

بررسی تنوع فنوتیپی و آلودگی به بورلیا در جمعیت‌های مختلف کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی استان زنجان

محمد محمدی^۱، دکتر محمد باقر قوامی^۲، مهندس جمشید محمدی^۳

نویسنده‌ی مسؤل: زنجان، دانشگاه علوم پزشکی زنجان، دانشکده‌ی پزشکی، گروه حشره شناسی ghavami@zums.ac.ir

دریافت: ۹۱/۹/۲۱ پذیرش: ۹۲/۳/۱۲

چکیده

زمینه و هدف: کنه‌ی اورنیتودوروس تولوزانی با گزش و خون‌خواری از انسان از اهمیت پزشکی و بهداشتی خاصی برخوردار است. به رغم اهمیت پزشکی و بهداشتی این کنه، تاکنون مطالعات دقیقی جهت تفکیک فرم‌های مختلف و استعداد‌های آن‌ها در انتقال بیماری انجام نیافته است. به همین دلیل برای تعیین تنوع فنوتیپی و آلودگی سویه‌های مختلف این کنه به بورلیا پرسیکا در استان زنجان، مطالعه‌ی حاضر انجام یافت. **روش بررسی:** در این مطالعه‌ی توصیفی، نمونه‌های اورنیتودوروس تولوزانی در مشاهدات استریومیکروسکوپ با دقت ۰/۱ میکرومتر، ۲۰ شاخص مرفومتريک کمی اندازه‌گیری و به همراه الگوهای پارامترهای کیفی مورد ارزیابی قرار گرفتند. نمونه‌های مورد بررسی همچنین با خون‌خواری از نوزاد ۳ روزه‌ی موش سوری و تزریق سوسپانسیون له شده آن‌ها به صفاق نوزاد موش، تعیین آلودگی به بورلیا شدند.

یافته‌ها: بررسی آزمایشگاهی نمونه‌ها نشان داد که آلودگی به بورلیا در نمونه‌های این کنه‌ها ۴ تا ۸ در هزار است. بررسی صفات مرفومتريک نمونه‌های این کنه از شهرستان‌های خدابنده و ماه‌نشان مشخص کرد که اندازه‌ی بدنی ماده‌ها، $6/81 \times 2/93$ میلی‌متر بود و جمعیت‌های دو سویه ماه‌نشان و خدابنده در اندازه عرض کاپیتولوم و منفذ جنسی تفاوت داشتند. نرهای اورنیتودوروس تولوزانی کوچک‌تر از ماده‌ها بودند و به اندازه $4/68 \times 2/6$ میلی‌متر می‌رسیدند. به جز طول و عرض کاپیتولوم که در نمونه‌های ماه‌نشان بیشتر از نمونه‌های خدابنده دیده شد، بقیه‌ی شاخص‌ها تفاوتی نداشتند. نمف‌های این دو سویه در اندازه‌ی بدنی، طول و عرض کاپیتولوم، طول بندهای ۲ تا ۴ پالپ با هم دیگر تفاوت داشتند و در بقیه‌ی صفات مشابه هم بودند.

نتیجه‌گیری: نظر به وجود تفاوت‌های مرفومتريک نمونه‌ها در مناطق مطالعاتی و آلودگی آن‌ها به بورلیا، کمبود و نبود اطلاعات جامع جهت تفسیر این اطلاعات و انجام مطالعات جامع برای بازنگری توصیف گونه، بیان جایگاه سیستماتیک سویه‌های مختلف و تعیین ماهیت مولکولی جهت شناسایی این کنه، تهیه‌ی پروتوکل تشخیص مولکولی برای اولویت بندی مناطق عملیاتی، پایش عملیات اجرایی جهت تعیین دقیق نرخ آلودگی کنه‌ها به بورلیا مناطق جغرافیایی مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: اورنیتودوروس تولوزانی، استان زنجان، خدابنده، ماه‌نشان، بورلیا پرسیکا، صفات مرفومتريک

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد حشره شناسی، دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۲- دکترای تخصصی حشره شناسی، دانشیار دانشگاه علوم پزشکی زنجان

۳- کارشناسی ارشد حشره شناسی، مربی دانشگاه علوم پزشکی زنجان

مقدمه

کنه‌های نرم (خانواده *Argasidae*) شامل دو جنس *Ornithodors* و *Argas* می‌باشند که گونه‌های مختلف *Ornithodors* قادر است از انسان و پستانداران خونخواری نماید (۱). این جنس شامل ۱۱۵ گونه است که گونه‌های *Ornithodors erraticus*, *Ornithodors tholozani* و *Ornithodors tartakousky* در مناطق مختلف خاورمیانه پراکنده‌اند و از این بین کنه اورنیتودوروس تولوزانی مخزن و ناقل بیماری تب راجعه کنه‌ای در ایران می‌باشد (۲) و استان زنجان یکی از کانون‌های پراکنش این گونه محسوب می‌شود (۲). قدمت طولانی این کنه، قدرت سازش پذیری بالا در زیستگاه‌های مختلف و دامنه پراکنش وسیع جمعیت‌های آن حاکی از وجود تیپ‌های مختلف اکولوژیکی، مرفولوژیکی می‌باشد. طبیعی است که تمامی این تیپ‌ها حساسیت یکنواختی نسبت به عوامل بیماریزا، تکثیر و انتقال آن را نخواهند داشت. لذا جهت تدوین برنامه‌های کنترلی و اولویت بندی مناطق عملیاتی، شناسایی تیپ‌های مختلف و ناقلین پرخطر ضروری است (۲). بدین ترتیب اهمیت انجام مطالعات علمی در زمینه تعیین پلی مورفیسم (چند شکلی) جمعیت‌های مختلف این کنه از اهمیت شایانی برخوردار است. به رغم قدمت طولانی شناخت کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی و دامنه‌ی وسیع انتشار آن‌ها در خاورمیانه مطالعات انجام یافته در مورد آن‌ها محدود به مطالعات فونستیک، تعیین پراکنش و آلودگی به بورلیا است. در این میان می‌توان به مطالعات انجام یافته در استان زنجان (۳ و ۲) و استان‌های مجاور مانند: قزوین (۴) (و فورکنه اورنیتودوروس تولوزانی ۱۱/۷۵ درصد و نرخ آلودگی به بورلیا در کنه اورنیتودوروس تولوزانی ۱۶/۷ درصد محاسبه شده است)، کردستان (۵) (و فورکنه اورنیتودوروس تولوزانی ۶/۷ درصد و نرخ آلودگی به بورلیا ۰/۳ درصد محاسبه شده است)، همدان (۶) (و فورکنه اورنیتودوروس تولوزانی ۱/۷۷ درصد و نرخ آلودگی

