان هم‌مرز است. برای جداسازی کنه‌ها به صورت زنده، از نزدیک‌ترین مکان ممکن به پوست و با زاویه ۴۵ درجه جداسازی صورت گرفت و کنه‌ها در لوله‌های درب بسته قرار داده شدند. سپس اطلاعات مربوط به نوع دام، سن دام، جنس دام، منطقه جمع‌آوری، صاحب دام و تاریخ جمع‌آوری در جداول از پیش تهیه شده ثبت شد. کنه‌ها در فریزر ۲۰- نگهداری شده و پس از اتمام پروسه‌ی نمونه‌گیری، با حفظ زنجیره‌ی سرد به آزمایشگاه

دانشکده بهداشت دانشگاه تهران منتقل شدند. تشخیص بر اساس کلیدهای تشخیصی مورفولوژیک و استریومیکروسکوپ در حد جنس و گونه صورت پذیرفت (۲۵).

آزمایشات مولکولی برای تشخیص ژنوم ویروس: کنه‌ها به صورت جداگانه دو بار توسط PBS شسته و با هاون در ۲۰۰-۳۰۰ میکرولیتر PBS خرد شدند. RNA کل با استفاده از مینی‌کیت RNeasy QIAGEN مطابق با دستورالعمل‌های تأمین کننده استخراج شد. RNA استخراج شده در دمای ۷۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده ذخیره شد. سپس واکنش یک مرحله‌ای پلی‌مراز معکوس توسط کیت تک مرحله‌ای *QIAGEN* RT-PCR به شرح زیر انجام شد: ۲۸ میکرولیتر آب بدون RNase ، ۱۰ میکرولیتر بافر (۵x)، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTP، ۲ میکرولیتر آنزیم مخلوط حاوی آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و Taq DNA پلیمراز و ۱ میکرولیتر مهارکننده RNase با یکدیگر مخلوط شدند. سپس ۱ میکرولیتر آغازگر رو به جلو 5’ TGGACACCTTCACAAACTC-3’ و ۱ میکرولیتر آغازگر معکوس 5’- GACAATTCCCTACACC-3’ به مخلوط واکنش اضافه شد تا قطعه ۵۳۶ جفت بازی در داخل بخش S ژنوم ویروسی تکثیر شود. آب مقطر استریل و RNA استخراج شده از یک نمونه سرم بیمار تأیید شده به ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو، به ترتیب به‌عنوان شاهد منفی و مثبت در همه آزمایشات استفاده شدند. برنامه سیکل‌های حرارتی برای RT-PCR ، شامل یک چرخه اولیه ۳۰ دقیقه‌ای در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد برای واکنش رونویسی معکوس (سنتز cDNA) و به دنبال آن ۱۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای فعال سازی DNA پلیمراز Taq و غیر فعال کردن رونوشت بردار معکوس تعیین شد. سپس ۴۰ چرخه که هر کدام شامل ۳۰ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی‌گراد (جدا سازی دو رشته)، ۳۰ ثانیه در ۵۰ درجه سانتی‌گراد (اتصال پرایمرها) و ۴۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد (تکثیر رشته‌ها) برای دستگاه ترموسایکلر انتخاب شد. پس از اتمام چرخه‌ها، یک تکثیر نهایی در ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گرفت. محصولات PCR با استفاده از روش الکتروفورز در ژل‌های آگارز ۱/۵ درصد مشاهده شد (۱۴، ۲۱).

