

## شواهد مولکولی اریشیوز به عنوان یک بیماری نوپدید مشترک در شهر کرمان

بهارک اختر دانش<sup>۱</sup>، محمد خلیلی<sup>۲</sup>، رضا قنبر پور<sup>۳</sup>، شهرزاد متقی پیشه<sup>۴</sup>، بهناز افلاطونیان<sup>۱</sup>، محمدرضا افلاطونیان<sup>۸\*</sup>

### خلاصه

مقدمه: اریشیوز بیماری مشترک نوپدید کته‌زادی است که توسط باکتری‌های داخل سلولی اجباری کوکوئیدی گرم منفی از خانواده آناپلاسماسه ایجاد می‌شود. از آنجایی که تنها مستندات موجود در زمینه بیماری اریشیوز مونوسیتیک در ایران مربوط به آلودگی سگ‌ها است، این مطالعه به منظور تأیید حضور بیماری در سگ‌های آلوده به کنه شهر کرمان به روش مولکولی انجام گرفت.

روش: در این مطالعه از ۱۰۰ قلاده سگ آلوده به کنه که در خارج از محیط منزل نگهداری می‌شدند، بدون توجه به نژاد و وضعیت بالینی خونگیری انجام شد. از هر حیوان آزمایش کامل خون طبق روش‌های متداول آزمایشگاهی به عمل آمد. در مرحله بعدی، جداسازی DNA و انجام PCR با کیت تجاری صورت پذیرفت. یافته‌ها: بر اساس نتایج آزمون PCR، ۶ نمونه از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه (۶٪) از نظر ابتلا به گونه‌های اریشیا مثبت بودند.

نتیجه‌گیری: نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اریشیوز به عنوان یک بیماری مشترک نوپدید در ایران وجود دارد و سگ‌ها میزبان مناسبی برای گونه‌های اریشیا محسوب می‌شوند. بر این اساس، انجام بررسی‌های اپیدمیولوژیک جهت تعیین پراکندگی جغرافیایی، گونه‌های مسبب، مخازن و ناقلین بیماری اریشیوز ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: اریشیوز، سگ، آزمایش زنجیره‌ای پلی‌مراز، بیماری مشترک نوپدید

۱- دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۲- دانشیار کمیته تحقیقات زئونوزها، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۳- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید باهنر کرمان ۴- دانشیار مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۵- پژوهشگر مرکز تحقیقات مدل‌سازی در سلامت، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۶- پژوهشگر کمیته تحقیقات زئونوزها، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۷- مربی، مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی گرمسیری، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ۸- مربی، کمیته تحقیقات زئونوز، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

\* نویسنده مسؤول، آدرس پست الکترونیک: mraflatoonian@gmail.com

دریافت مقاله: ۱۳۹۰/۱۰/۱۰ دریافت مقاله اصلاح شده: ۱۳۹۱/۲/۲۷ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۳/۳

## مقدمه

بیماری اریلیشیوز به عنوان یک بیماری مشترک نوپدید در دنیا مطرح شده است. قبل از سال ۱۹۸۶ تنها گونه شناخته شده اریلیشیا که برای انسان عفونت زا بود، اریلیشیا (نتوریکتوزیا) سنتسو بود، عاملی که ابتدا در ژاپن شناخته شد. سپس دو عامل مسبب بیماری در انسان، در ایالات متحده گزارش شدند (۱،۲). در ابتدا اریلیشیا شافنسیس کشف شد که عامل اریلیشیوز منوسیتیک انسانی و مسبب یک بیماری شبه آنفولانزایی پر تلفات بود (۳،۴). مطالعات نشان داده است که سگ‌ها می‌توانند به این گونه اریلیشیا مبتلا شده و بدون بروز علائم پیشرفته بالینی نقش مخزن اریلیشیا شافنسیس را در مناطق اندمیک جغرافیایی ایفا کنند (۵،۶).

در اروپا عامل بیماری اریلیشیوز گرانولوسیتیک، اریلیشیا فاکوسیتوفیلیا است که امروزه این عامل نیز در دسته آناپلازماها دسته‌بندی می‌شود. سگ‌ها، گربه‌ها و همچنین سایر حیوانات خانگی به صورت تجربی و یا به صورت طبیعی می‌توانند با اریلیشیا اکویی و یا اریلیشیا فاکوسیتوفیلیا آلوده شوند، زیرا گونه‌های مولد اریلیشیوز گرانولوسیتیک شباهت‌های پادگنی داشته و قادرند گروه بزرگی از پستانداران را مبتلا کنند (۷-۹).

