# تشخیص مولکولی ویروس تب خونریزی دهنده کریمه-کنگو در گونه‌های کنه جمع‌آوری شده از دام‌های اهلی نوار مرزی ایران-افغانستان



سحر اسدالهی زوج[۱]، داریوش سعادتی*[۲]، مهدی راسخ[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 بهداشت و کنترل مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۳- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۴- مرکز تحقیقات سلولی مولکولی، دانشگاه علوم پزشکی ایران، تهران، ایران.
۵- بخش آربوویروس‌ها و تب‌های خونریزی دهنده ویروسی، انستیتوپاستور، تهران، ایران.

دریافت مقاله: ۳۰ دی ۱۳۹۸، بازنگری: ۱۷ اسفند ۱۳۹۸، پذیرش نهایی: ۲۲ اسفند ۱۳۹۸

## چکیده

بیماری تب خونریزی دهنده کریمه کنگو یک بیماری ویروسی، حاد، تب دار و خونریزی دهنده می‌باشد که باعث مرگ میر قابل توجهی در انسان می‌شود. ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو از گونه های مختلف کنه، از جمله ۲۸ گونه کنه‌ی سخت و دو گونه کنه‌ی نرم جدا شده است. هدف از مطالعه‌ی حاضر مشخص شدن شیوع ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در کنه‌های جدا شده از دام‌های اهلی روستاهای مرزی منطقه سیستان در شمال استان سیستان و بلوچستان است. در این مطالعه از ۵۴ رأس دام شامل ۵۰ گوسفند، ۳ بز، ۱ گاو در چهار روستای چوتو، نادر علم‌خان، میلک و سنجرانی، از منطقه سیستان نمونه‌برداری صورت گرفت. در ابتدا کنه‌ها تعیین جنس و گونه شدند که شامل *ریپیسفالوس سانگوئینوس*، *ریپیسفالوس (بووفیلوس) آنولاتوس* و *هیالوما آناتولیکوم* بود. سپس نمونه‌ها توسط آزمایش زنجیره‌ای پلمراز معکوس از نظر حضور ژنوم ویروس مورد بررسی قرار گرفتند. حضور ویروس در هیچ نمونه‌ای از ۵۰ نمونه‌ی تست شده به تأیید نرسید. یافته‌های ما نشان‌دهنده عدم گردش *ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو* در کنه‌های روستاهای مرزی سیستان است. با این حال، از آنجا که استان سیستان و بلوچستان یک منطقه اندمیک برای این بیماری است، برای درک بهتر ناقلین کنه‌ای در این منطقه، تحقیقات بیشتری لازم است.