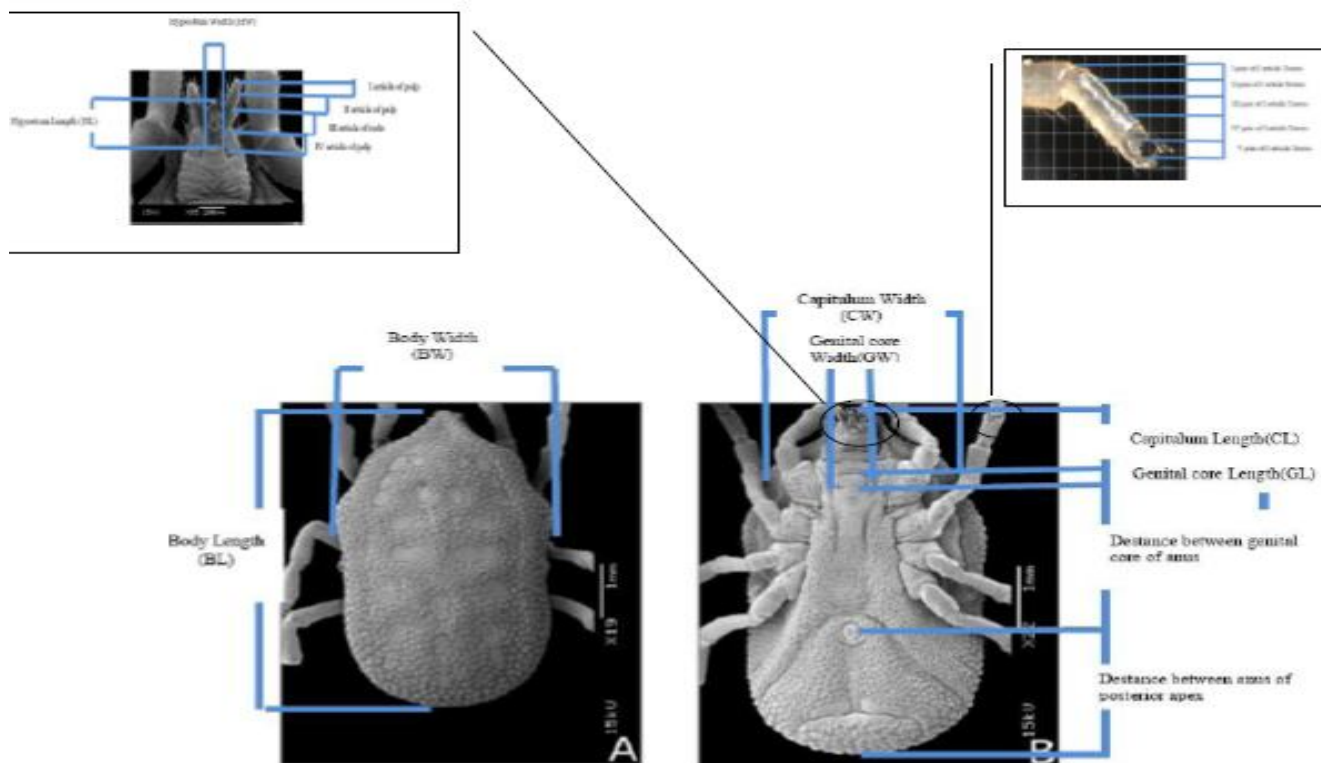
به بورلیا ۳/۷ درصد محاسبه شده است) اشاره نمود. در مطالعات خارجی می‌توان به مطالعه‌ی مرفومتريک کنه‌های نرم در مرکز و غرب برزیل (۷) کنه‌های سخت (۸ و ۹)، هییره‌ها (۱۰) و گروه‌های دیگر ناقلین (۱۱-۱۶) اشاره کرد که در آن‌ها از شاخص‌های مرفومتريک مانند طول و عرض بدن، طول و عرض پنجه‌ی پا برای تعیین تنوع جمعیت استفاده شده است. بیماری تب راجعه‌ی آندمیک یکی از مهم‌ترین بیماری‌های عفونی منتقله از بند پایان به انسان می‌باشد. تظاهرات بالینی و غیر اختصاصی این بیماری باعث کاهش قدرت جسمانی و دفاعی بدن و گاهی مرگ می‌گردد و سالانه لطمات اقتصادی زیادی را ایجاد می‌نماید (۱۷). این بیماری در تمام مناطق دنیا به جز سواحل جنوب غربی اقیانوس آرام شایع است. کشورهای خاورمیانه به‌خصوص ایران یکی از مهم‌ترین کانون‌های بیماری محسوب می‌شود (۱۸). در ایران این بیماری در مناطق وسیعی که مشرف به سلسله جبال زاگرس هستند شایع است و در این میان زنجان یکی از مهم‌ترین کانون‌های بیماری می‌باشد (۱۹). بورلیا پرسیکا گونه‌ی غالب عامل بیماری در ایران بوده که توسط کنه اورنیتودوروس تولوزانی که مخزن بیماری نیز می‌باشد به انسان منتقل می‌شود (۲۰). با توجه به شیوع نسبی بالای بیماری و نبود مطالعات در زمینه‌ی تنوع جمعیتی این گونه و لزوم بررسی برای اولویت بندی و برنامه‌ریزی برنامه‌های کنترلی، این مطالعه با اهداف تعیین فنوتیپ جمعیت‌های کنه نرم اورنیتودوروس تولوزانی در مناطق آندمیک بیماری تب راجعه کنه‌ای و همچنین تشخیص آلودگی آن‌ها به بورلیا در استان زنجان انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه‌ی توصیفی که هدف آن بررسی تنوع فنوتیپی کنه اورنیتودوروس تولوزانی و آلودگی به بورلیا پرسیکا در جمعیت‌های مختلف کنه‌ی نرم استان زنجان بود،

