دوره پانزدهم ـ شماره ۳ ـ پاییز ۱۳۹۸
Archive of SID
DOI: 10.22055/ivj.2018.118675.2017

بررسی فراوانی انگل‌های خونی در گوسفندان حومه‌ی دزفول در جنوب غربی ایران

پریسا محمودوند[۱]، مسعود ورشوساز[۱]، حسن نایب‌زاده[۲]، علیرضا راکی[۳*] و مهدی پورمهدی‌بروجنی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۶/۱۱/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۷/۵/۱

چکیده

انگل‌های خونی از جمله *تیلریا*، *بابزیا* و *آناپلاسما* سالانه خسارت اقتصادی زیادی به صنعت پرورش گوسفند در سطح دنیا وارد می‌آورند. شهر دزفول که در جنوب غربی ایران واقع شده دارای آب و هوای گرم و مرطوب است و انتظار می‌رود آلودگی‌های انگلی از جمله انگل‌های خونی از شیوع بالایی در دام‌های این شهر برخوردار باشد. هدف از پژوهش حاضر بررسی فراوانی انگل‌های خونی در گوسفندان حومه‌ی دزفول به روش میکروسکوپی و PCR است. بدین منظور در شهریور ماه تابستان ۱۳۹۵ از ۲۰۰ رأس گوسفند از چهار منطقه‌ی شرق، غرب، شمال و جنوب دزفول به صورت تصادفی نمونه‌ی خون اخذ، گستره‌ی خونی تهیه و پس از رنگ‌آمیزی از نظر آلودگی به انگل‌های خونی بررسی گردید. جهت آزمایش PCR از بین نمونه‌های خون اخذ شده، ۱۱۲ نمونه به طور تصادفی انتخاب و به آزمایشگاه ارسال شد. در بررسی میکروسکوپی به ترتیب ۳ رأس (۱/۵ درصد)، ۵۲ رأس (۲۶ درصد)، ۶۶ رأس (۳۳ درصد) آلوده به *بابزیا*، *تیلریا* و *آناپلاسما* بودند و آلودگی به سایر انگل‌های خونی مشاهده نشد. در بررسی مولکولی میزان آلودگی به *تیلریا* و *بابزیا* به ترتیب ۷۱/۴ درصد و صفر درصد بود. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده‌ی فراوانی بالای آلودگی به *آناپلاسما* و *تیلریا* و فراوانی اندک آلودگی به *بابزیا* در گوسفندان حومه‌ی دزفول است. با توجه به نتایج این تحقیق لازم است اقداماتی از قبیل ارتقای سطح آگاهی دامداران در خصوص بیماری‌های انگلی دامی و به طور ویژه انگل‌های خونی و زیان اقتصادی ناشی از این بیماری‌ها، سم‌پاشی اماکن دامی و حمام دادن به موقع دام‌ها علیه انگل‌های خارجی به منظور کاهش خسارت‌های اقتصادی ناشی از این بیماری‌های انگلی در سطح منطقه‌ی دزفول صورت گیرد.

کلمات کلیدی: *تیلریا*، *آناپلاسما*، *بابزیا*، گوسفند، دزفول

مقدمه

از دیرباز یکی از چالش‌های اساسی بشر تأمین نیازهای غذایی بوده است، از این رو تهیه‌ی مواد غذایی و حفظ سلامتی و امنیت آن به عنوان یکی از اهداف مهم برنامه‌های دولت‌ها قرار گرفته است. در ایران هر ساله مقادیر قابل توجهی از تولیدات دامی بنا به علل مختلفی از بین می‌رود. در این رابطه نقش بیماری‌های انگلی دامی در بروز این خسارت‌ها بسیار چشم‌گیر است. طبق گزارش FAO ، تخمین زده می‌شود که زیان اقتصادی ناشی از آلودگی‌های انگلی دام‌ها (به استثنای طیور و آبزیان) در کشورهای پیشرفته معادل ۲۰-۱۵ درصد کل تولیدات دامی، در کشورهای کم‌تر توسعه یافته ۴۰-۳۰ درصد و در کشورهایی که مبارزه‌ی جدی در این زمینه صورت نمی‌گیرد ممکن است بسیار بیش‌تر باشد (Eslami et al. 2011).

بابزیوز بیماری حاصل از تخریب گلبول‌های قرمز خون توسط تک‌یاخته‌های جنس *بابزیا* است که اهمیت اقتصادی قابل توجهی در صنعت دامپروری کشورهای جنوب اروپا، خاورمیانه و شماری از کشورهای آفریقا و

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۲] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۳*] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران E-mail: alireza.rocky@gmail.com (نویسنده‌ی مسئول)
[۴] دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

www.SID.ir

Archive of SID

آسیا دارد . *بابزیا اویس* و *بابزیا موتازی* گونه‌های بیماری‌زای این تک‌یاخته در نشخوارکنندگان کوچک هستند که به ترتیب توسط کنه‌های *ریپی سفالوس بورسا* و *همافیزالیس* انتقال می‌یابند (Schnittger et al. 2012).

تیلریوز از مهم‌ترین و خطرناک‌ترین بیماری‌های تک‌یاخته‌ای دامی در مناطق گرمسیری جهان از جمله ایران است. این بیماری خسارت‌های زیادی به صنعت پرورش گاو، گوسفند و بز وارد می‌سازد. دو گونه مهم عامل تیلریوز گوسفندی *تیلریا لستوکاردی* (هیرسی) و *تیلریا اویس* هستند . *تیلریا لستوکاردی* عامل تیلریوز بدخیم در گوسفند است و بیماری ناشی از *تیلریا اویس* اغلب به صورت تحت بالینی است (Aktas et al. 2005).

آناپلاسموز گوسفندان بیماری ناشی از یک عامل ریکتزیای درون سلولی به نام *آناپلاسما اویس* است. اگر چه ممکن است آلودگی به *آناپلاسما اویس* در گوسفندان و بزها بدون نشانه‌های بالینی باشد، در موارد حاد عفونت نشانه‌های بالینی از جمله کم‌خونی شدید، تب، کاهش وزن، رنگ پریدگی مخاطی و زردی ظاهر و در مواردی موجب مرگ حیوان مبتلا می‌شود (Splitter et al. 1956, Yasini et al. 2012).