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

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: saadati.dariush@gmail.com

## مقدمه

بیماری تب خونریزی دهنده کریمه کنگو یک بیماری ویروسی (متعلق به جنس *Nairovirus* و خانواده *Bunyaviridae*)، حاد، تب‌دار و خونریزی دهنده می‌باشد که باعث مرگ و میر قابل توجهی در انسان می‌شود. میزبان ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو عمدتاً پستانداران و پرندگان وحشی هستند. گرچه در گوسفندان، بزها و گاوها حضور و تکثیر ویروس در خون رخ می‌دهد، اما به بیماری مبتلا نمی‌شوند و هیچ علائمی به جز تب بسیار خفیف ندارند (۱۵، ۱۶). راه‌های انتقال ویروس شامل گزش کنه، تماس با خون یا مایعات بدن حیوانات یا انسان آلوده می‌باشد. این بیماری به عنوان یک عفونت بیمارستانی نیز در نظر گرفته می‌شود و انتقال از بیماران به کادر درمان، خصوصاً در مناطق اندمیک مشاهده شده است(۱۵، ۲۰). ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو از گونه‌های مختلف کنه، از جمله ۲۸ گونه کنه‌ی سخت و دو گونه کنه‌ی نرم جدا شده است با این حال کنه‌های نرم نقش مهمی در گسترش جغرافیایی ویروس ندارند، زیرا ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو نمی‌تواند در مراحل بالغ یا نوچگی این کنه‌ها تکثیر شود. افزایش دما خصوصاً در بهار و تابستان ممکن است باعث فراوانی و افزایش فعالیت کنه‌ها شود که نتیجه آن افزایش ابتلای انسان‌ها به بیماری است (۱۰، ۱۶). جنس *هیالوما* و *ریپیسفالوس* به عنوان ناقلین اصلی ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در ایران مطرح هستند (۱۷). تب خونریزی دهنده کریمه کنگو از آسیا، اروپا و آفریقا گزارش شده است و کشورهای همسایه ایران از جمله عراق، ترکیه، افغانستان و پاکستان به عنوان کانون‌های اندمیک بیماری در نظر گرفته می‌شوند. اولین گزارش ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در ایران به سال ۱۹۷۰ برمی‌گردد. چند سال بعد از اولین گزارش ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو، در سال ۱۹۹۹ طغیان این بیماری در استان چهارمحال و بختیاری، گزارش شد. تا کنون بیماری تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در ۲۷ استان از ۳۱ استان ایران گزارش شده است (۲). آمار منتشر شده توسط مرکز آمار ایران در سال۱۳۹۶، جمعیت نشخوارکنندگان سبک و سنگین سیستان و بلوچستان را به ترتیب ۳۲۳۲۵۴۷ و ۱۷۴۳۵۴ رأس دام برآورد کرد که بیانگر نقش غیر قابل انکار دامداری و دامپروری در اقتصاد و زندگی مردم این منطقه می‌باشد. داشتن کیلومترها مرز مشترک با کشور افغانستان که بیماری‌های زیادی از جمله مالاریا، لشمانیوز، انسفالیت کنه‌ای و تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در آن اندمیک هستند در کنار رواج شیوه‌های سنتی و نیمه سنتی نگهداری و پرورش دام‌ها در این استان، اهمیت مطالعه ناقلین کنه‌ای را دو چندان می‌کند. هدف از مطالعه‌ی حاضر مشخص شدن شیوع ویروس تب خون ریزی دهنده کریمه ی کنگو در کنه‌های جدا شده از دام‌های اهلی روستاهای مرزی منطقه سیستان در شمال استان سیستان و بلوچستان می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

***منطقه جغرافیایی و نمونه‌برداری:*** در این مطالعه از ۵۴ راس دام شامل ۵۰ راس گوسفند، ۳ راس بز، ۱ راس گاو در چهار روستای چوتو، نادر علم‌خان، میلک و سنجرانی، از منطقه سیستان در بازه زمانی تیر 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. سیستان در شمال سیستان و بلوچستان و در طول جغرافیایی ۶۱/۴۹۶۲ و عرض جغرافیایی ۳۱/۰۳۸۵ قرار گرفته است. برای جداسازی کنه‌ها به صورت زنده، از نزدیک ترین 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 می‌شد. 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 (۱۹).

***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 مینی کیت QIAGEN RNeasy مطابق با دستورالعمل‌های تأمین‌کننده 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 (5x)، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTP، ۲ میکرولیتر آنزیم مخلوط حاوی آنزیم ترانس کریپتاز معکوس و DNA Taq پلیمراز و ۱ میکرولیتر مهار کننده 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 به عنوان 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 رونشت 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 ۱/۵درصد مشاهده شد (۱، ۵).