آنالیز آماری: برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون مجذور کای استفاده شد. همچنین سطح اطمینان ۹۵ درصد برای شیوع آلودگی ویروسی با استفاده از توزیع دوجمله‌ای محاسبه شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم افزار SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

نتایج

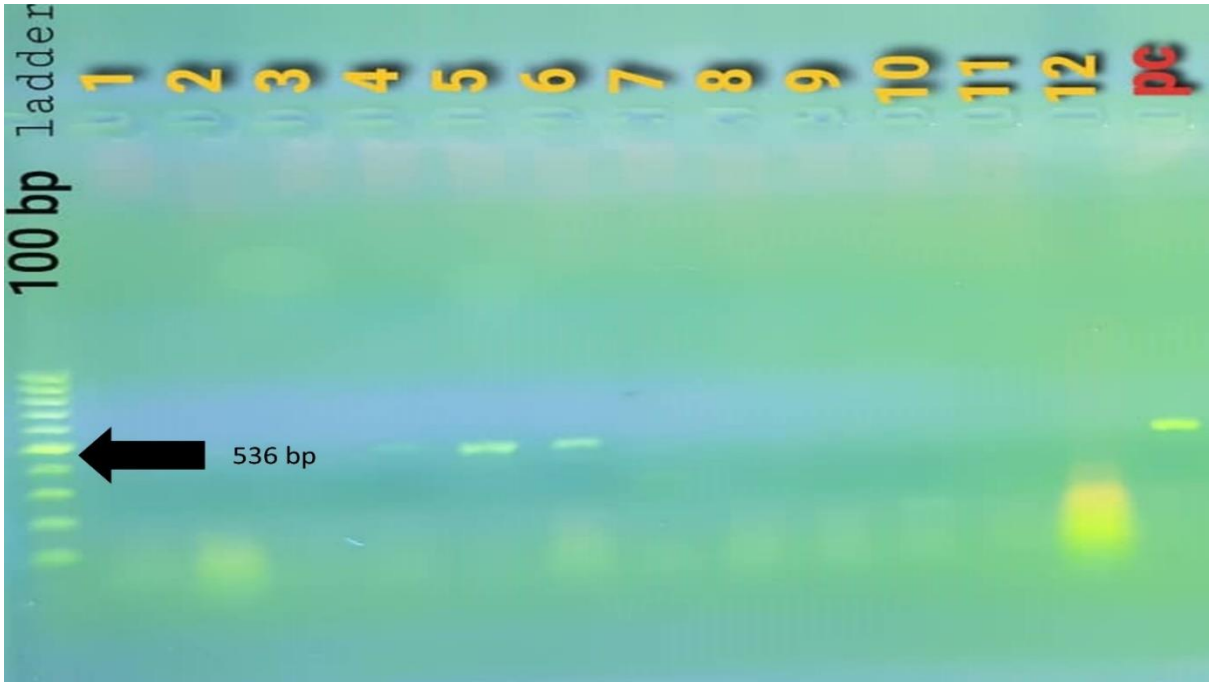
از ۳۹۰ رأس دام مورد بررسی، ۱۲۷ کنه جمع‌آوری شد. به طور متوسط میزان آلودگی به کنه برای هر رأس دام برابر با ۰/۳۲ می‌باشد. از کل کنه‌های جمع‌آوری شده ۳۵ کنه (۲۷/۳ درصد) از شتر، ۹ کنه (۷ درصد) از گاو، ۲۴ کنه (۱۸/۸ درصد) از بز و ۶۰ کنه (۴۶/۹ درصد) از گوسفند جدا گردید. از نظر طبقه‌بندی علمی دو جنس و هشت گونه کنه‌ای تشخیص داده شد. جنس‌های شناسایی شده شامل ۲۸ عدد *ریپیسفالوس* (۲۲ درصد) و ۹۹ عدد *هیالوما* (۷۸ درصد) وگونه‌ها شامل ۲۸ عدد *ریپیسفالوس سانگوئینوس* (۲۱/۹ درصد)، ۳۲ عدد *هیالوما دتریتیوم* (۲۵ درصد)، ۳ عدد *هیالوما مارژیناتوم* (۲/۴ درصد)، ۱ عدد *هیالوما آناتولیکوم* (۰/۸ درصد)، ۲ عدد *هیالوما آسیاتیکوم* (۱/۶ درصد)، ۵۵ عدد *هیالوما دورمداری* (۴۳ درصد) و ۶ عدد سایر *هیالوما* ها (۴/۷ درصد) بود. جدول شماره ۱ فراوانی جنس و گونه را بر اساس

میزبان نشان می‌دهد. فراوان‌ترین گونه در شتر، گاو و گوسفند *هیالوما درومداری* و در بز *ریپیسفالوس سانگوئینوس* می‌باشد. آزمون آماری نشان داد که شیوع آلودگی به کنه‌های مختلف در میزبان‌های مختلف تفاوت آماری معنی‌داری دارد (P<۰/۰۰۱).