پرورش گوسفند در ایران بخش مهمی از تولیدات دامی را در صنعت دامداری کشور به خود اختصاص داده است و شهر دزفول به عنوان یکی از شهرهای بزرگ استان خوزستان با توجه به ویژگی‌های جغرافیایی از دیرباز یکی از مراکز پرورش دام از جمله گوسفند و بز و محل استقرار زمستانه‌ی دام‌های عشایر است، از این رو هدف از پژوهش حاضر بررسی میزان فراوانی آلودگی‌های انگل‌های خونی در حومه‌ی این شهر به عنوان شاخصی از وضعیت بهداشتی دام‌ها و برآورد خسارت‌های ناشی از این بیماری‌های انگلی در دزفول است.

مواد و روش کار

در این مطالعه در شهریور ماه ۱۳۹۵ از تعداد ۲۰۰ رأس گوسفند به ظاهر سالم به طور تصادفی از دامداری‌های چهار منطقه‌ی شهرستان دزفول (از مناطق شمال، جنوب، شرق و غرب) نمونه‌گیری انجام گرفت. از هر منطقه مورد بررسی، سه گله و در مجموع تعداد ۵۰ رأس گوسفند انتخاب و مشخصات دام‌ها از قبیل سن تقریبی (زیر ۲ سال و بیش از ۲ سال) و جنس ثبت شد. از هر گوسفند با استفاده از لوله ونوجکت حاوی ضد انعقاد EDTA خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌ها به آزمایشگاه منتقل و گستره‌ی نازک خونی تهیه گردید. گستره‌های خونی با متانول فیکس و با گیمسا رنگ‌آمیزی شد و از نظر وجود انگل‌های خونی مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفت. جهت بررسی مولکولی به باقی‌مانده‌ی نمونه‌های خون با نسبت ۱:۱، اتانول خالص اضافه گردید و مخلوط شد و تا زمان آزمایش PCR در دمای محیط نگهداری شد.

از ۲۰۰ نمونه خون اخذ گردیده به طور تصادفی ۱۱۲ نمونه جهت آزمایش PCR انتخاب شد. نمونه‌ها برای استخراج DNA و آزمون PCR به آزمایشگاه مولکولی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه لرستان انتقال داده شد. استخراج DNA از نمونه‌ها با استفاده از کیت تجاری استخراج DNA از خون (MBST, Iran) انجام گرفت. برای این منظور، قسمتی (به وزن تقریبی ۵۰ میلی‌گرم) از نمونه، جدا و به میکروتیوب استریل دیگری انتقال یافت. این نمونه تا زمان تبخیر اتانول، در زیر هود قرار داده شد. پس از تبخیر اتانول و خشک شدن نمونه، طبق دستورالعمل شرکت سازنده‌ی کیت، مراحل استخراج DNA انجام شد. صحت مرحله‌ی استخراج DNA، با الکتروفورز نمونه‌های DNA استخراج شده بر روی ژل آگارز تأیید گردید. در این پژوهش، جهت شناسایی و تفکیک هم‌زمان جنس‌های *تیلریا* و *بابزیا*، از آزمون PCR معرفی شده توسط Shayan and Rahbari در سال ۲۰۰۵ استفاده گردید. در این روش با به کارگیری یک زوج پرایمر طراحی شده (جدول ۱) بر اساس قسمتی از ژن 18S rRNA مشترک بین جنس‌های *بابزیا* و *تیلریا*، بر اساس طول قطعه‌ی تکثیر شونده، تفکیک جنس‌های *تیلریا* (۴۲۶bp–۴۳۰) و *بابزیا* (۳۸۹bp–۴۰۲) از یکدیگر امکان‌پذیر می‌گردد.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱: توالی پرایمرهای به کار گرفته شده در مطالعه‌ی حاضر طراحی شده بر اساس بخشی از ژن 18s rRNA مشترک بین گونه‌های *تیلریا* و *بابزیا* (Shayan and Rahbari 2005).

Forward Primer	5′-CACAGGGAGGTAGTGACAAG-3′
Reverse Primer	5′-AAGAATTTCACCTATGACAG-3′

مخلوط واکنش PCR در این مطالعه در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر حاوی ۱۲/۵ میکرولیتر MasterMix 2X (Ampliqon®)، ۱ میکرولیتر از پرایمرهای forward و reverse و ۱ میکرولیتر از DNA استخراج شده از نمونه که با آب مقطر تهیه شده از شرکت آواژن به حجم ۲۵ میکرولیتر رسانده شد، تهیه گردید. آزمون PCR در ۳۰ چرخه و تحت شرایط دمایی زیر انجام شد (جدول ۲).

جدول ۲: برنامه حرارتی به کار گرفته شده در این مطالعه برای اجرای آزمون PCR

مرحله	دما (درجه سانتی‌گراد)	زمان	تعداد چرخه
اول دناتوره شدن اولیه	۹۵	۵ دقیقه	۱
دوم دناتوره شدن اتصال پرایمرها سنتز	 ۹۴ ۶۰ ۷۲	 ۴۵ ثانیه ۳۰ ثانیه ۴۵ ثانیه	۳۰
سوم سنتز نهایی	۷۲	۱۰ دقیقه	۱
جمع			۳۲

محصولات واکنش PCR به روش الکتروفورز با استفاده از ژل آگارز ۱/۵ درصد حاوی Safe stain و توسط نور فرابنفش آشکارسازی شد. در این مطالعه از نمونه‌ی استخراج شده از خون غیرآلوده به عنوان کنترل منفی و از نمونه‌های آلوده به *تیلریا* و *بابزیا* بر اساس مشاهده‌ی میکروسکوپی گستره‌ی رنگ‌آمیزی شده خون با رنگ گیمسا به عنوان کنترل مثبت در آزمون PCR استفاده گردید.