***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 نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۵ استفاده شد. سطح معنی‌داری $P < ۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

## نتایج

در این مطالعه از ۵۴ راس دام مورد مطالعه، ۲۵۰ عدد کنه سخت جدا سازی شد. تمام دام‌ها به کنه آلوده بودند و به طور متوسط میزان آلودگی به

کنـــه بـــه ازای هـــر راس دام ۴/۶ بـــود. کنـــه‌های جمع‌آوری شـده از لحـاظ تاکسـونومی شـامل ۲ جـنس و ۳ گونـه بودنـد کـه جنس‌هـا شـامل *ریپیسـفالوس* (۴۸ درصـد) و *هیالومـا* (۵۲ درصـد) و گونـه هـا شـامل *ریپیســـفالوس ســـانگوئینوس* (۴۷/۶ درصـــد)، *ریپیســفالوس (بووفیلــوس) آنولاتــوس* (۰/۴ درصـد) و *هیالومـا آنـاتولیکوم* (۵۲ درصـد) بـود. نسـبت کنـه‌های نـر بـه مـاده ۱۵۳:۹۷ تعیـین شـد. جـدول شـماره ۱ فراوانی گونه کنـه جمع‌آوری شـده بـر اسـاس میزبـان را نشان می‌دهد.

**جدول ۱. فراوانی گونه کنه بر اساس میزبان**

| کنه | میزبان | | | جمع کل |
|---|---|---|---|---|
| | گاو | بز | گوسفند | |
| *ریپیسفالوس سانگوئینوس* | ۲ | ۲ | ۱۱۵ | ۱۱۹ |
| *ریپیسفالوس آنولاتوس* | - | ۰ | ۱ | ۱ |
| *هیالوما آناتولیکوم* | - | ۳۶ | ۹۴ | ۱۳۰ |
| جمع کل | ۲ | ۳۸ | ۲۱۰ | ۲۵۰ |

فراوان‌تـرین گونـه در گـاو و گوسـفند *ریپیسـفالوس سـانگوئینوس* و در بـز *هیالومـا آنـاتولیکوم* بـود. تسـت‌های آمـاری نشـان دادنـد، شـیوع آلـودگی بـه کنه‌های مختلـف در میزبان‌هـای مختلـف از نظـر آمـاری معنی‌دار است ($p<0.001$).

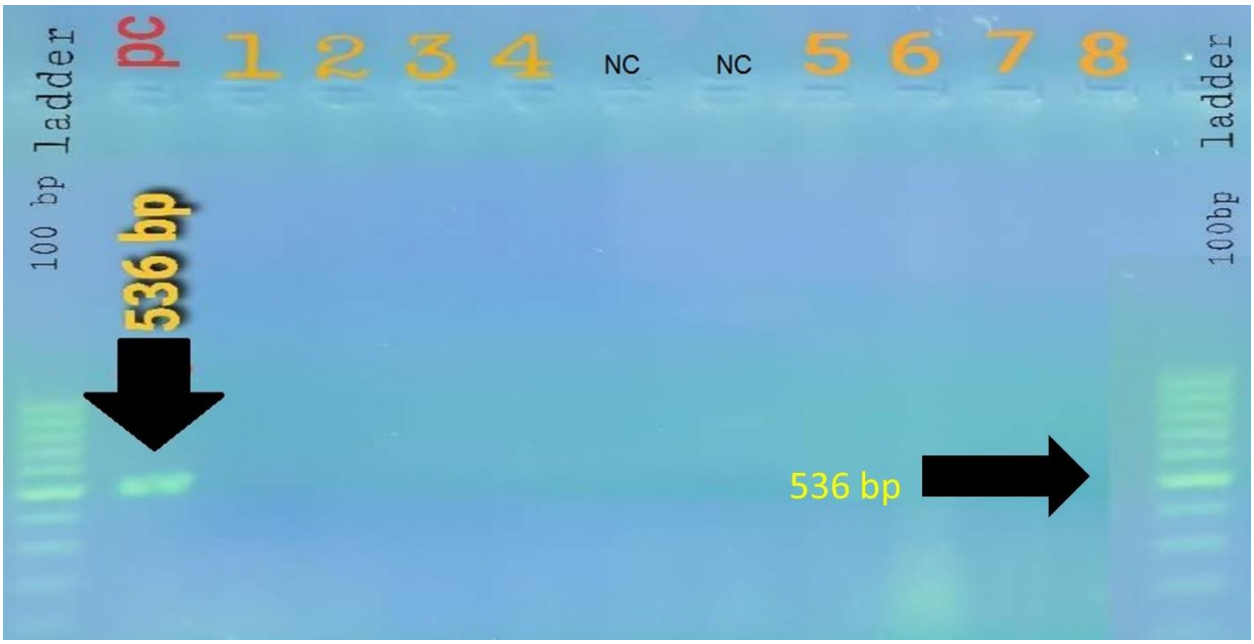
**جدول ۲. فراوانی گونه کنه صید شده بر اساس جنسیت میزبان**