در کشور ایران تاکنون تحقیقات جامع و مدونی در زمینه بیماری اریلیشیوز در جمعیت انسانی و دامی صورت نگرفته است، اما شواهد سرولوژیک آلودگی به اریلیشیوز

مونوسیتیک سگ سانان (اریلیشیا کانیس)، در سگ‌های خانگی شهر کرمان گزارش گردیده است. گزارشات نیز مبنی بر همه‌گیری این بیماری در جمعیت انسانی استان مازندران وجود دارد (۱۰،۱۱). با توجه به انجام مطالعات سرولوژیک اولیه در سگ‌های خانگی شهر کرمان، این تحقیق به منظور تأیید آلودگی اریلیشیایی در جمعیت سگ‌های آلوده به کنه، که بیش‌ترین خطر آلودگی به اریلیشیوز را دارا هستند، با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (Polymerase Chain Reaction: PCR) انجام گردید.

## تاریخچه و سبب‌شناسی بیماری اریلیشیوز

امروزه عوامل ریکتزیایی متنوعی به صورت نوپدید و بازپدید در سرتاسر دنیا باعث ابتلای انسان می‌شوند که متأسفانه در طب بالینی در بسیاری از موارد با بیماری‌های ویروسی و باکتریایی اشتباه گرفته می‌شوند (۱۲). اریلیشیوز از گروه بیماری‌هایی است که توسط باکتری‌های داخل سلولی اجباری کوکوئیدی شکل و گرم منفی از گونه‌های اریلیشیا از خانواده آناپلازماسه ایجاد می‌شود. جدول ۱، گونه‌های شناخته شده زئونوتیک اریلیشیا که سبب ایجاد بیماری در انسان و حیوانات در نقاط مختلف دنیا می‌شوند را نشان می‌دهد. این گونه‌ها بر اساس سلول‌هایی که به آن‌ها تمایل داشته و در آن میکروکلونی (مورولا) تشکیل می‌دهند به گروه‌های مونوسیتیک، گرانولوسیتیک و ترومبوسیتیک تقسیم‌بندی می‌شوند (۱۳).

جدول ۱. انواع شناخته شده اریلیشیوز زئونوتیک و انتشار جغرافیایی آن (۱۶،۳۰) (Ismaiel 2010, Dumler 2001)

نوع	گونه	کنه ناقل	سلول هدف	میزبان عفونت	انتشار جغرافیایی
مونوسیتیک	اریلیشیا کانیس	ریبی سفالوس سنگوئینوس	لنفوسیت، مونوسیت	سگ، انسان	جهانی
گرانولوسیتیک	اریلیشیا شافنسیس	آمبلیوما آمریکانوم، درماستور واریبلیس	نوتروفیل، لنفوسیت، مونوسیت	آهوی دم سفید، سگ، انسان	آمریکا
مونوسیتیک	اریلیشیا رومیناتوم	گونه‌های آمبلیوما	سلول‌های اندوتلیال ماکروفاژ، نوتروفیل	گاو، گوسفند، بز، انسان	آمریکا
گرانولوسیتیک	اریلیشیا اوینجی	آمبلیوما آمریکانوم، اتویوس مگینی	نوتروفیل، ائوزینوفیل	آهوی دم سفید، سگ، بز، انسان	آفریقا، جزایر کارایب

(۱۷). همه گیری انسانی ارلیشیوز مونوسیتیک ناشی از ارلیشیا کانیس (پاتوژن غالب سگ‌سانان)، در آمریکای جنوبی گزارش گردیده است (۱۸).

در جمعیت دامی ارلیشیا رومیناتوم که توسط کنه آمبلیوما منتقل می‌شود و عامل آبکی شدن قلب است، ۹۰ درصد تلفات در جمعیت نشخوارکنندگان کوچک را ایجاد می‌کند (۱۹). ارلیشیا کانیس نیز می‌تواند بیماری بالقوه کشنده‌ای در سگ ایجاد نماید که با ورود حیوان بیمار به مرحله مزمن بیماری به‌علت هیپوپلازی مغز استخوان، پیشگویی بیماری بسیار ضعیف بوده و عمدتاً سگ‌های مبتلا در اثر اختلالات انعقادی ناشی از عارضه ترومبوسیتوپنی تلف می‌شوند (۲۰).

#### تشخیص

روش‌های سرولوژی از بهترین روش‌های غربالگری تشخیصی هستند اما بروز واکنش‌های متقاطع با سایر اعضای خانواده آناپلاسماسه و تهیه نمونه‌های زوج سرمی جهت تعیین تغییرات عیار پادتنی، از مشکلات این روش تشخیصی است (۲۱، ۲۲). با استفاده از گسترش خون محیطی در ۲۷-۷۵ درصد موارد ارلیشیوز گرانولوسیتیک، می‌توان مورولای باکتری را در عرض ۲ تا ۳ هفته اول آلودگی مشاهده کرد، هر چند احتمال مشاهده مورولا در ارلیشیوز مونوسیتیک انسانی در حدود ۳ درصد است (۲۳). در حال حاضر طراحی پرایمرهای اختصاصی کمک شایانی به پیشرفت روش‌های تشخیص مولکولی مانند آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی مرز کرده است که با ویژگی قابل توجه خود بروز موارد مثبت کاذب را کاهش می‌دهد و سرعت تشخیص را بالا می‌برد (۲۴).