بررسی آماری داده‌های جمع‌آوری شده با نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۶ به صورت توصیفی و تحلیلی انجام گرفت. تحلیل داده‌ها با آزمون مربع کای و آزمون دقیق فیشر انجام شده است. در تجزیه و تحلیل داده‌ها آلفا مساوی ۰/۰۵ مبنای ارزیابی آماری در نظر گرفته شده است.

نتایج

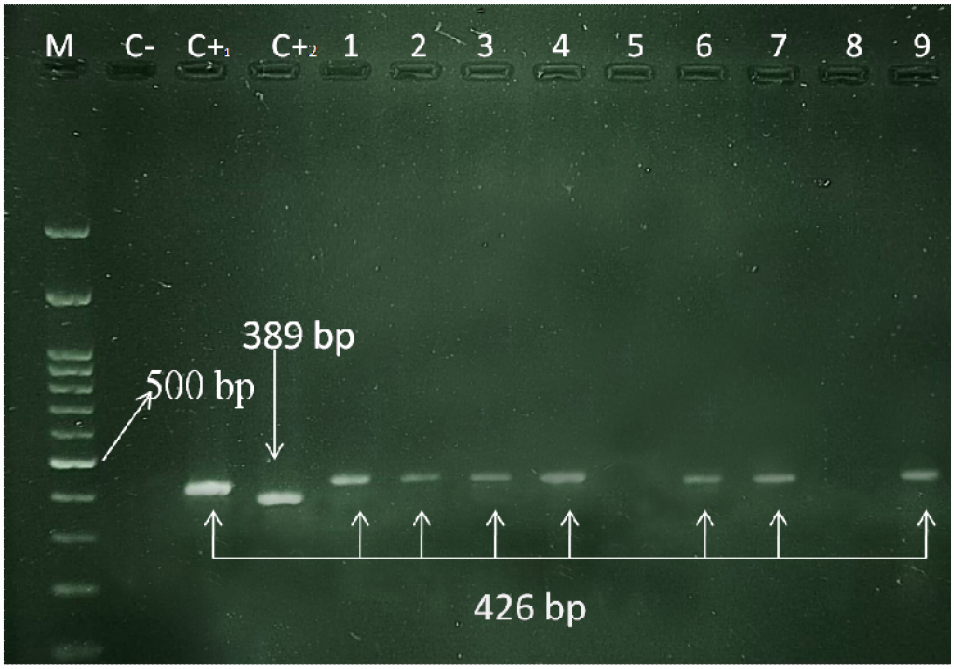
در ارزیابی میکروسکوپی ۲۰۰ نمونه خون گوسفند اخذ شده، آلودگی به *تیلریا* در ۵۲ مورد (۲۶ درصد)، *بابزیا* در ۳ مورد (۱/۵ درصد) و *آناپلاسما* در ۶۶ مورد (۳۳ درصد) تشخیص داده شد، همچنین در سه رأس (۱/۵ درصد) آلودگی هم‌زمان به *بابزیا و آناپلاسما*، در ۳۸ رأس (۱۹ درصد) آلودگی هم‌زمان به *تیلریا و آناپلاسما*، در ۱۴ رأس (۷ درصد) آلودگی به *تیلریا* به تنهایی و در ۲۵ رأس (۱۲/۵ درصد) آلودگی به *آناپلاسما* به تنهایی

www.SID.ir

Archive of SID

مشاهده شد. آلودگی به سایر انگل‌های خونی در دویست رأس گوسفند مورد مطالعه مشاهده نگردید.

در ارزیابی مولکولی ۱۱۲ نمونه خون گوسفند مورد بررسی به روش PCR، ۸۰ نمونه (۷۱/۴ درصد) آلوده به *تیلریا* شناخته شدند و در هیچ کدام از نمونه‌ها توالی مربوط به *بابزیا* یافت نشد (شکل ۱). میزان فراوانی آلودگی به *تیلریا* بر اساس واکنش PCR و فراوانی آلودگی به *آناپلاسما* بر اساس نتایج بررسی میکروسکوپی به ترتیب در جداول ۳ و ۴ آورده شده است.



شکل ۱: الکتروفورز محصولات واکنش PCR شماری از نمونه‌های خون گوسفندان حومه دزفول:
M مارکر ۱۰۰bp، C^- کنترل منفی، C_1^+ کنترل مثبت *تیلریا* با باند حدودی ۴۳۰bp-۴۲۶، C_2^+ کنترل مثبت *بابزیا* با باند حدودی ۴۰۲bp-۳۸۹ و شماره‌های ۱،۲، ۳، ۴، ۶، ۷، ۹ نمونه‌های مورد آزمایش که از نظر آلودگی به *تیلریا* مثبت و نمونه ۵ و ۸ منفی هستند.

جدول ۳: فراوانی انگل *تیلریا* بر حسب سن، جنس و منطقه در گوسفندان حومه شهرستان دزفول

شاخص		رأس دام	تیلریوز	
			مثبت	منفی
سن (سال)	<۲	۵۰	۳۴	۱۶
	>۲	۶۲	۴۶	۱۶
جنس	نر	۳۸	۳۱	۷
	ماده	۷۴	۴۹	۲۵
منطقه*	شمال	۲۷	۱۳	۱۴
	جنوب*	۲۸	۲۴	۴
	شرق*	۲۹	۲۴	۵
	غرب	۲۸	۲۱	۷

* بیان‌گر اختلاف آماری معنی‌دار مناطق جنوب و شرق نسبت به دو منطقه دیگر است (P<۰/۰۵)

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۴: فراوانی انگل *آناپلاسما* بر حسب سن، جنس و منطقه در گوسفندان حومه شهرستان دزفول

شاخص		رأس دام	آناپلاسموز	
			مثبت	منفی
سن (سال)	<۲	۸۴	۲۸	۵۶
	>۲	۱۱۶	۳۸	۷۸
جنس	نر	۵۸	۱۴	۴۴
	ماده	۱۴۲	۵۲	۹۰
منطقه	شمال	۵۰	۱۶	۳۴
	جنوب	۵۰	۲۱	۲۹
	شرق	۵۰	۱۳	۳۷
	غرب	۵۰	۱۶	۳۴

اختلاف آماری معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده نشد (P>۰/۰۵)

به منظور کسب اطمینان از صحت نتایج آزمون PCR، دو نمونه از موارد تشخیص داده شده به عنوان آلوده به *تیلریا* جهت تعیین توالی به صورت رفت و برگشتی به همراه پرایمرهای Forward و Reverse به شرکت سیناکلون ارسال گردید. نتایج تعیین توالی نمونه‌های ارسالی با توالی‌های موجود و ثبت شده در بانک ژنی تارنمای NCBI به روش BLAST مقایسه گردید. هر دو نمونه‌ی ارسالی دارای قرابت ۹۹ درصدی با *تیلریا اویس* بودند. نتیجه‌ی هم‌ترازی توالی این نمونه‌ها به شماره MG599109 در بانک ژنی ثبت شد.