| گونه کنه | جنسیت میزبان | | جمع کل |
|---|---|---|---|
| | نر | ماده | |
| *ریپیسفالوس سانگوئینوس* | ۴۰ | ۷۹ | ۱۱۹ |
| *.ریپیسفالوس آنولاتوس* | - | ۱ | ۱ |
| *هیالوما آناتولیکوم* | ۲۹ | ۱۰۱ | ۱۳۰ |
| جمع کل | ۶۹ | ۱۸۱ | ۲۵۰ |

همـان‌طور کـه قـبلاً اشـاره گردیـد پـس از اسـتخراج RNA، مراحـل RT-PCR بـا اسـتفاده از کیـت یـک مرحلـه‌ای کیـاژن انجـام پـذیرفت. پـس از اتمـام فرآینـد RT-PCR، محصـولات آن بـر روی ژل الکتروفـورز شناسـایی گردیـد .در ایـن روش، یـک تـوالی ۵۳۶ جفـت بـازی از قطعـه S ویـروس CCHF توسـط دو پرایمـر جلـودار و عقـب‌دار اختصاصـی بـرای تکثیـر انتخـاب شـد. حضـور ویـروس در هـیچ نمونـه‌ای از ۵۰ نمونه‌ی تست شده به تأیید نرسید.

جدول ۳. گونه و منطقه کنه های تست شده توسط آزمایش زنجیره ای پلیمراز معکوس

| مجموع | نتایج تست مولکولی | | منطقه | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | مثبت | منفی | | | |
| ۷ | - | ۷ | *ریپیسفالوس سانگوئینوس* | گونه کنه | روستا ی چوتو |
| ۱۳ | - | ۱۳ | *هیالوما آناتولیکوم* | | روستا ی نادر علم‌خان |
| ۲۰ | - | ۲۰ | مجموع | | |
| ۳۰ | - | ۳۰ | *ریپیسفالوس سانگوئینوس* | گونه کنه | روستا ی میلک |
| ۳۰ | - | ۳۰ | مجموع | | روستا ی سنجرانی |




شکل ۱. نتایج حاصل از واکنش زنجیره ای پلیمراز معکوس، **pc** بیانگر کنترل مثبت و **NC** بیانگر کنترل منفی است

## بحث و نتیجه‌گیری

تب خونریزی دهنده کریمه کنگو (CCHF) یک عفونت ویروسی مشترک بین انسان و دام است که بیشتر توسط کنه بین میزبانان مهره‌دار منتقل می‌شود. بیشتر کشورهای همسایه ایران از جمله پاکستان، افغانستان و ترکیه بومی این بیماری هستند و خطر شیوع ویروس، انتقال و تداوم ویروس را در ایران افزایش می‌دهند (۲، ۸). در مطالعه حاضر، نمونه‌های کنه سخت از ۴ منطقه مختلف جغرافیایی (منطقه سیستان، شمال استان سیستان و بلوچستان) از نظر عفونت *CCHFV* غربالگری شدند. ژنوم ویروسی در هیچ یک از نمونه‌ها مشاهده نشد اگرچه سیستان یکی از کانون‌های اندمیک *CCHF*در ایران است و تمام مراحل طبق پروتکل‌های آزمایشگاه مرجع کشور انجام شده است با این حال نتایج حاضر حاکی از عدم حضور ژنوم ویروسی در ناقلین کنه‌ای جمع‌آوری شده بود. نتایج منفی ممکن است به دلایل زیر قابل توضیح باشد: ۱) مورد نیاز بودن حجم نمونه بزرگتر و واحدهای دامی بیشتر. ۲) مخازن اصلی این بیماری در منطقه سیستان دام‌هایی است که در نمونه‌گیری مورد غربالگری قرار نگرفته‌اند مانند شتر (سیستان و