#### تشخیص افتراقی

تب لکه‌ای کوه‌های راک، تولاومی، تب کیو، تب راجعه، تیفوئید، هپاتیت، آنفلوآنزا و ترمبوسیتوپنی با واسطه

اولین مورد ارلیشیوز مونوسیتیک انسانی در سال ۱۹۸۶ و اولین مورد ارلیشیوز گرانولوسیتیک در سال ۱۹۹۹ در انسان گزارش شده‌اند. امروزه با پیشرفت روش‌های تشخیصی موارد گزارش شده این بیماری در حال افزایش است (۱۴).

#### مخازن و راه انتقال بیماری

بندپایان و حیوانات اهلی میزبان‌های شناخته شده‌ای برای بسیاری از گونه‌ها هستند، اما اطلاعات اپیدمیولوژی نشان داده است که حیوانات وحشی و اهلی دیگر نیز به صورت بالقوه جزء میزبان‌های مخزن هستند (جدول ۱). تماس با سگ‌های آلوده و کنه‌های بدن آن‌ها یکی از مخازن پر خطر برای بروز آلودگی در انسان در سرتا سر دنیا است زیرا سگ‌ها تنها حیوانات خانگی هستند که امکان آلودگی به گونه‌های مختلف ارلیشیا و تماس نزدیک با انسان را دارا هستند. کنه‌های خانواده ایکسودیده به‌صورت افقی عامل بیماری را منتقل می‌کنند و حتی اتصال یک کنه آلوده برای مدت چند ساعت قادر به انتقال آلودگی به میزبان مهره‌دار است (۱۵).

#### علائم بالینی و جمعیت در معرض خطر

طبق گزارش اسماعیل و همکاران در سال ۲۰۱۰، ارلیشیوز مونوسیتیک ناشی از ارلیشیا شافنسیس پر مخاطره ترین بیماری کنه زاد ۲۰ سال گذشته در ایالت متحده امریکا بوده و ارلیشیا اوبنجی (گرانولوسیتیک) نیز به صورت بسیار محدودی در مبتلایان به ایدز و دریافت کنندگان پیوندهای بافتی مشاهده شده است (۱۶). هم‌چنین طی یک دوره زمانی ۲۰ ساله، ۲۳۰۰ مورد ثبت شده ارلیشیوز مونوسیتیک در ایالت متحده آمریکا گزارش گردیده است. تخمین زده می‌شود که شیوع واقعی بیماری، ۲۰۰-۱۰۰۰ مورد به ازای هر ۱۰۰۰۰۰ نفر باشد زیرا در جمعیت آلوده گروه نسبتاً بزرگی (حدود ۰/۳۳ مبتلایان) فاقد علائم بالینی هستند و به مراکز درمانی مراجعه نمی‌کنند

به این ترتیب در بازه زمانی ذکر شده، ۱۰۰ قلاده سگ انتخاب و پس از کسب رضایت و اطلاع کامل صاحب دام از روند تحقیق، از آن‌ها خونگیری به عمل آمد. خونگیری به میزان ۵ میلی لیتر از ورید سفالیک انجام شد و نمونه خون به ظرف نمونه‌گیری حاوی محلول ۱۰ درصد از ضدانعقاد

EDTA منتقل گردید. جهت بررسی هماتولوژی ۲ میلی لیتر از نمونه خون اخذ شده جدا، سپس ۳ میلی لیتر نمونه خون باقی مانده جهت بررسی به روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز یا PCR به ظرف مخصوص انتقال داده شد. در بررسی هماتولوژی شمارش کلی و تفریقی لکوسیت‌ها، شمارش کلی گلبول‌های قرمز، اندازه‌گیری هماتوکریت و شمارش پلاکت‌ها طبق روش‌های متداول آزمایشگاهی صورت گرفت. نمونه‌های مورد نظر جهت آزمایش PCR تا زمان جداسازی DNA در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند. برای جداسازی DNA از کیت تجاری تهیه شده از شرکت VetTeK کره جنوبی (Viral Gene-spin Viral DNA/RNA Extraction Kit) استفاده گردید. در نهایت DNA استخراج شده، با روش PCR و با استفاده از کیت تجاری (VetTeK™ EHR Detection Kit) جهت تعیین حضور قطعه ۳۳۶ bp که اختصاصی جنس ارلیشیا می‌باشد، مورد بررسی قرار گرفت.