به منظور اندازه گیری پارامترهای مرفومتريک، کنه ها به بشر حاوی الکل ۷۰ درصد و گلیسرین منتقل شده و حرارت داده شدند تا کاملاً بجوشند. این عمل باعث شل شدن ماهیچه ها و ثابت ماندن شکل بدن و اندام کنه شد. بعد از این مرحله نمونه های کنه برحسب مکان صید در زیر استریومیکروسکوپ و در بزرگنمایی های مختلف (۱ تا ۱۱ برابر) با دقت یک دهم میکرون، ۲۴ صفت کمی و کیفی (شکل ۱) توسط استریومیکروسکوپ اندازه گیری و عکس ها کد گذاری شده و در فلش مموری ذخیره شدند. داده های مرفومتريک کمی کیفی با T-Test و تست نا پارامتریک Mann Whitney U آزمون شده و متغیرهای کمی به صورت میانگین (انحراف از معیار) آورده شده، احتمال خطای آلفا ۰/۰۵ و سطح معنی دار P-value کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

برای جمع آوری کنه های نرم از سه شهرستان (زنجان - ماهنشان - خدابنده) مورد بررسی، ۴ روستا از هر شهرستان به طور تصادفی انتخاب گردید. برای نمونه گیری از هر روستا ۸ مکان شامل ۸ طولیله یا زاغه در چهار جهت (شمال - جنوب - شرق - غرب) انتخاب شده و بافت ساختمانی اماکن داخلی حیوانی از نظر وجود کنه نرم مورد بررسی قرار گرفت. کنه های نرم به شیوه ای استاندارد جمع آوری دستی (Hand Catch) با پنس سرکج صید و به لوله های آزمایش برچسب دار هدایت شدند و بر روی آن ها اطلاعات (نام روستا، نام شهرستان، تاریخ نمونه گیری و نام نمونه گیر) قید شده و نمونه ها به آزمایشگاه حمل و بعد از تفکیک نمونه های *Ornithodoros tholozani* براساس کلید تشخیص استاندارد در شرایط آزمایشگاهی استاندارد (دمای ۲۹ C، رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد، ۱۲:۱۲ it) نگهداری شدند.



شکل (۱): بیان شماتیک پارامترهای مرفومتريک سطح پشتی و شکمی کنه اورنیتودوروس تولوزانی.

A: سطح پشتی و B: سطح شکمی

به منظور تعیین آلودگی کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی به بورلیا پرسیکا در روش خونخواری ۵ عدد کنه *Ornithodors tholozani* (به تفکیک مکان صید) جهت خونخواری در مجاورت یک نوزاد موش نژاد سوری ۳ روزه (در انکوباتور با دمای 30°C و رطوبت ۵۰ درصد) قرار داده شده تا کنه‌ها در تاریکی و دما و رطوبت مناسب خونخواری کنند. در روزهای سوم - پنجم و هفتم بعد از تماس قطره‌ای خون از انتهای دم نوزاد گرفته، بین لام و لامل قرار داده، نمونه‌ی خون تهیه شده در زیر میکروسکوپ زمینه سیاه (دارک فیلد) از نظر وجود بورلیا مورد بررسی قرار گرفت. همچنین گسترش نازک و ضخیم با گیمسا رنگ آمیزی شده و از نظر وجود بورلیا در گسترش توسط میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت. به‌منظور تزریق سوسپانسیون له شده کنه، نمونه‌های هر روستا در دسته‌جات ۴ تایی با پیپت پاستور در میکروتیوپ ۱/۵ میلی‌لیتری کوبیده و محلول حاصل به بچه موش‌های ۷ روزه تزریق شده و از روز هفتم بعد از تزریق تا روز چهاردهم از خون دم موش گسترش تهیه و در زیر میکروسکوپ از نظر وجود بورلیا پایش شده و از روز چهاردهم به بعد خون موش سانتریفیوژ شده و گسترش بافی کوت خون با گیمسا رنگ‌آمیزی و ۱۰۰ میدان دید میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