بلوچستان بیشترین تعداد شتر در ایران را دارد.)، پرندگان و حیات وحش (خارپشت گوش دراز و خرگوش به تعداد زیاد در منطقه سیستان یافت می‌شود). ۳) سطح پایین آگاهی و دانش افراد در معرض خطر مانند کشاورزان و دامداران، که با وجود شیوع کم ویروس در کنه‌ها، شیوع بیماری را در انسان افزایش می‌دهد. ۴) پایین بودن میزان عفونت *CCHFV*در میان کنه‌ها در مناطق جنوبی در مقایسه با کنه‌های استان‌های شمالی ایران. ۵) کاهش میزان RNA در نتیجه اشکال در استفاده از زنجیره سرد در هنگام انتقال به آزمایشگاه.

خاکی فیروز و همکاران با بررسی کنه‌های سخت استان کرمان مشخص کردند، *Dermacentor* شایع‌ترین جنس و پس از آن *Hyalomma* ، *Haemaphysalis* و *Rhipicephalus* بودند. گرچه کرمان یک کانون بومی *CCHF* است، اما هیچ ژنوم *CCHFV*شناسایی نشده است که کاملاً مشابه مطالعه‌ی حاضر است (۴). مطالعات دیگر در مورد کنه‌های دام در کشورهای دیگر نیز شیوع کم یا عدم وجود ژنوم ویروس را نشان داده است. در تحقیقی که در سه منطقه سودان انجام شد، شعیب و همکاران گزارش کردند هیچ یک از کنه‌های غربال شده دارای RNA ویروسی نبودند در حالی که ۱۳/۷ درصد برای گونه *Rickettsia* مثبت بود (۹). تکین و همکاران همچنین میزان عفونت کم (۲درصد) ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو از کنه‌های جمع‌آوری شده از مناطق بسیار اندمیک ترکیه را گزارش کردند (۱۲). این یافته‌ها همراه با نتیجه مطالعه حاضر ممکن است حاکی از آن باشد که حتی در بعضی از مناطق بومی گزش کنه مهم‌ترین راه انتقال ویروس به انسان نباشد. با این حال باید خاطر نشان کرد مطالعات مختلف میزان شیوع متفاوتی از ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو را از کنه‌های جمع‌آوری شده نقاط مختلف ایران گزارش می‌کنند. به منظور تشخیص آلودگی کنه‌ها به ویروس تب کریمه کنگو در استان یزد، سلیم آبادی و همکاران اقدام به جمع‌آوری کنه‌ها از دام‌های اهلی نموده و پس از آزمایش زنجیره‌ای پلیمراز معکوس، ژنوم ویروس در ۵/۷۱ درصد کنه‌ها یافت شد (۲۱). مطالعه‌ای که در سال ۲۰۰۷ با هدف تعیین فون انگلی منطقه و آلودگی کنه‌های منطقه به ویروس تب خون ریزی دهنده‌ی کریمه کنگو با روش RT-PCR در استان کردستان انجام پذیرفت مشخص کرد ۵/۶ درصد کنه‌ها به ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو آلوده هستند (۳). تلمادره‌ای و همکاران در سال ۲۰۰۷ طی مطالعه‌ی خود در استان همدان اعلام کردند ۱۶/۴ درصد کنه‌های بررسی شده به ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو آلوده هستند (۱۴). از میان ۳۲۸ کنه تست شده از بخش‌های مختلف استان همدان در سال ۲۰۰۷، با تکثیر قطعه اختصاصی S در تست RT-PCR مشخص شد ۱۹ درصد کنه‌ها آلوده به ویروس بودند (۱۶). در سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ نیز تحقیقات دیگری در استان اردبیل توسط تلمادره‌ای و همکاران انجام گرفت که درصد آلودگی نمونه‌ها ۲۸ درصد شرح داده شد. این ویروس در ۹ گونه از کنه‌های سخت و ۲ گونه از کنه‌های نرم جدا سازی شد (۱۵).