بحث

این مطالعه از نوع توصیفی به روش مقطعی و نوع نمونه‌برداری به روش خوشه‌ای بود، بدین منظور تعداد ۲۰۰ رأس گوسفند به ظاهر سالم و فاقد علایم بیماری از چهار منطقه‌ی شهرستان دزفول انتخاب و نمونه‌برداری از آن‌ها انجام گرفت.

تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسموز از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی نشخوارکنندگان کوچک در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان هستند که سالانه زیان‌های اقتصادی قابل توجهی را به صنعت دامپروری در این مناطق وارد می‌نمایند (Aktas et al. 2005, Khaki et al. 2015, Razmi et al. 2013).

رایج‌ترین، سهل‌ترین و کم‌هزینه‌ترین روش تشخیص *تیلریا* و *بابزیا* مشاهده‌ی میکروسکوپی گستره‌ی خونی رنگ‌آمیزی شده با رنگ گیمسا است، اما از آن جهت که درصد پارازیتمی حتی در آلودگی‌های شدید به این تک‌یاخته‌ها ممکن است همچنان پایین باقی بماند، رخداد موارد منفی کاذب در این روش تشخیصی غیرمعمول نیست. از جهت دیگر، گونه‌های مختلف این تک‌یاخته‌ها ممکن است در مراحل تکاملی در میزبان‌های مختلف اشکال متفاوتی از خود بروز دهد و انواع مختلف گونه‌های پیروپلاسمی از نظر شکل می‌توانند مشابه هم باشند. از این رو تشخیص گونه‌های مختلف *تیلریا* و *بابزیا* و شناسایی دام‌های حامل به شیوه‌ی مشاهده‌ی میکروسکوپی گستره‌ی خونی رنگ‌آمیزی شده دقت لازم را ندارد و به کارگیری روش‌های دقیق‌تر و حساس‌تر برای این امر مورد نیاز است (Almeria et al. 2001, Aktas et al. 2005, Razmi et al. 2013).

روش‌های سرولوژی نیز که بارها در بررسی‌های همه‌گیرشناسی استفاده شده‌اند، اختصاصی نیستند و واکنش متقاطع در بین گونه‌ها مشاهده می‌شود. این آزمون‌ها نمی‌توانند در فاز اولیه‌ی عفونت و مواردی که دام میزبان

www.SID.ir

Archive of SID

حامل است یا پارازیتمی کمی دارد جواب‌گو باشند و نتایج مثبت و منفی کاذب نیز دارند (Almeria et al. 2001, Razmi et al. 2013, Shayan and Rahbari, 2005). در مقابل بر خلاف روش‌های بررسی میکروسکوپی و آزمون‌های سرولوژی، روش‌های مولکولی از جمله PCR حساسیت و ویژگی بالایی در شناسایی موارد آلودگی به تک‌یاخته‌های *بابزیا* و *تیلریا* دارند.

در این مطالعه، فراوانی آلودگی به *تیلریا* به روش میکروسکوپی ۲۶ درصد بود در حالی که در بررسی مولکولی آلودگی به این تک‌یاخته ۷۱/۴ درصد مشخص گردید که به طور قابل توجهی بیش‌تر از نتایج روش میکروسکوپی است، همچنین در بررسی میکروسکوپی سه نمونه، آلوده به *بابزیا* تشخیص داده شد در حالی که هر سه نمونه‌ی مذکور در بررسی مولکولی آلوده به *تیلریا* شناخته شدند که نشان دهنده‌ی ناتوانی روش میکروسکوپی در تفکیک بین *تیلریا* و *بابزیا* بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی و تشخیص آلودگی‌های با پارازیتمی اندک است.

شیوع آلودگی نشخوارکنندگان کوچک به تک‌یاخته‌های خونی *تیلریا* و *بابزیا* در مناطق مختلف ایران توسط پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته است. در یک بررسی که Navidpour در سال ۱۹۹۶ بر روی کبد گوسفندان کشتار شده در کشتارگاه اهواز انجام داد، ۹/۴ درصد کبدها به اجسام آبی کخ (شیزونت *تیلریا*) آلوده بودند. در یک بررسی به عمل آمده، میزان شیوع آلودگی به *بابزیا* و *تیلریا* در گوسفندان شهرستان خرم‌آباد به ترتیب ۶ و ۲۲ درصد بود (Yavari et al. 2015).

در مطالعه‌ی Heidarpour Bami و همکاران در سال ۲۰۱۰ به بررسی گونه‌های تیلریوز گوسفندی در شهرهای نیمه‌ی شرقی ایران (زابل، لار، فردوس، گرگان و سمنان) با انجام آزمون Nested-PCR پرداخته شد که در بررسی مولکولی ۶۰ درصد و در روش مشاهده‌ی میکروسکوپی ۲۲/۲۷ درصد گوسفندان به گونه‌های *تیلریا* آلوده بودند.

در مطالعه‌ی Khodaverdi Azghandi and Razmi در سال ۲۰۱۵ در شهرستان مشهد، نمونه‌های خون بز و همچنین کنه سخت از گله‌های با تاریخچه‌ی آلودگی پیروپلاسموز جمع‌آوری شدند که در روش میکروسکوپی و روش PCR، هیچ نمونه‌ی آلوده به اجرام پیروپلاسمایی یافت نشد.