جدول ۱. فراوانی جنس و گونه بر اساس میزبان

کنه	میزبان				مجموع
	شتر	گاو	بز	گوسفند	
ریپیسفالوس سانگوئینوس	-	-	۱۹	۹	۲۸
هیالوما دتریتیوم	۲	-	۰	۳۰	۳۸
هیالوما مارژیناتوم	۱	-	۱	۱	۳
هیالوما آناتولیکوم	-	-	۱	-	۱
هیالوما آسیاتیکوم	-	۱	۱	-	۲
هیالوما درومداری	۲۹	۶	۱	۱۹	۵۵
گونه های *هیالوما*	۳	۲	۱	-	۶
مجموع	۳۵	۹	۲۴	۵۹	۱۲۷

حضور ویروس در ۷ نمونه از ۴۴ نمونه (۱۵/۹ درصد) ارسال شده به آزمایشگاه مورد تأیید قرار گرفت. جنس‌هایی که در آنها حضور ویروس تأیید شد عبارتند از: *ریپیسفالوس سانگوئینوس*، *هیالوما دتریتیوم* و *هیالوما آسیاتیکوم*. لازم به ذکر است سایر گونه‌های ارسالی از نظر حضور ویروس منفی گزارش شدند. در این مطالعه از ۷ نمونه مثبت ۵ نمونه (۷۲ درصد) ماده و ۲ نمونه (۲۸ درصد) نر بودند. ۲ نمونه از ۷ نمونه‌ی مثبت از بز و ۵ نمونه باقی‌مانده نیز از گوسفند جدا شدند. از شتر و گاو به‌عنوان میزبان هیچ کنه‌ای از نظر حضور ویروس به تأیید نرسید (جدول ۴). همچنین هر ۷ نمونه مثبت از میزبانانی با سن کمتر از یک سال و جنسیت نر و مناطق کم ارتفاع و دشتی جمع‌آوری شدند. جدول ۳ نشان دهنده‌ی فراوانی نمونه‌های تست شده بر اساس گونه کنه‌ی جمع‌آوری شده می‌باشد.



شکل ۱- نتایج الکتروفورز در ژل برای شناسایی ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو، چاهک شماره ۱ کنترل منفی و PC کنترل مثبت

جدول ۳- فراوانی نمونه های تست شده بر اساس گونه کنه‌ی جمع‌آوری شده

کنه	حضور ژنوم CCHFV		مجموع	معنی‌داری
	مثبت	منفی		
ریپیسفالوس سانگوئینوس	۱	۵	۶	۰،۰۵۴
هیالوما دتریتیوم	۳	۷	۱۰	
هیالوما مارژیناتوم	-	۵	۵	
هیالوما آسیاتیکوم	۳	۳	۶	
هیالوما درومداری	-	۱۴	۱۴	
گونه های *هیالوما*	-	۳	۳	
مجموع	۷	۳۷	۴۴	-

جدول ۴- فراوانی ژنوم ویروسی در کنه‌های جمع‌آوری شده به تفکیک میزبان

میزبان	حضور ژنوم CCHFV		مجموع	معنی‌داری
	مثبت	منفی		
بز	۲	۴	۶	۰،۰۶۲
گوسفند	۵	۱۶	۲۱	
شتر	-	۱۵	۱۵	
گاو	-	۲	۲	
مجموع	۷	۳۷	۴۴	-