صالحی وزیری اذعان داشت که عفونت ویروس تب خونریزی دهنده کریمه کنگو در ایران بیشتر به دلیل تماس مستقیم با خون یا بافت‌های دام آلوده رخ می‌دهد (۷). بعلاوه، گزش کنه در مقایسه با قرار گرفتن در معرض حیوان یا انسان آلوده در ایران در انتقال ویروس کمتر رایج است (۶). نتایج این مطالعات در کنار مطالعه حاضر ممکن است تقویت کننده این مهم باشد که در منطقه سیستان، گزش کنه نقش کمتری نسبت به ارتباط با فراورده‌های دامی و افراد مبتلا، در انتقال ویروس تب خونریزی

دهنده کریمه کنگو بازی می‌کند.

با توجه به اینکه کنه‌های سخت *ریپیسفالوس* و *هیالوما* فون غالب این منطقه هستند و این کنه‌ها از مهم‌ترین ناقلین تب خون ریزی دهنده کریمه کنگو، آناپلاسموز، تیلریوز و بابزیوز به شمار می‌روند، بهتر است اقدامات کنترلی و پیشگیرانه در منطقه سیستان و بلوچستان با جدیت بیشتری دنبال شود. تب خونریزی دهنده کریمه کنگو تهدیدی جدی برای سلامت عمومی انسان و حیوان است (۱۳). اگرچه از بین ۱۰۰ کنه آزمایش شده از ۵ منطقه مختلف منطقه سیستان هیچ ژنوم ویروسی یافت نشد، اما نباید فراموش کرد که استان سیستان و بلوچستان یکی از کانون‌های اندمیک تب کریمه کنگو محسوب می‌شود. در نتیجه، برای روشن شدن و تأیید نتیجه ما، لازم است تحقیقات بیشتری با اندازه نمونه‌های بزرگتر برای ناقلین کنه‌ای انجام شود. با توجه به این فرضیه که نقش تماس مستقیم با دام‌های آلوده در انتقال ویروس بیشتر از گزش کنه در منطقه سیستان است، باید غربالگری سرولوژیک و مولکولی بیشتری روی جمعیت‌های پرخطر مانند کارکنان کشتارگاه، دامداران و دامپزشکان انجام شود. علاوه بر آن نظارت سازمان‌های مرتبط بر کشتار استاندارد و بهداشتی و توزیع محصولات دامی بیشتر شود.

**سپاسگزاری**

بودجه این پروژه به طور مشترک توسط دانشگاه زابل [شماره گرنت: UOZ-GR-9718-46] و اعضای تیم تحقیقاتی تأمین شد. از مسئولین و کادر بخش آربوویروس‌ها و تب‌های خونریزی دهنده ویروسی انستیتوپاستور نیز برای کمک‌های بی دریغشان کمال تشکر خود را اعلام می‌نمائیم.

## Reference

**1- Albayrak, H., Ozan, E. and Kurt, M.** 2010. 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*, 57(7-8): 156–160.

**2- Chinikar, S., Ghiasi, S.M., Hewson, R., Moradi, M. and Haeri, A.** 2010. Crimean-Congo hemorrhagic fever in Iran and neighboring countries. *Journal of Clinical Virology*, 47(2): 110–114.