### نتایج

نتایج آزمون PCR نشان داد که از ۱۰۰ نمونه مورد مطالعه، ۶ نمونه مبتلا به ارلیشوز بودند (تصویر ۱). نتیجه آزمایش PCR اختلاف معناداری را از لحاظ سن و جنس در سگ‌های مورد بررسی نشان نداد (جدول ۲). هیچ‌یک از سگ‌های مبتلا به ارلیشوز علامت بالینی مشخصی نداشتند. در میان ۶ قلاده سگ آلوده، دو قلاده مبتلا به آنمی، دو قلاده مبتلا به ترومبوسیتوپنی و دو قلاده سگ یافته‌های لکوپنی و آنمی را به صورت همزمان نشان می‌دادند. هر چند ارتباط معناداری بین سن، جنس، یافته‌های بالینی و

ایمنی از جمله بیماری‌هایی هستند که به علت تشابه علایم بالینی با ارلیشوز در تشخیص این بیماری ایجاد مشکل می‌کنند (۲۵).

### درمان

انواع مونوسیتیک و گرانولوسیتیک ارلیشیا پاسخ مناسبی به درمان با تتراسایکلین و داکسی‌سیلین نشان می‌دهند. به‌ویژه درمان با داکسی‌سیلین، مناسب‌ترین گزینه درمانی در کودکان است (۲۶). از سوی دیگر ریفامپین داروی پیشنهادی در خانم‌های باردار و افرادی است که منع مصرف تتراسایکلین دارند (۲۷).

### پیش‌گیری

مبارزه با کنه‌ها در جمعیت دامی با استفاده از داروهای مؤثر بر انگل‌های خارجی از اهمیت قابل توجهی برخوردار است. به‌ویژه در مورد کنه‌های موجود در بدن سگ‌های خانگی که ارتباط نزدیکی با انسان دارند. مطالعات نشان داده است که زمانی بین ۲۴-۴ ساعت برای انتقال عوامل آناپلاسمایی یا ارلیشیایی از کنه آلوده به انسان لازم است و برداشت سریع کنه، شانس انتقال عوامل بیماری‌زا را به حداقل می‌رساند (۲۸، ۲۹).

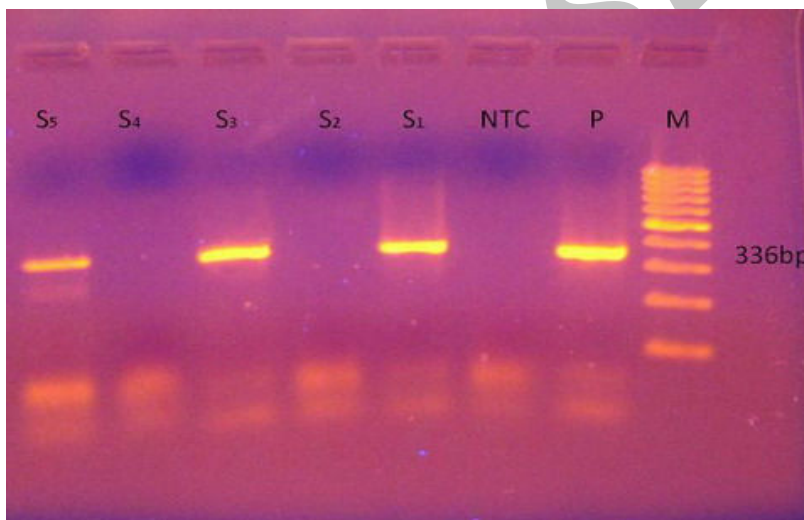
### روش بررسی

جمعیت مورد بررسی در این مطالعه از بین مراجعات روزمره بیمارستان تخصصی دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان و محل‌های نگهداری سگ در سطح شهر کرمان انتخاب شدند. این مطالعه در زمان اوج آلودگی به کنه (فروردین - شهریور) سال ۱۳۸۹ و بدون توجه به نژاد و وضعیت بالینی حیوانات انجام گردید. تنها شرط شرکت در مطالعه، آلودگی پوشش خارجی به کنه در حین بررسی بالینی بود.

آزمایشگاهی و بروز بیماری وجود نداشت اما به نظر می‌رسد، برای تعیین ارتباط بیماری با فاکتورهای یاد شده به جمعیت بزرگ‌تری نیاز می‌باشد.

جدول ۲. توزیع فراوانی آلودگی ارلیشیایی در سگ‌های مورد بررسی بر حسب جنس و سن

P value	درصد	PCR+	درصد	فراوانی	
	۴	۱	۲۵	۲۵	<۱
۰/۶۲۷	۶/۱	۲	۳۳	۳۳	۱-۳
	۷/۱	۳	۴۲	۴۲	>۳
۰/۶۸۲	۵/۲	۳	۵۸	۵۸	نر
	۷/۲	۳	۴۲	۴۲	ماده



تصویر ۱. ژل آگاروز حاوی تعدادی از نمونه‌های آلوده به جنس ارلیشیا

مارکر ۱۰۰bp (M)، P نمونه کنترل مثبت، NTC: نمونه کنترل منفی، S1, S3, S5: تعدادی از نمونه‌های مثبت حاوی قطعه ۳۳۶ bp، S2, S4: تعدادی از نمونه‌های منفی

### بحث و نتیجه‌گیری

بنابراین تماس نزدیک صاحبان سگ‌های آلوده، امکان تماس با این کنه‌ها و بروز آلودگی در آنها را فراهم می‌سازد (۳۱).