بحث

تب خونریزی دهنده کریمه کنگو یک عفونت ویروسی مشترک انسان و دام است که بیشتر توسط کنه بین میزبانان مهره‌دار منتقل می‌شود. در مطالعه‌ی چم پور و همکاران بر روی شترهای تک کوهانه استان‌های خراسان جنوبی، رضوی و شمالی مشخص شد درصد آلودگی کنه‌های جمع‌آوری شده از شترهای بیرجند ۳۵درصد می‌باشد در حالی که در مطالعه‌ی حاضر درصد کنه‌های آلوده جمع‌آوری شده ۱۵/۹ درصد است و هیچ شتر آلوده‌ای یافت نشده، بلکه آلودگی مربوط به سایر میزبان‌ها تشخیص داده شد (۵). علت این تفاوت را می‌توان به حجم نمونه بالاتر، تک میزبانه بودن و نمونه‌گیری توأم از شترهای صحرا و آغل در تحقیق چم پور و همکاران دانست. در استان یزد، سلیم آبادی و همکاران در سال ۲۰۰۸ اقدام به جمع‌آوری کنه‌ها از دام‌های اهلی نموده و پس از آزمایش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس ژنوم ویروس در ۵/۷۱ درصد کنه‌ها یافت شد که کمی کمتر از شیوع در استان خراسان جنوبی است (۲۷). جنس غالب در هر دو مطالعه هیالوما بود با این تفاوت که در استان خراسان جنوبی کنه‌های سخت *ریپیسفالوس* نیز با درصد کمتر از *هیالوما* از نظر حضور ویروس تأیید شدند. شایان ذکر است گونه غالب از نظر آلودگی به *ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو* در استان یزد *هیالوما درومداری* و میزبان اصلی گاو گزارش شد، درحالی که در مطالعه حاضر آلوده‌ترین گونه *هیالوما آسیاتیکوم* و آلوده‌ترین میزبان گوسفند بود. در کشورهای مختلف از جمله ترکیه مطالعات زیادی صورت گرفته است اما نکته حائز اهمیت آن که در سال‌ها و مناطق مختلف آلوده‌ترین میزبان متفاوت است (۴، ۲۰). مطالعات قبلی نشان داده است که میزان عفونت *هیالوما* و *ریپیسفالوس* در ایران به ترتیب از ۳۳-۰/۲درصد و ۵۵-۱/۸درصد است (۱،