**3- Farhadpour, F. *et al.*** 2016. 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*, 21(3): 340–347.

**4- Khakifirouz, S. *et al.*** 2018. No Detection of Crimean Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) Virus in Ticks from Kerman Province of Iran. *Journal of Medical Microbiology and Infectious Diseases*, 6(4): 108–111.

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

**6- Mostafavi, E., Haghdoost, A., Khakifirouz, S. and Chinikar, S.** 2013. Spatial analysis of Crimean Congo hemorrhagic fever in Iran. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89(6): 1135–1141.

**7- Salehi-Vaziri, M. *et al.*** 2016. The first fatal case of Crimean-Congo hemorrhagic fever caused by the AP92-like strain of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Japanese Journal of Infectious Diseases*, 69(4): 344–346.

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

**9- Shuaib, Y.A. *et al.*** 2020. Ixodid tick species and two tick-borne pathogens in three areas in the Sudan. *Parasitology Research*, 119(2): 385–394.

**10- Sofizadeh, A., Akbarzadeh, K., Telmadarraiy, Z. and Gorganli Davaji, A.** 2019. Distribution and Biodiversity of Hard Ticks (Acarina: Ixodidae) in Golestan Province. *Journal of School of Public Health and Institute of Public Health Research*, 16(4): 411–424.

**11- Tahmasebi, F. *et al.*** 2010. Molecular

epidemiology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genome isolated from ticks of Hamadan province of Iran.

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

**13- Telmadarraiy, Z. *et al.*** 2007. Determination of rodent ectoparasite fauna in Sarpole-Zahab district, Kermanshah Province, Iran, 2004-2005. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, : 58–62.

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

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

**16- Telmadarraiy, Z. *et al.*** 2010–b. Hard ticks on domestic ruminants and their seasonal population dynamics in Yazd Province, Iran. *Iranian Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 4(1): 66.

**17- Telmadarraiy, Z., Chinikar, S., Vatandoost, H., Faghihi, F. and Hosseini-Chegeni, A.** 2015. Vectors of Crimean Congo hemorrhagic fever virus in Iran. *Journal of Arthropod-Borne Diseases*, 9(2): 137.

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

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

**20- Yadav, P.D. *et al.*** 2016. Nosocomial infection of CCHF among health care workers in Rajasthan, India. *BMC Infectious Diseases*, 16(1): 624.

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

# Molecular detection of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in tick species collected from livestock in the border line of Iran-Afghanistan



**Sahar Asadolahizoj[1], Dariush Saadati[*2], Mehdi Rasekh[3], Faezeh Faghihi[4], Mehdi Fazlalipour[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 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- 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: January 20, 2020; Revise: March 7, 2020; Accept: March 12, 2020

## Summary

Crimean-Congo Hemorrhagic Fever (CCHF) is a viral, acute, febrile, and hemorrhagic disease that causes significant death in humans. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus has been isolated from different species of ticks, including 28 hard ticks and 2 soft ticks. The aim of this study was to determine the prevalence of CCHF virus in ticks isolated from domestic livestock in border villages of Sistan region in the north of Sistan and Baluchestan province. In this study, 54 livestock including 50 sheep, 3 goats and 1 cow in four villages (Choto, Nader Alamkhan, Millak and Sanjarani) from Sistan region were sampled. After identifying genus and species of ticks, the samples were examined for the presence of the virus genome by reverse polymerase chain reaction (RT-PCR).Acording to taxonomic ranks 2 genera and 3 species were identified, which include *Rhipicephalus* Sanguineous, *Rhipicephalus (Boophilus) annulatus* and *Hyalomma anatolicum*. The presence of the virus was not confirmed in any of the 50 tested samples. Our findings indicate that CCHFV may not circulating in the ticks of Sistan border villages. However, since Sistan and Baluchestan province is an endemic region for CCHF, more research is needed for a better understanding of CCHFV vectors in this region.

***Key Words:*** *Crimean Congo hemorrhagic fever, hard ticks, Sistan, RT-PCR*