از مجموع ۲۳۲ محل نگه داری دام در ۲۱ روستای شهرستان‌های زنجان، ماهنشان و خداپنده استان زنجان در سال‌های ۱۳۹۰ تا ۱۳۹۱ مجموعاً ۲۳۰۲ نمونه‌ی کنه نرم (آرگازیده) صید شد که ۱۲۲۷ عدد (۵۳/۳ درصد) آن‌ها اورنیتودوروس تولوزانی و مابقی (۱۰۷۵ عدد) اورنیتودوروس لاهورنسیس بودند. وفور کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی در مناطق مطالعاتی شهرستان زنجان بسیار کم بود و فقط ۳۰ نمونه (۱۷ عدد ماده و ۱۳ عدد نر) که ۲/۴ درصد نمونه‌های

صید شده را تشکیل می‌دادند از این شهرستان بود. بررسی آلودگی بورلیایی کنه‌ها نشان داد که از ۱۸۵ نوزاد موش که ۹۳۰ نمونه‌ی کنه از آن‌ها خون خواری کرده بودند، ۲ نوزاد موش سوری آلوده به بورلیا بودند. این دو نوزاد آلوده که ۲ تا ۴ نمونه‌ی کنه صید شده از شهرستان خداپنده از آن‌ها خون خواری کرده بودند در روزهای ۱۰ تا ۱۲ پایش تلف شدند. بدین ترتیب میزان آلودگی کنه‌ها به بورلیا در نمونه‌های شهرستان خداپنده ۴ تا ۸ در هزار محاسبه شد.

بررسی تنوع فنوتیپی در جمعیت‌های مختلف کنه اورنیتودوروس تولوزانی: نتایج آنالیز داده‌ها نشان داد که در ۸۱ نمف بررسی شده از مناطق مختلف شهرستان خداپنده (۴۹ عدد) و ماهنشان (۳۲ عدد)، میانگین طول بدن و عرض بدن در مناطق مورد بررسی یکسان نبود ($P < 0.05$). نمونه‌های خداپنده اندازه بدنی (1.99×0.49 میلی‌متر) بزرگتری در مقایسه با نمونه‌های ماهنشان (1.67×0.84 میلی‌متر) داشتند. مشاهدات میکروسکوپی مشخص کرد که میانگین طول و عرض کاپیتولوم کنه‌ها در مناطق مورد بررسی یکسان نبوده ($P < 0.05$) و در نمونه‌های ماهنشان (1.44×0.36 میکرومتر) بزرگتر از خداپنده (1.16×0.27 میکرومتر) بود. همچنین میانگین طول بندهای دوم و سوم و چهارم پالپ‌ها در نمونه‌های مورد بررسی دو شهرستان یکسان نبود ($P < 0.05$) و پالپ‌های نمونه‌های شهرستان خداپنده بلندتر از نمونه‌های شهرستان ماهنشان بود. میانگین طول بند دوم و سوم و چهارم در نمونه‌های خداپنده به ترتیب $0.7/6$ و $0.7/67$ و $0.7/45$ میکرومتر می‌رسید. در حالی‌که این شاخص‌ها در نمونه‌های ماهنشان به ترتیب $0.9/46$ و $0.6/53$ و $0.5/34$ میکرومتر دیده شدند. نمونه‌های شهرستان ماهنشان هاپوستوم عریض‌تر ($0.2/88$ میکرومتر) اما فاصله‌ی منفذ جنسی تا مخرج ($0.5/54$ میکرون) کمتری نسبت به نمونه‌های خداپنده ($0.5/63$ میکرون) داشت مابقی صفات در دو گروه نمف مورد بررسی یکسان بوده و اختلاف معناداری نداشت (جدول ۱).

جدول ۱: تفاوت‌های مرفومتريک نمف کنه اورنیتودوروس تولوزانی دو شهرستان خدابنده و ماهنشان

شهرستان	خدابنده	ماه‌نشان					
شاخص کمی مرفومتريک (میکرومتر)	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	**P
طول بدن	۳۴۹۵/۳±۱۸۱۶	۲۴۷۰	۶۱۳۹/۷	۲۸۴۰/۹±۸۹/۳	۱۴۴۰/۸	۴۰۲۹/۸	* ۰/۰۰۰
عرض بدن	۱۹۹۱±۱۰۹۲	۶۰۹/۹	۳۴۳۹/۸	۱۶۷۲/۲±۶۵۸/۹	۴۵۹/۹	۲۴۶۰	* ۰/۰۰۵
طول کاپیتولوم	۲۷۹/۷±۱۵۶/۴	۱۰۰	۵۲۸/۹	۳۶۵±۳۴۹/۴	۲۰۰/۰۴	۶۷۸/۶	* ۰/۰۰۴
عرض کاپیتولوم	۱۱۶/۶±۶۶/۶	۷۰	۲۳۱	۱۴۴/۱±۱۵۰/۹	۶۵	۳۳۰/۸	* ۰/۰۳۱
طول بند دوم پالپ	۶۰/۷±۴۵/۶	۲۴/۱	۱۲۷/۸	۴۶/۹±۲۷/۸	۲۲/۰۲	۷۴/۲	* ۰/۰۰۳
طول بند سوم پالپ	۶۷/۷±۴۲/۵	۱۸/۳	۱۲۵/۱	۵۳/۶±۳۲/۹	۱۹/۰۲	۸۲/۳	* ۰/۰۰۲
طول بند چهارم پالپ	۴۵/۷±۳۲/۳	۱۵/۷	۸۷/۱	۳۴/۵±۲۷/۴	۱۲/۳۲	۶۲/۲	* ۰/۰۰۲
عرض هیپوستوم	۷۷±۳۷/۲	۳۴	۱۲۳/۰۳	۸۸/۰۲±۴۳/۱	۵۱	۱۴۰	* ۰/۰۲۸
فاصله منفذ جنسی تا مخرج	۶۳۶/۵±۳۰۱/۸	۳۸۰	۱۹۹۹	۵۴۵±۳۲۷/۲	۵۸۹	۱۷۲۹/۸	* ۰/۰۰۳
T-Test * آزمون		P<۰/۰۵**					