در کشور ایران، برای اولین بار به روش‌های ایمونوفلورسانس مستقیم و ایمونوکروماتوگرافی شیوع متوسط سرولوژیک ارلیشیوز مونوسیتیک (ارلیشیا کانیس)، در شهر کرمان توسط اختر دانش و همکاران به میزان ۱۴/۶

تماس با سگ‌های آلوده و کنه‌های بدن آنها یکی از منابع پرخطر آلودگی، خصوصاً به گونه‌های مونوسیتیک ارلیشیا در انسان در سرتاسر دنیا است. از سوی دیگر کنه‌های موجود در بدن سگ‌ها ممکن است بخشی از زندگی خود را بر بدن سایر منابع دامی بگذرانند و باعث ایجاد آلودگی هم‌زمان به چندین گونه ارلیشیایی شوند.

طبق گزارش اسماعیل و همکاران در سال ۲۰۱۰، اریلیشیوز مونوسیتیک ناشی از اریلیشیا شافنسیس پر مخاطره‌ترین بیماری کهنه زاد ۲۰ سال گذشته در ایالت متحده امریکا بوده است. بیماران مبتلا علایمی چون تب، سردرد، دردهای عضلانی و مفصلی، لکوپنی و ترومبوسیتوپنی همراه با افزایش سطح آنزیم‌های کبدی را نشان داده بودند. در مجموع ۴۲ درصد مبتلایان احتیاج به بستری شدن داشته و مرگ‌ومیر بیماری حدود ۳ درصد بوده که عمدتاً در افراد مبتلا به نقص ایمنی رخ داده بود. هم‌چنین "آناپلازما فاگوسیتوفیلا" نیز در بروز اریلیشیوز گرانولوسیتیک در بخش‌های قابل توجهی از آمریکا مؤثر بوده است، ولی علایم بالینی آن به‌طور قابل توجهی خفیف‌تر بوده که در هر دو گروه مبتلایان، داکسی‌سیکلین و ریفامپین بهترین داروهای کاربردی بوده‌اند (۱۶).

در کشور ونزوئلا نیز آلودگی جمعیت انسانی به اریلیشیا کانیس که پاتوژن اصلی سگ‌سانان است، گزارش گردیده است و این امر اهمیت مطالعه در این مخزن حیوانی و کنه‌های بدن این حیوانات را نشان می‌دهد (۱۸).

در برخی ایالات کشور آمریکا نیز، اریلیشیا اوینجی به میزان بسیار محدودی در مبتلایان به ایدز و دریافت کنندگان پیوند بافتی مشاهده شده است. سگ‌ها در انتقال این گونه نیز نقش مهمی دارند (۳۷، ۱۶).

در کشور ایران در مورد ابتلای سایر مخازن دامی به بیماری‌های ریکتزیایی مشترک، گزارشی از آلودگی گاوها به اریلیشیا (آناپلازما) فاگوسیتوفیلا (عامل اریلیشیوز گرانولوسیتیک انسانی) در شهر اصفهان ارائه شده است (۳۸). هم‌چنین مطالعه دیگری آلودگی کنه‌های ایکسودس نواحی شمالی کشور را به اریلیشیا فاگوسیتوفیلا که به روش مولکولی بررسی شده بود گزارش نموده است. این امر لزوم تحقیقات اپیدمیولوژیک گسترده در زمینه بیماری‌های ریکتزیایی چون اریلیشیوز را در مخازن دامی نشان می‌دهد (۳۹).

درصد گزارش گردید (۱۰). از آنجایی که هر دو روش به کار رفته در این تحقیق، مختص تشخیص اریلیشیا کانیس بود، امکان تعیین وضعیت آلودگی به سایر گونه‌های اریلیشیایی در این تحقیق فراهم نگردیده است. از سوی دیگر، روش‌های سرولوژی به کار رفته در تحقیق مذکور فاقد قدرت تمایز واکنش متقاطع با سایر اعضای خانواده آناپلازما بوده است، اما این مطالعه نشان داده که کشور ایران مانند بسیاری از کشورهای خاورمیانه‌ای از لحاظ اپیدمیولوژی این بیماری اندمیک است (۳۴-۳۲).

هر چند هیچ یک از سگ‌های مبتلا در تحقیق اختردانش و همکاران، علایم بالینی واضحی نداشتند اما یافته‌های هماتولوژیک و تغییرات بیوشیمیایی خون سگ‌های مبتلا، طی درمان با داروهای ریفامپین و داکسی‌سیکلین نشان‌دهنده اثرات مثبت داروهای مذکور به درمان آلودگی با اریلیشیا کانیس بود که در یک کارآزمایی بالینی تأیید گردیده است (۳۵). با توجه به شواهد سرولوژیکی حاصل از مطالعات قبلی بیماری و تأیید حضور این بیماری در تحقیق حاضر به روش مولکولی، به نظر می‌رسد که در حال حاضر بیماری اریلیشیوز در جمعیت سگ‌های ایران وجود دارد.