در پژوهشی که Rashidi و Razmi در سال ۲۰۱۳ روی گوسفندان و کنه‌های آن‌ها به روش Semi-nested PCR در استان خراسان شمالی داشتند میزان آلودگی به *تیلریا* در گوسفند را به روش میکروسکوپی ۴۱/۱ درصد و به روش مولکولی ۸۲/۲ درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ی Yaghfoori و همکارانش در سال ۲۰۱۳ بر روی گوسفندان و کنه‌های آن‌ها در مناطق فسا و کازرون در استان فارس میزان آلودگی گوسفندان به *تیلریا* را به روش میکروسکوپی ۴۶ درصد و به روش Semi-nested PCR ۷۶ درصد گزارش کردند.

در پی تحقیقی که Dehkordi و همکاران در سال ۲۰۱۰ روی گوسفند دارای علائم بالینی مرتبط به آلودگی به انگل خونی در شش استان ایران (آذربایجان غربی و شرقی، خوزستان، خراسان شمالی، ایلام و مرکزی) داشتند طبق مشاهدات میکروسکوپی ۶۸/۲۴ درصد آلوده به *بابزیا* و ۲۶ درصد آلوده به *تیلریا* و ۲/۶ درصد آلودگی همزمان به *تیلریا* و *بابزیا* گزارش کردند. در بررسی این نمونه‌ها به روش Nested–PCR میزان آلودگی به *بابزیا* ۵/۸۵ درصد، *تیلریا* ۵۳ درصد و آلودگی همزمان ۱۱/۷ درصد بود. در این مطالعه بیش‌ترین درصد آلودگی گوسفندان به *تیلریا* در استان‌های خوزستان، ایلام و خراسان شمالی و بیش-ترین درصد آلودگی گوسفندان به *بابزیا* در استان‌های آذربایجان شرقی، مرکزی و آذربایجان غربی مشاهده شد.

در مطالعه‌ی حاضر در بررسی مولکولی، فراوانی آلودگی به *تیلریا* در گوسفندان حومه‌ی دزفول ۷۱/۴ درصد مشخص گردید. با توجه به نتایج مطالعات انجام شده در ایران، بیش‌ترین میزان آلودگی به *تیلریا* در گوسفندان مناطق گرمسیر و نیمه گرمسیر و دارای رطوبت

www.SID.ir

Archive of SID

نسبی بالا به وقوع می‌پیوندد. بر اساس به نظر می‌رسد شیوع بالای تیلریوز در گوسفندان منطقه‌ی دزفول با توجه به این که این شهرستان در یک منطقه‌ی گرمسیری و دارای رطوبت بالا قرار گرفته است، قابل انتظار و پیش‌بینی است.

در سال ۲۰۱۵، Khamesipour و همکارانش در یک مطالعه‌ی مولکولی روی گوسفند، گاو و شتر در استان چهارمحال بختیاری و اصفهان، میزان آلودگی به *بابزیا* در گوسفند را صفر درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ی Motavalli Haghi و همکاران در سال ۲۰۱۳ جهت تشخیص مولکولی گونه‌های *بابزیای* نشخوارکنندگان کوچک در دو استان شمالی ایران (مازندران و گلستان) بر روی گوسفند و بز میزان آلودگی به *بابزیا* را ۵ درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ی Sharifi و همکارانش در سال ۲۰۱۶، شیوع عفونت *تیلریا اویس* و *بابزیا* در زابل با استفاده از روش PCR مورد بررسی انجام گرفت و با پرایمرهای مشابه تحقیق حاضر میزان آلودگی به *تیلریا* ۶۶/۲۵ درصد و *بابزیا* ۳/۷۵ درصد اعلام شد.

در پژوهش Fakhar و همکاران در سال ۲۰۱۲ در گوسفندان دارای علایم بیماری در استان کردستان میزان شیوع *بابزیا* به روش میکروسکوپی ۵۱/۴ درصد بود. در مطالعه‌ی مشابهی که توسط Ebrahimi و همکاران در سال ۲۰۱۲ به صورت تصادفی بر روی گوسفندان شهرستان پیرانشهر انجام شد میزان شیوع *بابزیا* ۴۱/۶ درصد به دست آمد.

Jalali و همکارانش در سال ۲۰۱۴ به بررسی میکروسکوپی و مولکولی گونه‌های *تیلریا* و *بابزیا* در گوسفندان منطقه‌ی اهواز پرداختند. در بررسی میکروسکوپی در ۷/۶۹ درصد گوسفندان آلودگی به *تیلریا* مشاهده گردید در حالی که *بابزیا* در گستره‌ها مشاهده نشد. از کل نمونه‌هایی که به روش PCR مورد بررسی قرار گرفتند، ۸۹ درصد آلوده به *تیلریا* بودند و هیچ نمونه‌ی آلوده به *بابزیا* شناسایی نشد.

در پژوهش Tavasoli و Rahbari در سال ۱۹۹۸ در بررسی سرواپیدمیولوژی *B.ovis* در گوسفندان چهار منطقه‌ی آب و هوایی مختلف شامل مناطق ۱- سواحل دریای خزر ۲- نواحی کوهستانی (استان‌های خراسان، تهران، آذربایجان غربی، اردبیل، مرکزی، چهارمحال بختیاری و اصفهان) ۳- سواحل خلیج‌فارس و ۴- کویر مرکزی، فراوانی آلودگی در مناطق یک و دو و سه و چهار به ترتیب ۱۵/۹۳، ۵۸/۸۱، ۱۲/۰۴، ۱۳/۲۲ درصد بود که سطح آلودگی منطقه‌ی ۲ در مقایسه با سایر مناطق به طور معنی‌داری بیش‌تر بود ($P<۰/۰۰۰۵$). با توجه به این نتایج می‌توان نتیجه گرفت که میزان آلودگی به *بابزیا* در مناطق سردسیر بیش‌تر از مناطق گرمسیر است.