خدابنده (۳۵۶/۴ میکرومتر) داشت، منفذ جنسی در نمونه‌های خدابنده (۱۸۲ میکرومتر) عرض بیشتری در مقایسه با نمونه‌های ماه‌نشان (۱۶۸ میکرومتر) داشت (جدول ۲).

جنس نر: از ۳۴۶ نمونه کنه نر بررسی شده که ۲۰۲ عدد از شهرستان خدابنده و مابقی (۱۴۴ عدد) از شهرستان ماه‌نشان صید شده بودند، سویی‌های ماه‌نشان کاپیتولوم بزرگتر (۴۰۴/۲ میکرومتر) و مشخص‌تری نسبت به سویی‌های

جدول ۲: تفاوت‌های مرفومتريک بالغین نر کنه‌ی اورنیتودوروس تولوزانی دو شهرستان خدابنده و ماهنشان

شهرستان		خدابنده		ماه‌نشان			
شاخص کمی	میانگین	حداقل	حداکثر	میانگین	حداقل	حداکثر	** p
طول کاپیتولوم	۳۵۶/۴±۱۸۲/۳	۱۰۰	۷۸۳/۹	۴۰۴/۲±۲۷۳/۲	۱۸۷	۷۶۳/۶	*./۰۰۰
عرض کاپیتولوم	۱۲۶/۶±۷۲/۵	۱۲/۹	۳۱۷	۱۵۶±۱۷۰/۵	۶۱/۰۳	۵۰۷/۹	*./۰۰۰
طول منفذ جنسی	۱۸۲±۹۲/۳	۷۳	۳۹۸/۰۳	۱۶۸±۸۸/۲	۶۵/۷	۳۶۸/۰۵	*./۰۰۵
* آزمون T-Test		P<۰/۰۵**					

جنس ماده: در ۱۶۶ نمونه‌ی کنه‌ی جنس ماده بررسی شده که ۷۲ عدد از خدابنده و مابقی (۹۴ عدد) از شهرستان ماهشان صید شده بودند. عرض کاپیتولوم در نمونه‌های دو شهرستان یکسان نبود ($P < 0/05$) و این شاخص در نمونه‌های ماهشان عریض‌تر از خدابنده بود میانگین عرض کاپیتولوم در نمونه‌های شهر خدابنده ۱۵۵/۵ میکرون و در نمونه‌های ماهشان ۱۸۲/۶ میکرون دیده شد. بررسی

سطح شکمی کنه‌ها نشان داد که میانگین فاصله مخرج تا انتهای خلفی بدن نمونه‌ها در مناطق مورد بررسی یکسان نیست ($P < 0/05$) و این شاخص در نمونه‌های خدابنده بزرگتر از ماهشان بود (جدول ۳). میانگین فاصله مخرج تا انتهای خلفی بدن در نمونه‌های شهر خدابنده ۲/۸۷ میلی‌متر می‌رسید اما این شاخص در نمونه‌های ماهشان ۲/۵۳ میلی‌متر دیده شد.

جدول ۳: تفاوت‌های مرفومتريک بالغين ماده کنه اورنیتودوروس تولوزانی دو شهرستان خدابنده و ماهشان

شهرستان	خدابنده	ماهشان		
شاخص کمی	میانگین	حداقل	حداکثر	**P-value
عرض کاپیتولوم	۱۵۵/۵±۷۳/۵	۴۳/۳۱	۲۳۹/۹	*.۰/۰۰۷
فاصله مخرج تا انتهای	۲۸۱۴±۱۳۱۶/۵	۱۰۹۸	۴۲۴۹/۸	*.۰/۰۳۸
T-Test		P<۰/۰۵ **		

نمونه‌های ماده شهرستان خدابنده، لب پایینی منفذ جنسی برابر لب بالایی آن است ($P < 0/001$). در حالی‌که در نمونه‌های ماهشان مشاهدات میکروسکوپی نمونه‌ها مشخص کرد که منفذ جنسی در نمونه‌های این شهرستان طرح مشابهی نداشت ($P < 0/0001$).

جدول ۴: مقایسه‌ی جنس ماده کنه اورنیتودوروس تولوزانی دو شهرستان از نظر نسبت لب پایینی به لب بالایی منفذ جنسی

شهرستان	لب پایینی بزرگتر	لب پایینی
خدابنده	۵۱	۳۵
ماهشان	۱۲	۵۷
**P-value	*.۰/۰۰۰۱	*.۰/۰۰۱
Mann Whitney U		P<۰/۰۵ **

بحث

وفور کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی در مناطق روستایی شهرستان زنجان در مقایسه با دو شهرستان دیگر بسیار کم بود

در حالی‌که در چند سال اخیر این گونه در مناطق روستایی وفور قابل توجهی داشت (۲۰)، کاهش وفور کنه در این شهرستان می‌تواند متأثر از چندین فاکتور اکولوژیکی همچون کاهش نگاه‌داری دام (گوسفند)، بهبود وضع بهداشتی اماکن و ترویج احداث دام‌داری‌ها صنعتی و محدود شدن آشیان اکولوژیکی و زیستگاه‌های این کنه باشد. بدین ترتیب افزایش آگاهی مردم به خصوص روستاییان در زمینه‌ی بهداشت مسکن و حمایت آن‌ها در احداث دام‌داری‌های صنعتی می‌تواند در تداوم روند کاهش وفور کنه موثر باشد.