در جمعیت انسانی، بروز همه‌گیری‌های اریلیشیایی در طی سال‌های ۱۳۸۲-۱۳۷۹ در استان مازندران گزارش شده که با بروز لکوپنی، ترومبوسیتوپنی، تب پایدار طولانی مدت و افزایش ترانس آمینازهای کبدی در مبتلایان همراه بوده است. در مطالعه مذکور اکثر بیماران از نواحی روستایی بودند، سابقه تماس با جمعیت حیوانات خانگی آلوده به کنه داشته و هم‌چنین پاسخ درمانی مناسبی به دریافت داکسی‌سیکلین نشان داده بودند. در بررسی مولکولی انجام شده بر روی نمونه خون ارسالی چند بیمار به گروه پارازیتولوژی دانشگاه شهید بهشتی تهران آلودگی به جنس اریلیشیا در مبتلایان گزارش گردید (۳۶، ۱۱).

احتمالی گسترده حیوانات میزبان بایستی دستگاه‌های مسؤول دامپزشکی و زیر مجموعه‌های وزارت بهداشت تعامل گسترده و نزدیکی را جهت شناسایی مخازن و پیشگیری و کنترل بیماری با همدیگر داشته باشند. ایجاد کمیته‌های تحقیقاتی تخصصی در زمینه بیماری‌های مشترک، امکان ارتباط هر چه مؤثرتر این بخش‌ها را فراهم می‌کند.

### سپاسگزاری

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند که از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید باهنر کرمان و کمیته زئونوزها که اعتبار ویژه پژوهشی و مرکز تحقیقات بیماری‌های عفونی و گرمسیری دانشگاه علوم پزشکی کرمان که امکانات آزمایشگاهی لازم برای این تحقیق را فراهم نموده‌اند، صمیمانه تشکر نمایند.

با توجه به گزارش حضور بیماری در جمعیت انسانی در استان مازندران، محتمل است که ارلیشیوز در بسیاری از دیگر مناطق جغرافیایی ایران نیز موجود باشد که به دلیل مطالعات محدود، هنوز مورد توجه قرار نگرفته است یا با بیماری‌های تب‌دار دیگر مثل تب مالت، تیفوئید و... اشتباه می‌شود. از سوی دیگر به نظر می‌رسد در جمعیت دامی نیز این بیماری با سایر بیماری‌های منتقله از کنه مانند آناپلاسموز، بابزیوز و... اشتباه گرفته شده و مورد تشخیص قرار نمی‌گیرد. جهت تعیین سیمای اپیدمیولوژی بیماری ارلیشیوز به عنوان یک بیماری نوپدید مشترک، ابتدا لازم است مطالعات سرولوژیک غربالگر در جمعیت انسانی و دامی در سراسر ایران انجام شده تا پراکندگی بیماری مشخص گردد و در نهایت از روش‌های مولکولی برای تعیین جنس و گونه مسبب آلودگی استفاده شود. از سوی دیگر به خاطر "زئونوتیک" بودن بیماری و آلودگی