در مطالعه‌ی حاضر در بررسی مولکولی هیچ موردی از آلودگی گوسفندان حومه‌ی دزفول به *بابزیا* مشاهده نشد. با توجه به نتایج پژوهش‌های اشاره شده به نظر می‌رسد بابزیوز برخلاف تیلریوز شیوع بالایی در استان‌های سردسیر ایران، دارای رطوبت نسبی بالا و واقع شده در عرض‌های جغرافیایی بالاتر مانند آذربایجان و مرکزی دارد، به طوری در که استانی مانند اصفهان که دارای آب و هوای معتدل است ولی رطوبت نسبی کمی دارد، موردی از بابزیوز در نشخوارکنندگان گزارش نشده است.

شیوع اندک بابزیوز در استان‌های لرستان و خوزستان نیز می‌تواند به گرمسیر بودن و پایین بودن عرض جغرافیایی آن‌ها در قیاس با استان‌هایی نظیر آذربایجان و مرکزی نسبت داده شود. بر این اساس به نظر می‌رسد عدم مشاهده‌ی آلودگی به *بابزیا* در گوسفندان حومه‌ی شهر دزفول به علت گرمسیر بودن این منطقه و قرار گرفتن در عرض جغرافیایی پایین‌تر باشد. در مطالعه‌ی حاضر بررسی آلودگی کنه‌ها انجام نگرفته است اما این احتمال وجود دارد که شیوع اندک بابزیوز در گوسفندان منطقه‌ی دزفول به علت عدم وجود کنه ناقل *بابزیا* یا شیوع اندک آن در این منطقه نیز باشد.

بر اساس نتیجه‌ی پژوهش حاضر، فراوانی *آناپلاسما* ۳۳ درصد بود که پس از *تیلریا* از فراوانی بالایی در

www.SID.ir

Archive of SID

گوسفندان حومه‌ی دزفول برخوردار است. در مطالعه‌ی انجام یافته توسط Jalali و همکاران در سال ۲۰۱۳ در گوسفندان شهرستان اهواز شیوع *آناپلاسما* به روش مشاهده‌ی میکروسکوپی ۳۳/۶ درصد و به روش مولکولی ۸۷/۴ درصد گزارش شد. در بررسی Noaman در سال ۲۰۱۲ بر روی گوسفندان استان اصفهان با روش PCR-RFLP میزان شیوع *آناپلاسما* ۳۳/۳۳ درصد بود. در مطالعه‌ی Hashemzadeh Farhang و همکاران در سال ۲۰۱۱ بر روی گوسفندان کشتاری کشتارگاه تبریز میزان آلودگی *آناپلاسما* ۰/۵ درصد مشخص شد. در مطالعه‌ی Noaman و Bastani در سال ۲۰۱۶ در استان آذربایجان غربی که به روش مولکولی انجام شد میزان شیوع *آناپلاسما* در گوسفندان منطقه، ۵ درصد گزارش گردید.

با توجه به توضیحات فوق و نظر به این که شهرستان‌های دزفول و اهواز در شرایط آب و هوایی مشابهی قرار دارند بدین جهت نتایج مطالعات انجام گرفته توسط Jalali و همکاران در سال ۲۰۱۳ با نتایج این تحقیق هم‌خوانی دارد. همچنین آناپلاسموز شیوع مشابهی با تحقیق حاضر در استان اصفهان دارد (Noaman 2012) که می‌تواند به علت وفور کنه‌های ناقل در آن منطقه باشد. در مقابل *آناپلاسما* در استان‌های آذربایجان غربی و شرقی شیوع اندکی دارد (Hashemzadeh Farhang et al. 2011, Noaman and Bastani 2016) که ممکن است به علت شرایط آب و هوایی و عدم حضور کنه‌های ناقل *آناپلاسما* در این مناطق باشد.

جدول ۴ نشان می‌دهد که فراوانی نسبی آناپلاسموز در دو رده‌ی سنی کم‌تر از ۲ سال و بیش از ۲ سال تقریباً مشابه است و اختلاف معنی‌داری ندارند (P>۰/۰۵)؛ همچنین فراوانی نسبی موارد مثبت در جنس ماده بیش‌تر از نر است؛ هر چند این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار نیست (P>۰/۰۵). نتایج مشابهی با پژوهش حاضر در ارتباط با سن و جنس در مطالعه بر روی گوسفندان در اهواز به دست آمده است (Jalali et al. 2013). مشابه با نتایج این تحقیق، در مطالعه‌ی اپیدمیولوژیکی در حومه‌ی شهر مشهد بر روی گوسفند، بز و گاو، تفاوت معنی‌داری در ارتباط با سن و جنس مشاهده نشد (Razmi et al. 2006[a]). بر این اساس به نظر می‌رسد به دلیل وفور کنه‌های ناقل *آناپلاسما*، گوسفندان در تمام سنین نسبت به آلودگی به *آناپلاسما* حساس هستند و تفاوتی از این جهت بین گوسفندان نر و ماده وجود ندارد.

در این مطالعه شیوع *آناپلاسما* در منطقه‌ی جنوب دزفول بیش‌تر از سایر مناطق است هر چند این اختلاف معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵).

در مطالعه حاضر در مورد میزان آلودگی به *تیلریا* اختلاف معنی‌داری بین جنس‌های نر و ماده وجود نداشت (P>۰/۰۵)، در صورتی که میزان آلودگی در جنس ماده کم‌تر از نر بود؛ همچنین شیوع تیلریوز در گوسفندان بیش از ۲ سال اندکی بیش‌تر از گروه کم‌تر از ۲ سال بود هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود (P>۰/۰۵). مشابه با نتیجه این پژوهش در مطالعه‌ی Razmi و همکاران در سال‌های ۲۰۰۳ و ۲۰۰۶ رابطه‌ی معنی‌داری بین سن و جنس با آلودگی *تیلریا* وجود نداشت (Razmi et al. 2003, Razmi et al. 2006[b]). بر این اساس به نظر می‌رسد، گوسفندان از هر دو جنس به یک اندازه نسبت به آلودگی به *تیلریا* حساس هستند و به دلیل وفور کنه‌های ناقل، سن در میزان حساسیت گوسفندان به *تیلریا* نقش چندانی ندارد.