۱۶، ۲۱، ۲۴). رابطه‌ی معنی‌داری از نظر حضور ژنوم ویروس با ارتفاع محل جمع‌آوری وجود داشت و تمام کنه‌های آلوده از یک منطقه دشتی جمع‌آوری شده بودند. همچنین عمده‌ی دام‌های آلوده در سنین یک تا سه سال قرار داشتند که این نتایج همسو با نتایج گذشته می‌باشد. در مطالعه‌ای که در بهار همدان انجام شد مشخص شد بیشترین سن دام‌ها از نظر آلودگی به ویروس بین یک تا سه سال می‌باشد و مناطق کم ارتفاع نیز آلوده‌تر هستند (۲۱). در بین سال‌های ۲۰۱۲-۲۰۱۱ در استان ایلام، شریفی‌نیا و همکاران میزان آلودگی در کنه‌های سخت را ۶/۶ درصد گزارش کردند. تمام کنه‌های جمع‌آوری شده‌ی جنس *هیالوما* مثبت بودند که نشان از اهمیت این جنس به‌عنوان ناقل بیماری در این منطقه دارد (۱۹). در مطالعاتی که در شهر زاهدان و استان لرستان در سال ۲۰۱۲ به انجام رسید آلودگی کنه‌های سخت به *ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو* به ترتیب ۳/۴ و ۶/۷ درصد گزارش شد (۱۲، ۱۴). فرهادپور و همکاران در سال ۲۰۱۳ با روش RT-PCR توانستند در ۹ نمونه از ۲۰۰ نمونه جمع‌آوری شده از کنه‌های شهرستان مرودشت استان فارس، ژنوم ویروس را شناسایی کنند. محمدی و همکاران در همین سال ۸۵۱ کنه از استان کرمانشاه را جمع‌آوری کردند که از مجموع کنه‌های تست شده ۳/۸ درصد آلوده به ویروس بودند (۲، ۱۲). صداقت و همکاران در سال ۲۰۱۴ میزان آلودگی به ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در استان گلستان را ۵/۴ درصد گزارش کردند کنه‌های مثبت شامل *هیالوما* و *ریپیسفالوس سانگوئینوس* بودند (۱۷). همچنین در همین سال در غرب ایران (استان آذربایجان)، ۱۱۷ کنه توسط RT-PCR مورد بررسی برای حضور یا عدم حضور ویروس قرار گرفتند که ۵ درصد آنها آلودگی را در تست‌ها نشان دادند. کنه‌های آلوده متعلق به دو جنس هیالوما و درماسنتور بودند (۱۸). در مطالعه‌ای که در ۵۸ روستای استان کهگیلویه و بویر احمد توسط حسینی و همکاران انجام شد از میان کنه‌های جمع‌آوری شده تنها یک کنه متعلق به گونه‌ی *ریپیسفالوس بورسا* که از یک منطقه مرتفع سرد جمع‌آوری شده بود آلوده بود و در نهایت درصد آلودگی به ویروس در این مطالعه ۰/۲ محاسبه شد (۱۸). دام‌های اهلی استان خراسان شمالی در بین سال‌های ۲۰۱۳ تا ۲۰۱۷ به صورت تصادفی برای خون‌گیری و جمع‌آوری کنه انتخاب شدند. در این مطالعه که توسط ثقفی پور و همکاران انجام شد، ۸/۱ درصد از کنه‌ها و ۱۵/۵درصد نمونه‌های خون آلوده به ویروس هستند (۱۶). به طور کلی می‌توان اذعان داشت اصلی‌ترین ناقلین کنه‌ای در ایران جنس‌های *هیالوما* و *ریپیسفالوس* هستند و تفاوت در شیوع آلودگی ویروسی در کنه‌ها و گونه‌ی غالب هر منطقه به علت تفاوت در آب و هوا، پوشش گیاهی، فراوانی دامی، رفت و آمد دام‌ها، بهداشت و حساسیت میزبان‌ها بستگی دارد (۱، ۲۳). گونه غالب در مناطق روستایی خراسان جنوبی *ریپیسفالوس سانگوئینوس* و جنس غالب *هیالوما* می‌باشد. از نظر بررسی حضور ژنوم ویروس تب خونریزی دهنده تب کریمه کنگو، مشخص شد روستاهای این منطقه را می‌توان به‌عنوان کانون‌های آلودگی در نظر گرفت. آلوده‌ترین میزبان‌ها گوسفند و بز بودند و کنه‌های جمع‌آوری شده همه از مناطق کم ارتفاع بودند. ناقل اصلی مطابق با اکثر نقاط دنیا کنه‌ی *هیالوما* می‌باشد. البته جنس ریپیسفالوس که به‌عنوان ناقل دوم تب کریمه کنگو در ایران مطرح است نیز در این مطالعه از نظر حضور ژنوم ویروسی با درصدی کمتر از جنس *هیالوما* مورد تأیید قرار گرفت. بنابراین توصیه می‌شود سیاست‌های کنترلی و پایشی دام‌ها به همراه آگاهی بخشی به قشر پرخطر و در رابطه با ناقلین کنه‌ای مثل دامداران و

کشاورزان در این منطقه، با دقت بیشتری دنبال شود.

تشکر و قدردانی

از مسئولین و کادر بخش آربوویروس‌ها و تب‌های خونریزی دهنده ویروسی انستیتوپاستور نیز برای کمک‌های بی دریغشان کمال تشکر خود را اعلام می‌نماییم.