در مناطق روستایی مشرف به رشته کوه‌های زاگرس دو شهرستان خدابنده و ماهشان که مناطق سخت استان هستند و زیستگاه و خاستگاه دایمی کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی را تشکیل می‌دهند وفور کنه‌ها زیاد بود. در این مناطق دام‌داری‌های سنتی، اماکن حیوانی قدیمی و زاغه‌ها و تمایل بیشتر روستاییان به نگاه‌داری گوسفند در پایداری جمعیت‌های اورنیتودوروس نقش بسزایی دارد. بدیهی است عملیات

بررسی تنوع فنوتیپی در جمعیت‌های کنه نرم *Ornithodors peruvianus* در شیلی دیده شده است (۲۸). با توجه به وجود تفاوت‌های مرفومتريک نمونه‌ها در مناطق مورد مطالعه، کمبود و نبود اطلاعات موجود برای تفسیر این اطلاعات انجام مطالعات جامع برای بازنگری توصیف گونه، بیان جایگاه سیستماتیک سویه‌های مختلف و تعیین ماهیت مولکولی جمعیت‌های این کنه در مناطق مختلف جغرافیایی برای درک روند تکاملی و بیان ارتباطات نیایی جمعیت‌های این کنه ضروری به نظر می‌رسد.

۴ تا ۸ در هزار نمونه‌های کنه‌ها مورد مطالعه به بورلیا آلوده بودند. این آلودگی فقط در نمونه‌های صید شده از شهرستان خدابنده بود و در این شهرستان میزان آلودگی کنه‌ها به ۰/۹ درصد می‌رسید. آلودگی به بورلیا در میان کنه‌های بررسی شده شهرستان زنجان در ۲۰ سال اخیر که در آن موقع شهرستان ماهنشان از توابع شهرستان زنجان محسوب می‌شد ۱۲/۵ درصد بود (۲۹ و ۲۰). در مطالعه‌ی انجام یافته در شهرستان ماهنشان (۲۹) میزان آلودگی به بورلیا ۵ درصد گزارش شده است. همچنین بررسی نمونه‌های استان همدان که در همسایگی شهرستان خدابنده می‌باشد آلودگی بورلیایی در کنه‌ها صفر (۳۰) تا ۳/۷ (۶) دیده شده است.

نتیجه‌گیری

بررسی حاضر به همراه مطالعات چند سال اخیر بیانگر این نکته است که بیماری در این منطقه بومی است. از آنجایی که بیماری فقط از طریق گزش کنه اورنیتودوروس تولوزانی به انسان قابل انتقال است به نظر می‌رسد که میزان آلودگی کنه‌ها در این مناطق بیشتر از ارقام فعلی باشد. عدم کفایت روش تلقیح نمونه‌ها به حیوان حساس آزمایشگاهی در تعیین دقیق آلودگی آن‌ها ممکن است یکی از عوامل مهم غیر واقعی شدن نرخ آلودگی در کنه‌ها می‌باشد. به همین خاطر تهیه‌ی پروتوکل تشخیص مولکولی برای اولویت‌بندی مناطق عملیاتی، پایش

مداخله‌ای برای کنترل این کنه‌ها، مستلزم تدوین برنامه جامع بلند مدتی است که در آن سم پاشی مستقیم اماکن حیوانی، پایش سطح حساسیت جمعیت‌های اورنیتودوروس نسبت به سموم رایج و حمایت مردم در احداث اماکن بهداشتی و دامداری‌های صنعتی را نیاز دارد. مطالعات مرفومتريک و سیستماتیک در مورد جمعیت‌های اورنیتودوروس تولوزانی در مناطق مختلف خاورمیانه بسیار کم است و تنها شاخص‌های ساده مرفومتريک که در توصیف اولیه گونه‌ای توسط (۱۸۸۲) لابلنه و مگنین که توسط ناتال در سال ۱۹۰۸ بیان شده در دسترس است (۲۱). مقادیر اندازه بدنی جمعیت‌های این کنه در مناطق مورد مطالعه‌ی دو شهرستان با مقادیر بیان شده توسط ناتال (۱۹۰۸) مطابقت دارد (۲۱). این مقادیر گذشته از اینکه در شناسایی افراد این گونه از گونه‌های دیگر کمک می‌کند در توصیف دقیق شاخص‌های مرفومتريک می‌تواند کاربرد داشته باشد. جمعیت‌های دو سویه ماهنشان و خدابنده به رغم تشابهات مرفومتريک و نبود تفاوت‌های آلومتریکی، در اندازه‌ی کاپیتولوم در مراحل زیستی نمف - بالغ (نر و ماده) تفاوت داشتند. از آنجایی که این کنه یک گونه‌ی آشیانه دوست است و قدرت پراکنش بسیار محدود ولی طول عمر زیادی دارد، بدین ترتیب جمعیت‌های آن در مناطق مختلف جغرافیایی با یکدیگر جدایی زیستگاهی دارند. جدایی جمعیت‌ها و عدم ارتباط آن‌ها با همدیگر باعث سازش آن‌ها با شرایط خاص محلی شده که با گذشت زمان و بروز تفاوت‌هایی در ساختار بدنی می‌شود و زمینه را برای گونه‌زایی فراهم می‌سازد (۲۳ و ۲۲). به‌طوری که این امر در مورد جمعیت‌های کنه نرم *Ornithodors marinkelli* (۷) و *Carios fonsecai* (۲۴) و *Ornithodors rondoniensis* (۲۵) مورد مطالعه در برزیل همچنین در جمعیت‌های کنه نرم *Carios mimon* (۲۶) در بولیوی، مطالعه‌ی مرفومتريک ناوا و همکاران (۲۰۱۲) بر روی کنه نرم *Ornithodors Viguerasi* (۲۷) و