در این مطالعه در ارتباط با میزان آلودگی به *تیلریا* اختلاف معنی‌داری بین منطقه‌های مورد بررسی وجود داشت. علت بالا بودن آلودگی در منطقه‌های جنوب و شرق دزفول را می‌توان در شرایط مساعد برای رشد و نمو کنه‌های ناقل در اطراف رودخانه‌ی دز، میزان تراکم دام در منطقه و غیره جستجو کرد. در اطراف رودخانه‌ی دز پوشش گیاهی حالت بیشه‌زار پیدا کرده و به دلیل وجود رطوبت شرایط مساعدتری را نسبت به سایر مناطق جهت رشد کنه‌های ناقل تک‌یاخته‌های خونی گوسفند فراهم می‌آورد که می‌تواند از علل مهم شیوع بیش‌تر آلودگی به

www.SID.ir

Archive of SID

انگل‌های خونی در این مناطق نسبت به سایر مناطق شهرستان دزفول باشد.

در ایران هر ساله مقادیر قابل توجهی از تولیدات دامی بنا به علل مختلفی از بین می‌رود. در این رابطه نقش بیماری‌های انگلی به ویژه انگل‌های خونی در بروز این خسارت‌ها بسیار چشم‌گیر است. با استناد به نتایج این مطالعه و مطالعات مشابه صورت گرفته در سایر مناطق ایران، بیماری‌های آناپلاسموز و تیلریوز شیوع بالایی در گوسفندان ایران دارند و پنداشته می‌شود سالانه خسارت اقتصادی قابل ملاحظه‌ای از طریق این بیماری‌ها به صنعت پرورش گوسفند در ایران وارد می‌آید. بر این اساس به نظر می‌رسد رعایت اصول بهداشتی از قبیل سم‌پاشی دوره‌ای بر علیه انگل‌های خارجی، جلوگیری از تراکم بالای دام و ممانعت سازمان‌های نظارتی از جمله سازمان دامپزشکی و وزارت جهاد کشاورزی از نقل و انتقال غیرمجاز دام در سطح کشور می‌تواند در کاهش خسارت اقتصادی ناشی از این قبیل بیماری‌ها مؤثر باشد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان به جهت حمایت مالی از این پژوهش در قالب دو پایان‌نامه کارشناسی ارشد تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

Aktaş, M.; Altay, K. and Dumanli, N. (2005). Survey of *Theileria* parasites of sheep in eastern Turkey using polymerase chain reaction. Small Ruminant Research, 60 (3): 289-293.

Almeria, S.; Castella, J.; Ferrer, D.; Ortuno, A.; Estrada-Pena, A. and Gutierrez, J.F. (2001). Bovine piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): a comparison of PCR-based and light microscopy detection. Veterinary Parasitology, 99 (3): 249-259.

Dehkordi, Z.S.; Zakeri, S.; Nabian, S.; Bahonar, A.; Ghasemi, F.; Noorollahi, F. and Rahbari, S. (2010). Molecular and biomorphometrical identification of ovine babesiosis in Iran. Iranian Journal of Parasitology, 5 (4): 21-30.

Ebrahimi, M.; Mohammadpour, H.; Ahmadi, A. and Shahbazfar, A.A. (2012). Survey on prevalence of *babesia* infection in sheep of Piranshahr, West Azarbayjan, Iran. Veterinary journal of Islamic Azad University Sanandaj branch, 6 (1): 57-62. (in Persian)

Eslami, A.; Rahbari, S.; Nadalian, M.; Moshkat, M.; Tajbakhsh, H.; Mokhayer, B. et al. (2011). Evaluation of importance of ruminants zoonotic parasitic diseases and prospective of control measures. Journal of Veterinary Microbiology, 7 (2): 1-10. (in Persian)

Fakhar, M.; Hajihasani, A.; Maroufi, S.; Alizadeh, H.; Shirzad, H.; Piri, F. and Pagheh, A.S. (2012). An epidemiological survey on bovine and ovine babesiosis in Kurdistan Province, western Iran. Tropical Animal Health and Production, 44 (2): 319-322.

Hashemzadeh Farhang, H.; Shahbazi, P. and Fard Manafi Rad, F. (2011). The infestation rate of heamoparasite in slaughtered sheep and goats of Tabriz abattoir 2009. Journal of Food Hygiene, 1 (1): 17-21. (in Persian)

Heidarpour Bami, M.; Khazraiinia, P.; Haddadzadeh, H.R. and Kazemi, B. (2010). Identification of *Theileria* species in sheep in the eastern half of Iran using nested PCR-RFLP and microscopic techniques. Iranian Journal of Veterinary Research, 11 (3): 262-266.

Jalali, S.M.; Khaki, Z.; Kazemi, B.; Bandehpour, M.; Rahbari, S.; Razi Jalali, M. and Yasini, S.P. (2013). Molecular detection and identification of *Anaplasma* species in sheep from Ahvaz, Iran. Iranian Journal of Veterinary Research, 14 (1): 50-56.

Jalali, S.M.; Khaki, Z.; Kazemi, B.; Rahbari, S.; Shayan, P.; Bandehpour, M. and Yasini, S.P. (2014). Molecular Detection and Identification of *Theileria* Species by PCR-RFLP Method in Sheep from Ahvaz, Southern Iran. Iranian Journal of Parasitology, 9 (1): 99-106.

Khaki, Z.; Jalali, S.M.; Kazemi, B.; Razi Jalali, M. and Yasini, S.P. (2015). A study of hematological changes in sheep naturally infected with *Anaplasma* spp. and *Theileria ovis*: Molecular diagnosis. Iranian Journal of Veterinary Medicine, 9 (1): 19-26.

www.SID.ir

Archive of SID

Khamesipour, F.; Doosti, A.; Koohi, A.; Chehelgerdi, M.; Mokhtari-Farsani, A. and Chengula, A.A. (2015). Determination of the presence of *Babesia* species in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. Archives of Biological Sciences, 67 (1): 83-90.

Khodaverdi Azghandi, M. and Razmi, G.R. (2015). Identification of *Babesia* and *Theileria* species in goats and ticks with smear observation and molecular examination in Mashhad, Khorasan Razavi province, Iran. Journal of Veterinary Research, 70 (1): 1-5. (in Persian)

Motavalli Haghi, S.M.; Fakar, M.; Sharif, M.; Paghe, A.; Sharbatkhori, M.; Tavakoli, R. and Gholami, S. (2013). Molecular identification of *ovine Babesia* spp. in north of Iran. Research in Molecular Medicine, 1 (1): 35-39.