بودجه این پروژه به طور مشترک توسط دانشگاه زابل (UOZ-GR-9618-159 و UOZ-GR-9618-141) و اعضای تیم تحقیقاتی تأمین شد.

References

1- Abdoli, R. *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. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research*, 2019; 17(1): 71–82.

2- Ahi, M.R., Pourmahdi Borujeni, mahdi, Haji Hajikolaei, M.R. and Seifi Abad Shapouri, M.R. A Serological Survey on Antibodies against Akabane Virus in Sheep in Southwest of Iran TT -. *Virusj*, 2015; 9(2): 20–25.

3- Alam, M.M. *et al.* Surveillance of Crimean-Congo haemorrhagic fever in Pakistan. *The Lancet Infectious Diseases*, 2017; 17(8): 806.

4- Albayrak, H., Ozan, E. and Kurt, M. Molecular Detection of Crimean-Congo Haemorrhagic Fever Virus (CCHFV) but not West Nile Virus (WNV) in Hard Ticks from Provinces in Northern Turkey. *Zoonoses and Public Health*, 2010; 57(7-8): e156–e160.

5- Champour, M. *et al.* Crimean-Congo hemorrhagic fever in the one-humped camel (Camelus dromedarius) in East and Northeast of Iran. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 2016; 10(2): 168.

6- Ergonul, O.rimean–Congo hemorrhagic fever virus: new outbreaks, new discoveries. *Current Opinion in Virology*, 2012; 2(2): 215–220.

7- Ergonul, O. Crimean-Congo haemorrhagic fever. *The Lancet Infectious Diseases*, 2006; 6(4): 203–214.

8- Farhadpour, F. *et al.* Molecular detection of Crimean–Congo haemorrhagic fever virus in ticks collected from infested livestock populations in a New Endemic Area, South of Iran. *Tropical Medicine & International Health*, 2016; 21(3): 340–347.

9- Ignatiev, P. Afghanistan: Balancing between Pakistan and Iran. *Indian Journal of Asian Affairs*, : 2014; 43–62.

10- Iran, S. C. of. "Country livestock statistics". [Online] https://www.amar.org.ir/Portals/0/News/1396/a-dams96.pdf, 2017.

11- Kamboj, A. and Pathak, H. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a comprehensive review. *Veterinary World*, 2013; 6(10).

12- Kayedi, M.H. *et al.* Crimean–Congo hemorrhagic fever virus clade iv (Asia 1) in ticks of western Iran. *Journal of Medical Entomology*, 2015; 52(5): 1144–1149.

13- Maltezou, H.C. *et al.* Crimean-Congo hemorrhagic fever in Europe: current situation calls for preparedness. *Eurosurveillance*, 2010; 15(10): 19504.

14- Mehravaran, A. *et al.* Molecular detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever (CCHF) virus in ticks from southeastern Iran. *Ticks and Tick-Borne Diseases*, 2013; 4(1–2): 35–38.

15- Mustafa, M.L. *et al.* Crimean-congo hemorrhagic fever, Afghanistan, 2009. *Emerging Infectious Diseases*, 2011; 17(10): 1940.

16- Saghafipour, A. *et al.* Molecular and seroepidemiological survey on Crimean-Congo Hemorrhagic Fever virus in Northeast of Iran. *Medical Journal of the Islamic Republic of Iran*, 2019; 33: 41.

17- Sedaghat, M.M. *et al.* Vector prevalence and detection of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus in Golestan Province, Iran. *Journal of Vector Borne Diseases*, 2017; 54(4): 353.

18- Shafei, E., Dayer, M.S. and Telmadarraiy, Z. Molecular epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in ticks in northwest of Iran. *J Entomol Zool Stud*, 2016; 4(5): 150–154.

19- Sharifinia, N. *et al.* Hard ticks (Ixodidae) and Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in south west of Iran. 2015.