واضح است هرگونه مداخله به خاطر پدیده جنگ و گریز اکولوژیک عواقب نامطلوبی ممکن است به دنبال داشته باشد لذا همکاری بین بخشی ارگان‌های اجرایی دامپزشکی، جهاد سازندگی، مراکز بهداشتی و درمانی، معاونت عمرانی استانداری با مراکز تحقیقاتی دانشگاهی برای حذف عواقب نامطلوب لازم است.

عملیات اجرایی و تعیین دقیق آلودگی کنه‌ها به بورلیا در مناطق مختلف دو شهرستان که مناطق مهمی هستند و همواره سلامتی مناطق استان را تهدید می‌کند امری ضروری است. کنترل کنه‌های اورنیتودوروس تولوزانی که ناقل و مخزن بیماری تب راجعه آندمیک هستند، تنها شیوه‌ی موثر در کنترل بیماری می‌باشد. در مناطق بومی جهت کنترل بیماری پر

References

- 1- Richard NB, Robert SL, David TD. Geographic distribution of tick-borne diseases and their victors in: tick – borne diseases of humans edited by goodman. Washington DC. ASM press. 2005. 363-393.
- 2- Mahram M, Ghavami MB. Congenital tick-borne relapsing fever: report of a case with trans placental transmission in the Islamic Republic of Iran. *East Mediterr Health J*. 2009; 15: 167-761.
- 3- Masoumi Asl H, Goya MM, Vatandoost H, et al. The epidemiology of tick-borne relapsing fever in Iran during 1997- 2006. *Travel Med Infect Dis*. 2009; 7: 160-164.
- 4- Barmaki A, Rafinejad J, Vatandoost H, et al. Study on presence of *Borrelia persica* in soft ticks in western Iran. *Iran J Arthropod-Borne Dis*. 2010; 4: 19-25.
- 5- Banafshi O, Rafi Nejad J, Esmaeil Nasab N. Faunistic investigation on soft ticks and infection of *Ornithodoros Tholozani* to *Borrelia Persica* in Bijar, Kurdistan province, Iran. *Sci J Kurdistan Univ Med Sci*. 2003; 31: 50-58.
- 6- Vatandoost H, Ghaderi A, Javadian E, et al. Distribution of soft ticks and their infection with *Borrelia* in Hamadan province, Iran. *Iranian J Publ Health*. 2003; 32: 22-24.
- 7- Marcelo Bl, Venezal JM. *Carios fonsecai* sp. nov. (Acari, *Argasidae*), a bat tick from the central western region of Brazil. *Acta Parasitological*. 2009; 54: 355-363.
- 8- Hutcheson HJ, Oliver JH, Houck MA, Strauss RE. Multivariate morphometric discrimination of nymphal and adult forms of the black legged tick (Acari: Ixodidae), a principal vector of the agent of Lyme disease in eastern North America. *J Med Entomol*. 1995; 32: 827-42.
- 9- Rahmani H, Kamali K, Saboori A, Nowzari J. Report and survey of morphometric characteristics of varroa destructor (Acari:Varroidae) collected from honey bees in Tehran province. *Iran J Agric Sci Technol*. 2006; 8: 351-355.
- 10- Vidovic B, Stanisavljevic L, Petanovic R. Phenotypic variability in five *Aceria* spp. (Acari: Prostigmata: Eriophyoidea) inhabiting *Cirsium* species (Asteraceae) in Serbia. *Exp Appl Acarol*. 2010; 52: 169-181.
- 11- Louise C. Species or morphological variation? a multivariate morphometric analysis of *Afroileius*