Navidpour, S. (1996). Evaluation of *Theileria* infection of slaughtered sheep in Ahvaz abattoir. Pajouhesh and Sazandegi, 31: 78-81. (in Persian)

Noaman, V. (2012). Identification of hard ticks collected from sheep naturally infected with *Anaplasma ovis* in Isfahan province, central Iran. Comparative Clinical Pathology, 21 (3): 367-369.

Noaman, V. and Bastani, D. (2016). Molecular study on infection rates of *Anaplasma ovis* and *Anaplasma marginale* in sheep and cattle in West-Azerbaijan province, Iran. Veterinary Research Forum, 7 (2): 163-167.

Rashidi, A. and Razmi, G. (2013). Molecular detection of *Theileria* spp. in sheep and vector ticks in the North Khorasan Province, Iran. Tropical Animal Health and Production, 45 (1): 299-303.

Razmi, G.; Pourhosseini, M.; Yaghfouri, S.; Rashidi, A. and Seidabadi, M. (2013). Molecular detection of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in sheep and ixodid ticks from the northeast of Iran. Journal of Parasitology, 99 (1): 77-81.

Razmi, G.R.; Dastjerdi, K.; Hossieni, H.; Naghibi, A.; Barati, F. and Aslani, M.R. (2006[a]). An epidemiological study on *Anaplasma* infection in cattle, sheep, and goats in Mashhad Suburb, Khorasan Province, Iran. Annals of the New York Academy of Sciences, 1078: 479-481.

Razmi, G.R.; Eshrati, H. and Rashtibaf, M. (2006[b]). Prevalence of *Theileria* spp. infection in sheep in South Khorasan province, Iran. Veterinary Parasitology, 140 (3-4): 239-243.

Razmi, G.R.; Hosseini, M. and Aslani, M.R. (2003). Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran. Veterinary Parasitology, 116 (1): 1-6.

Schnittger, L.; Rodriguez, A.E.; Florin-Christensen, M. and Morrison, D.A. (2012). *Babesia*: A world emerging. Infection, Genetics and Evolution, 12 (8): 1788-1809.

Sharifi, N.; Ganjali, M.; Nabavi, R. and Saadati, D. (2016). A study on prevalence and identification of Ovine *Theileria* and *Babesia* infection in Zabol using PCR method. Journal of Parasitic Diseases, 40 (4): 1535-1539.

Shayan, P. and Rahbari, S. (2005). Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. Parasitology Research, 97 (4): 281-286.

Splitter, E.J.; Anthony, H.D. and Twiehaus, M.J. (1956). *Anaplasma ovis* in the United States; experimental studies with sheep and goats. American Journal of Veterinary Research, 17 (64): 487-491.

Tavassoli, M. and Rahbari, S. (1998). Seroepidemioligical survey of *Babesia ovis* in sheep of different geographical regions of Iran. Journal of Veterinary Research, 53: 55-59. (In Persian).

Yaghfoori, S.; Razmi, G. and Heidarpour, M. (2013). Molecular detection of *Theileria* spp. in sheep and vector ticks in Fasa and Kazeroun areas, Fars Province, Iran. Archives of Razi Institute, 68 (2): 159-164.

Yasini, S.; Khaki, Z.; Rahbari, S.; Kazemi, B.; Amoli, J.S.; Gharabaghi, A. and Jalali, S. (2012). Hematologic and clinical aspects of experimental ovine anaplasmosis caused by *Anaplasma ovis* in Iran. Iranian Journal of Parasitology, 7 (4): 91-98.

Yavari, S.; Shayan, P.; Bokai, S. and Amini Nia, N. (2015). Comparative study between microscopic and PCR analysis in a population of piroplasm carrier sheep in five region of khoramabad, Iran. Quarterly journal of Veterinary Histobiology, 2 (2): 1-10. (in Persian)

www.SID.ir

Vol. 15, No. 3, Autumn, 2019
DOI: 10.22055/ivj.2018.118675.2017

Study the frequency of blood parasites of sheep in Dezful suburb, southwest Iran

Mahmoudvand, P.[1]; Varshosaz, M.[1]; Nayebzadeh, H.[2]; Rocky, A.[3] and Pourmahdi Borujeni M.[4]

Received: 10.02.2018 Accepted: 23.07.2018

Abstract

Blood parasites including *Theileria*, *Babesia* and *Anaplasma* are responsible for the tremendous economic loss to sheep farming industry worldwide. Dezful city in the south-west of Iran has warm and humid climate and parasitic diseases including Haemoparasites is expected to be prevalent among herds in this area. The purpose of this study was to evaluate the frequency of blood parasites in sheep of Dezful suburb using direct microscopy and PCR methods. For this reason, in August 2016, in a cluster sampling, a total of 200 blood samples from sheep of 4 regions of Dezful were collected randomly. Blood films were prepared and evaluated by microscopy. PCR was performed on 112 randomly selected samples. Frequency of *Babesia*, *Theileria* and *Anaplasma* was 1.5%, 26% and 33% using microscopy, respectively while 71.4% and 0% of sheep were PCR positive for *Theileria* spp. and *Babesia* spp., respectively. No other blood parasite was observed in microscopy. The results of this study indicate a high frequency of *Anaplasma* and *Theileria* and low frequency of *Babesia* among sheep of Dezful suburb. Regarding the results of this study, measures such as promoting knowledge of breeders regarding parasitic diseases of livestock, and in particular *blood parasites* and raising awareness of economic loss from these diseases through decrement in livestock production and increment in the costs of treatment, insecticide spraying of livestock places and bathing of animals against ectoparasites are necessary for reduction of this parasitic infection.

Key words: *Theileria*, *Anaplasma*, *Babesia*, sheep, Dezful

1- MSc Graduated of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorram Abad, Iran
2- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorram Abad, Iran
3- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorram Abad, Iran
4- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Rocky, A., E-mail: alireza.rocky@gmail.com

www.SID.ir