## References

1. Greig B, Asanovich SM, Armotrong P. Geographic, clinical, serologic and molecular evidence of granulocytic Minnesota and Wisconsin dogs. *J Clin Microbiol* 1996; 34 (1): 44-48.
2. Labruna MB, McBride JW, Camargo LM, Aguiar DM, Yabsley MJ, Davidson WR, et al. A preliminary investigation of Ehrlichia species in ticks, humans, dogs, and capybaras from Brazil. *Vet Parasitol* 2007; 143(2): 189-95.
3. Dawson JE, Biggie KL, Warner CK, Cookson K, Jenkins S, Levine JF, et al. Polymerase chain reaction evidence of Ehrlichia chaffeensis, an etiologic agent of human ehrlichiosis, in dogs from southeast Virginia. *Am J Vet Res* 1996; 57(8):1175-79.
4. Ndip LM, Ndip RN, Ndivi VE, Awuh JA, Walker DH, McBride JW. Ehrlichia species in Rhipicephalus sanguineus ticks in Cameroon. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2007; 7(2): 221-7.
5. Yu DH, Li YH, Yoon JS, Lee JH, Lee MJ, Yu IJ, et al. Ehrlichia chaffeensis infection in dogs in South Korea. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2008; 8(3): 355-8.
6. Zhang XF, Zhang JZ, Long SW, Ruble RP, Yu XJ. Experimental Ehrlichia chaffeensis infection in beagles. *J Med Microbiol* 2003; 52(pt 11): 1021-6.
7. Lillini E, Macri G, Proietti G, Scarpulla M. New findings on anaplasmosis caused by infection with Anaplasma phagocytophilum. *Ann NY Acad Sci* 2006; 1081: 360-70.
8. Keysary A, Massung RF, Inbar M, Wallach AD, Shanas U, Mumcuoglu KY et al. Waner T. Molecular evidence for Anaplasma phagocytophilum in Israel. *Emerg Infect Dis* 2007; 13(9): 1411-12.
9. Kybicev K, Schanilec P, Hulinska D, Uherkova L, Kurzova Z, Spejchalova S. Detection of Anaplasma phagocytophilum and Borrelia burgdorferi sensu lato in dogs in the Czech Republic. *Vector Borne Zoonotic Dis* 2009; 9(6): 655-61.
10. Akhtardanesh B, Ghanbarpour R, Blourizadeh H. Serological evidence of canine monocytic ehrlichiosis in Iran. *Comp Clin Pathol* 2010; 19(5): 469-74.
11. Babamahmoodi F. First outbreak of human ehrlichiosis in Mazandaran Province. *12th Iranian Congress of Tropical Infectious Disease* 2004; Tehran, Iran.
12. Kalinova Z, Cislakova L, Halanova M. Ehrlichiosis/Anaplasmosis. *Klin Mikrobiol In fekc Lek* 2009; 15(6): 210-13.
13. Amiel C, Abadia G, Choudat D. Human granulocytic ehrlichiosis in Europe. *Med Mal Infect* 2004; 34(3): 111-22.
14. Doudier B, Olano J, Parola P, Brouqui P. Factors contributing to emergence of Ehrlichia and Anaplasma spp. as human pathogens. *Vet Parasitol* 2010; 167(2-4): 149-54.
15. Levin ML and Troughton DR. Duration of tick attachment necessary for transmission of Anaplasma Phagocytophilum to a susceptible vertebrate host. In: Proceedings of the 55th Annual meeting of the American Society of Tropical Medicine and Hygiene, ASTMH Deerfield 2006: 106.
16. Ismail N, Bloch K, McBride JW. Human Ehrlichiosis and Anaplasmosis, *Clin Lab Med* 2010; 30(1): 261-92.



17. Olano JP, Hogrefe W, Seaton B, Walker DH. Clinical manifestations, epidemiology, and laboratory diagnosis of human monocytotropic ehrlichiosis in a commercial laboratory setting. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10(5): 891-6.
18. Perez M, Bodor M, Zhang CH, Xiong I Q, Rikihisay Y. Human Infection with *Ehrlichia canis* accompanied by clinical signs in venezuela, *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1078: 110-7.
19. Martinez, D, Vachiéry N, Jongejan F. Heartwater. Manual of Diagnostic Tests and Vaccines for Terrestrial Animals. World Organisation for Animal Health (OIE), Paris, France, 2008; 217-30.
20. Rikihisa Y, Ewing SA, Fox JC. Western immunoblot analysis of *Ehrlichia chaffeensis*, *E. canis*, or *E. ewingii* infections in dogs and humans. *J Clin Microbiol* 1994; 32(9): 2107-12.
21. Chapman AS, Bakken JS, Folk SM, Paddock CD, Bloch KC, Krusell A, et al. Diagnosis and management of tick borne rickettsial diseases: rocky mountain spotted fever, ehrlichioses, and anaplasmosis in United States: a practical guide for physicians and other health-care and public health professionals. *MMWR Recomm Rep* 2006; 55(4): 1-27.
22. Walker DH. Diagnosing human ehrlichioses: Current status and recommendations. *ASM News* 2000; 66: 287-91.
23. Standaert SM, Yu T, Scott MA, Childs JE, Paddock CD, Nicholson WL, et al. Primary isolation of *Ehrlichia chaffeensis* from patients with febrile illnesses: clinical and molecular characteristics. *J Infect Dis* 2000; 181(3): 1082-8.
24. Tan HP, Dumler JS, Maley WR, Klein AS, Burdick JF, Fred Poordad F, et al. Human monocytic ehrlichiosis: an emerging pathogen in transplantation. *Transplantation* 2001; 71(11): 1678-80.
25. Prince LK, Shah AA, Martinez LJ, Moran KA. Ehrlichiosis: making the diagnosis in the acute setting. *South Med J* 2007; 100(8): 825-8.
26. Dumler JS, Madigan JE, Pusterla N, Bakken JS. Ehrlichioses in humans: epidemiology, clinical presentation, diagnosis, and treatment. *Clin Infect Dis* 2007; 45(1): 45-51.
27. Buitrago MI, Ijdo JW, Rinaudo P, Simon H, Copel J, Gadbow J, et al. Human granulocytic ehrlichiosis during pregnancy treated successfully with rifampin. *Clin Infect Dis* 1998; 27(1): 213-16.
28. Katavolos P, Armstrong PM, Dawson JE, Telford SR. Duration of tick attachment required for transmission of granulocytic ehrlichiosis. *J Infect Dis* 1998; 177(5): 1422-5.
29. Needham GR. Evaluation of five popular methods of tick removal. *Pediatrics* 1985; 75:997-1002.
30. Dumler JS, Barbet AF, Bekker CP, Dasch GA, Palmer GH, Ray SC, et al. Reorganization of genera in the families *Rickettsiaceae* and *Anaplasmataceae* in the order Rickettsiales: Unification of some species of *Ehrlichia* with *Anaplasma*, *Cowdria* with *Ehrlichia* and *Ehrlichia* with *Neorickettsia*, descriptions of six new species combinations and designation of *Ehrlichia equi* and 'HGE agent' as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51(6): 2145-65.