20- Tekin, S., Bursali, A., Mutluay, N., Keskin, A. and Dundar, E. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in various ixodid tick species from a highly endemic area. *Veterinary Parasitology*, 2012; 186(3–4): 546–552.

21- Telmadarraiy, Z. *et al.* Crimean-Congo hemorrhagic fever: a seroepidemiological and molecular survey in Bahar, Hamadan province of Iran. *Asian J Anim Vet Adv*, 2008; 3(5): 321–327.

22- Telmadarraiy, Z. *et al.* A survey of Crimean-Congo haemorrhagic fever in livestock and ticks in Ardabil Province, Iran during 2004–2005. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2010; 42(2): 137–141.

23- Telmadarraiy, Z., Chinikar, S., Vatandoost, H., Faghihi, F. and Hosseini-Chegeni, A. Vectors of Crimean Congo

hemorrhagic fever virus in Iran. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 2015; 9(2): 137.

24- Telmadarraiy, Z., SAGHAFIPOUR, A., Farzinnia, B. and Chinikar, S. Molecular detection of Crimean-Congo Hemorrhagic fever virus in ticks in Qom Province, Iran, 2011-2012.

25- Walker, A.R. *Ticks of Domestic Animals in Africa: A Guide to Identification of Species*. Bioscience Reports Edinburgh, 2003.

26- Wallace, M.R. *et al.* Endemic infectious diseases of Afghanistan. *Clinical Infectious Diseases*, 2002; 34(Supplement_5): S171–S207.

27- Yaser, S.A. *et al.* Crimean–Congo hemorrhagic fever: a molecular survey on hard ticks (Ixodidae) in Yazd Province, Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2011; 4(1): 61–63.

Molecular detection of Crimean Congo hemorrhagic fever in tick vectors in rural areas of eastern Iran

Amirsajad Jafari[1], Mehdi Rasekh[2*], Dariush Saadati[3], Faezeh Faghihi[4], Mehdi Fazlali-pour[5], Sahar Khakifirouz[5], Tahmineh Jalali[5], Zahra Ahmadi[5]

1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
3- Department of Nutrition and Animal Breeding, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
4- Cellular and Molecular Research Center, Iran University of Medical Sciences, Tehran, Iran.
5- Department of Arboviruses and Viral Hemorrhagic Fevers (National Ref Lab), Pasteur Institute of Iran (IPI), Tehran, Iran.

Receive: October 12, 2020; Revise: October 16, 2020; Accept: October 18, 2020

Summary

Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a deadly viral infection (mortality rate between 3 and 30%) reported from more than 30 countries. The disease is common between humans and animals and can be transmitted through tick bites, contact with blood and secretions or carcasses of infected animals and humans. The aim of this study was to determine the prevalence of CCHF virus in ticks isolated from domestic livestock in rural areas of Birjand City in South Khorasan Province. In this study, 390 livestock including 167 sheep, 205 goats, 9 cows and 9 camels were sampled in four villages (Nofarest, Hassanabad, Amirabad and Shaukatabad) of Birjand County. Eight species of hard ticks were identified, including *Rhipicephalus sanguineus* (21.9%), *Hyalomma detritium* (25%), *Hyalomma marginatum* (2.4%), *Hyalomma anatolicum* (0.8%), *Hyalomma asiaticum* (1.6%), *Hyalomma dromedarii* (43). %) and other *Hyalomma* (4.7%). The presence of virus was confirmed in 15.9% of the samples sent to the laboratory by reverse polymerase chain reaction (RT-PCR). The virus was observed in *Rhipicephalus sanguineus*, *Hyalomma detritium* and *Hyalomma asiaticum*. The most infected hosts were sheep and goats, and the ticks caught were all from lowland areas. The villages of this region can be considered endemic for CCHF. Therefore, it is recommended to follow controlling and monitoring policies in the region more carefully.

Keywords: *Crimean Congo Hemorrhagic Fever, Hard Tick, Birjand, RT-PCR*