- simplex* (Acari, Oribatida, Haplozetidae). *Trends in Acarology*. 2009; 8: 267-269.
- 12- Dujardin JP. Morphometric applied to medical entomology. *Infect Genet Evol*. 2008; 8: 90-875.
- 13- Satoh A, Hori M. Interpopulation differences in the mandible size of the coastal tiger beetle *Lophyridia angulata* associated with different sympatric species. *Entomological Science*. 2004; 7: 211-217.
- 14- Lounibos LP, Coetzee M, Duzak D, et al. A description and morphometric comparison of eggs of species of the *Anopheles gambiae* complex. *J Am Mosq Control Assoc*. 1999; 15: 157-185.
- 15- Alencar J, Rodriguez FJ, Degallier N, Marcondes CB, Costa JM, Guimaraes AE. Multivariate discrimination between two cryptic *Haemagogus* species associated with the transmission of yellow fever virus in the Americas. *J Am Mosq Control Assoc*. 2009; 25: 18-24.
- 16- Sakolsky G, Carlson DA, Sutton BD, Stoffolano JG. Detection of cryptic species in the *Tabanus nigrovittatus* (Diptera: Tabanidae) complex in Massachusetts by morphometric and cuticular hydrocarbon analysis. *J Med Entomol*. 1999; 36: 610-613.
- 17- William LN, Daniel ES, Robert SL, Gerrit U. Ticks (Ixodida) In: Medical and veterinary Entomology. Edited by Gary RM and Lance AD. Academic press imprint of Elsevier. 2009. 493-542.
- 18- Kerstian EC and Frank MC. Tick borne relapsing fever in: tick borne infection diseases. edited by Borke AC. New York DC. Marcel Dankker, Inc 2005. 169-185.
- 19- Moemenbellah-Fard MD, Benafshi O, Rafinejad J, Ashraf H. Tick-borne relapsing fever in a new highland endemic focus of western Iran. *Ann Trop Med Parasitol*. 2009; 103: 529-537.
- 20- Ghavami MB, Asmar M, Piazak N. Epidemiology of tick borne relapsing fever in Zanjan city. *J Zanjan Uni Med Sci*. 2002; 9: 22-27.
- 21- Nuttall GHF, Warburton C. The argasidae in: ticks a monograph of the ixodoidea edited by. Nuttall GHF, Warburton C, Cooper WF, Robinson LE. Cambridge University Press. 1908. 347.
- 22- Mayer E Ashlock. Principles of systematic zoology. New York DC. Graw Hill Company press. 1991. 277.
- 23- Mayer E. Papulation species and evolution. An abirdgment of animal species and evolution. Cambridge: Mass, Bellcnap press of Harvard University press. 1971. 231.
- 24- Labruna MB, Nava S, Terassini FA, et al. Description of adults and nymph, and redescription of the Larva, of *Ornithodors marinkellei* (Acari: Argasidae), with data on its phylogenetic position. *J Parasitol*. 2011; 97: 207-217.
- 25- Marcelo B, Labruna, Flavio A, Terassini LMA, Camargo, et al. New reports of *antricola Guglielmonei* and *Antricola Delacruzi* in Brazil, and a description of a new *Argasid* species (Acari). *J Parasitol*. 2008; 94: 788-792.

- 26- Darci MBB, Gabriel AL, Valeria CO, et al. *Carios mimon* (Acari: Argasidae): Description of adults and redescription of Larva. *Exp Appl Acarol*. 2011; 54: 93-104.
- 27- Nava S, Venzal JM, Reyes Novelo EA, Mangold AJ, Labruna MB, et al. Morphological study of *Ornithodors viguerasi* cooley and Kohls, 1941 (Acari: Ixodida: Argasidae), with sequence information from the mitochondrial 16S rDNA gene. *Acarologia*. 2012; 52: 29-38.
- 28- Heisch RB, Guggisberg CA. On *Ornithodors zumpti* N.SP,a new tick from south Africa. *Parasiyology*. 1953; 43: 136-8.
- 29- Ghavami MB, Zarzari mogaddam R. Clinical and laboratory findings tick borne relapsing fever endemic in Zanjan. *J Zanjan Univ Med Sci*. 2000; 31: 29-36.
- 30- Shahraki GhH, Asmar M. Study on distribution of Arasid-ticks and their infection to *Borrelia Persica* in indoor resting places of Hamadan. 1997; 4: 12-16.

Study of Phenotypic Variability and *Borrelia* Infectivity in Different Populations of *Ornithodoros Tholozani* in Zanzan Province

Mohammadi M¹, Ghavami MB¹, Mohammadi J¹

¹Dept. of Entomology, Faculty of Medicine, Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran.

Corresponding Author: Ghavami MB, Dep of Entomology and Faculty of Medicines Zanzan University of Medical Sciences, Zanzan, Iran

Email: ghavami@zums.ac.ir

Received: 11 Dec 2012 **Accepted:** 2 Jun 2013

Background and Objective: The soft tick, *Ornithodoros tholozani*, is of major medical importance due to biting humans and taking blood-meal. Despite the medical importance of this tick, no in-depth studies have been carried out to distinguish different forms and their capability in transmitting the disease. To this end, this study was carried out to identify phenotypic diversity, and contamination of the different strains of this tick to *Borrelia persica* in Zanzan province.

Materials and Methods: In this descriptive study, microscopic examination was carried out with 0.1 micrometer precision, and 20 quantitative morphometric indexes were measured alongside the assessment of qualitative factors. The contamination to *Borrelia* was investigated through feeding on three-day-old neonate mice, and injection of squashed suspension into the peritoneum of the mice.

Results: laboratory investigation revealed that the contamination by *Borrelia* in tick samples was 0.004-0.008. Morphologic traits examination revealed that body size of the ticks from Khodabandeh and Mahneshan cities was 6.81×3.93 mm. The two strains of Khodabandeh and Mahneshan had different capitulum widths, and genital opening sizes. Males of *Ornithodoros tholozani* were smaller than females reaching a size of 4.6×2.6 mm. Apart from the length and width of capitulum which were higher in Mahneshan samples than in Khodabandeh, the other indexes were not significantly different. The nymphs in the two strains differed in the body size, the length and width of capitulum, the lengths of the second and fourth segments of the palp; however, they were identical in other indexes.

Conclusion: Regarding the morphologic distinction between samples in the study sites and their contamination by *Borrelia*; and lack of comprehensive knowledge in analyzing the data, it seems necessary to conduct extensive research in order to review description of the species, express taxonomic position of different strains and provide molecular identification protocol in order to prioritize the application sites, and monitor the administration plans to precisely determine the infection rate of the ticks to *Borrelia* in diverse geographical regions.

Keywords: *Ornithodoros tholozani*, Zanzan province, *Borrelia persica*, Morphometric indexes