31. Breitschwerdt EB. Obligate intracellular bacterial pathogens. In: Ettinger SJ, Feldman E, (editors) Textbook of Veterinary Internal Medicine. 6th ed., Elsevier, Saunders, 2005: 632-35.
32. Baneth G, Waner T, Koplak A, Weinstein S, Keysary A: Survey of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Israel. *Vet Rec* 1996; 138(11): 257-79.
33. Batmaz H, Nevo E, Waner T, Senturk S, Yilmaz Z, Harri S: Seroprevalence of *Ehrlichia canis* antibodies among dogs in Turkey. *Vet Rec* 2001; 148(21): 665-6.
34. Sacchini F, Cessford RJ, Robinson BM. Outbreak of canine monocytic ehrlichiosis in Saudi Arabia. *Vet Clin Pathol* 2007; 36(4): 331-5.
35. Akhtardanesh B, Ghanbarpour R, Sharifi H. Comparative study of doxycycline and rifampin therapeutic effects in subclinical phase of canine monocytic ehrlichiosis *Comp Clin Pathol* 2011; 20(5): 461-5.
36. Sabbaghian H. Emerging and re-emerging of zoonotic disease. *IJE* 2006; 1(3,4): 1-9 [Persian].
37. Murphy GL, Ewing SA, Whitworth LC, Fox JC, Kocan AA. A molecular and serologic survey of *Ehrlichia canis*, *E. chaffeensis*, and *E. ewingii* in dogs and ticks from Oklahoma. *Vet Parasitol* 1998; 79(4): 325-39.
38. Noaman V, Shayan P. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in carrier cattle of Iran - first documented report. *IJM* 2009; 1(2): 37-42 [Persian].
39. Bashirbod H, Kazemi K, Eslami G, Bigdeli S, Bandehpour M, Rahbarian N, et al. First molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in *Ixodes ricinus* ticks in Iran. *J Med Sci* 2004; 4(4): 282-6 [Persian].

## Molecular Evidences of Ehrlichiosis as an Emerging Zoonotic Disease in Kerman City

Akhtardanesh B., Ph.D.,<sup>1,2</sup> Khalili M., Ph.D.,<sup>3,4</sup> Ghanbarpour R., Ph.D.,<sup>3,4</sup> Motaghipisheh Sh., DVM<sup>5</sup>, Aflatoonian B., B.Sc.,<sup>6</sup> Aflatoonian M.R., M. P.H.<sup>7,8\*</sup>

1. Associate Professor of Clinical Sciences Department, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
2. Associate Professor, Zoonosis Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
3. Associate Professor of Pathobiology Department, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University, Kerman, Iran
4. Zoonosis Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
5. Researcher, Research Center for Modeling in Health, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
6. Researcher, Zoonosis Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
7. Instructor of Epidemiology, Tropical and Infectious Diseases Research Center, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran
8. Instructor, Zoonosis Research Committee, Kerman University of Medical Sciences, Kerman, Iran

\* Corresponding author; e-mail: mraflatoonian@gmail.com

(Received: 30 Dec. 2011 Accepted: 23 May 2012)

### Abstract

**Background and Aims:** Ehrlichiosis is an emerging tick-borne zoonotic disease caused by the gram-negative coccid obligate intracellular bacteria of the family *Anaplasmataceae*. Since the only available evidence in regard to monocytic Ehrlichiosis in Iran is related to dogs, the present study was designed to use the polymerase chain reaction assay for confirming the presence of *Ehrlichia spp.* in tick infested client-owned dogs in Kerman.

**Methods:** Blood samples were prepared randomly from 100 owned tick infested dogs regardless of clinical status. Complete blood count was done for each sample and in the next step, DNA extraction was done and PCR was carried out by a commercial kit.

**Results:** Six of 100 (6%) examined dogs were positive for *Ehrlichia spp.* based on PCR.

**Conclusion:** Results of the present study confirmed the presence of Ehrlichiosis as an emerging zoonotic disease in Iran and dogs could be considered as a main reservoir for the disease. It is recommended to determine the prevalence of Ehrlichiosis and the most prevalent *Ehrlichia* species in animal reservoirs, vectors, and human population in different geographical regions of Iran in further epidemiological studies.

**Keywords:** Ehrlichiosis, Dogs, Polymerase chain Reaction, Tick-borne diseases

Journal of Kerman University of Medical Sciences, 2012; 19(5): 422-432