Archive of SID

DOI: 10.22092/VJ.2017.109882 شماره ۱۱۶ پاییز ۱۳۹۶

تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

مروری بر آناپلاسموزیس و وضعیت شیوع *آناپلاسما مارجیناله* در گاوهای ایران و جهان

• وحید نعمان

بخش تحقیقات دامپزشکي، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزي و منابع طبیعي استان اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵-۰۶-۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۵-۰۸-۱۱

Email: vnoaman@gmail.com

چکیده

آناپلاسموزیس بیماري است که از طریق کنه منتقل مي‌شود و عامل مسبب آن گونه‌هاي مختلف آناپلاسما مي‌باشند. *آناپلاسما مارجیناله* با اهمیت‌ترین گونه از نظر دامپزشکي در خانواده آناپلاسماتاسه‌آ مي‌باشد. بیماري از شایع‌ترین انگل‌هاي خوني گاو است و در مناطق گرمسیري، نیمه گرمسیري و اغلب مناطق معتدل جهان همه‌گیر مي‌باشد. تهاجم و تکثیر *آناپلاسما مارجیناله* در گلبول‌هاي قرمز گاو باعث کم خوني، از دست دادن وزن و سقط و در فرم حاد در برخي موارد باعث مرگ حیوان مي‌شود. *آناپلاسما مارجیناله* بصورت بیولوژیکي از طریق کنه و با انتقال خون آلوده توسط گزش مگس‌هاي خونخوار یا وسایل آلوده بصورت مکانیکي منتقل مي‌شود. در برخي از مناطق انتقال *آناپلاسما مارجیناله* از طریق جفت نیز به اپیدمیولوژي آناپلاسموزیس گاوي کمك مي‌کند. بر اساس مطالعات اخیر انجام شده در ایران در حدود یك چهارم گاوهاي مورد مطالعه از نظر *آناپلاسما مارجیناله* مثبت ارزیابي شده‌اند. علي‌رغم اهمیت جهاني، در ایران هنوز در تشخیص و درمان، این بیماري نادیده گرفته مي‌شود. بعلت ضعف در تشخیص و گزارش بیماري، اطلاعات پایشي در خصوص این بیماري در ایران محدود مي‌باشد. این مقاله با توجه خاص به شیوع بیماري در ایران و جهان، مطالب علمي در خصوص آناپلاسموزیس را مرور کرده است تا به دامپزشکان در تفریق، تشخیص و درمان بیماري کمك نماید.

کلمات کلیدی: آناپلاسموزیس، *آناپلاسما مارجیناله*، گاو، کنه

www.SID.ir

Archive of SID

Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 2-15

A review of anaplasmosis and the prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle in Iran and the world

By: Noaman, V., Veterinary Research Department, Isfahan Agriculture and Natural resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

Email: vnoaman@gmail.com

Received: 2016-09-04 Accepted: 2016-11-01

Anaplasmosis is a tick-borne disease caused by the Anaplasma spp.. *A. marginale* is the most important species of vererinary in the family Anaplasmataceae. The disease is the most prevalent of bovine hemoparasite infections and is endemic in tropical, subtropical and certain temperate areas of the world. Invasion and multiplication of *A. marginale* in erythrocytes of cattle may result in anemia, weight loss, abortion, and sometimes death during acute infections. *A. marginale* is transmitted biologically by ticks and mechanically by blood-contaminated mouthparts of biting flies or fomites. Transplacental transmission of *A. marginale* may contribute to the epidemiology of bovine anaplasmosis in some regions. According to the recent studies in Iran, approximately a quarter of the examined cattle have been positive for *A. marginale.* In spite of the global importance, in Iran the disease is still often overlooked in diagnosis and treatment. There is little surveillance information about this disease in Iran due to poor recognition and report. This paper reviews the literature on anaplasmosis with special attention to the prevalence of the disease in Iran and the world to help veterinarians differentiate, diagnose, and treat this disease.

Key words: Anaplasmosis, *Anaplasma marginale,* Cattle, Tick

مقدمه

جنس آناپلاسما (Anaplasma) از نظر دامپزشکی و پزشكي واجد اهميت است. گونه‌های این جنس در نشخوارکنندگان عبارتند از: آناپلاسما مارجیناله (*A. marginale*)، آناپلاسما سنتراله (*A. centrale*)، آناپلاسما اوویس (*A. ovis*)، آناپلاسما بوویس (*A. bovis*)، آناپلاسما فاگوسیتوفیلم (*A. phagocytophilum*) (گونه مشترك بين انسان و دام) که از طریق بندپایان منتقل شده و آناپلاسموزیس را در نشخوارکنندگان ایجاد می‌کنند(۵). آناپلاسما مارجیناله مهم‌ترین عامل آناپلاسموزیس گاوي است که از طریق گزش کنه یا انتقال مکانیکی گلبول‌های قرمز تازه توسط گزش مگس و یا تجهیزات جراحی مانند سوزن، و یا شاخ‌بري، اخته کردن و یا تجهیزات خالکوبی گسترش مي‌یابد (۵۲). آناپلاسموزیس در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری (۴۰ درجه شمالي تا ۳۲ درجه جنوبي) در سراسر جهان رخ می‌دهد که ایران نیز از این قاعده مستثني نمي‌باشد. این بیماري از نظر اقتصادي يكي از مهم‌ترين بيماري‌ها در شش قاره جهان در نظر گرفته مي‌شود(۲۹، ۲۷، ۱۹). بیماری در گاو قبلا تب زرد، کیسه زرد و بیماري صفرا ناميده مي‌شد و داراي علايم باليني مشخصي می‌باشد(۶۱) ولی دیگر نشخوارکنندگان مثل گاومیش آبی، بیسون (Bison)، آنتلوپ‌های آفریقایی (African antelopes) و گوزن‌ها می‌توانند بطور دایمی با آناپلاسما مارجیناله آلوده باشند ولی علایم نشان ندهند (۲۶، ۶).

ضررهای ناشی از آناپلاسموزیس بوسیله چندین پارامتر سنجیده می‌شود که عبارتند از: حصول وزن پایین، کاهش تولید شیر، سقط، هزینه‌های درمان آناپلاسموزیس و مرگ و میر. مطالعات جهت تعیین خسارات سالانه این بیماری در کشورهای مختلف انجام شده است و ضررهای اقتصادی را عجیب و وحشتناک عنوان نموده‌اند. در آمریکا خسارات سالانه در گاوهای گوشتی در نتیجه ابتلا به آناپلاسموزیس ۳۰۰ میلیون دلار در سال تخمین زده شده است (۲۶). علاوه بر این در آمریکای لاتین این خسارات تقریباً ۸۰۰ میلیون دلار محاسبه شده است (۲۶). در بیشتر گزارشات اشاره شده است که آناپلاسموزیس گاوی و بابزیوزیس در آمریکای لاتین سالانه ۸۷۵ میلیون دلار خسارت ایجاد می‌کنند (۲۶). به هر حال بیشترین اهمیت اقتصادی آناپلاسموزیس در مناطق گرم پرورش دهنده گاو است که برنامه‌های اصلاح نژادی انجام می‌شود. گاوهای وارداتی که برای بهبود و اصلاح نژاد به مناطق گرم آورده می‌شوند بسیار نسبت به بیماری‌های منتقله از طریق کنه حساس می‌باشند (۵۲). در ایران خسارات ناشي از بيماري برآورد نشده است. با توجه به شيوع جهاني اين بيماري بالطبع در ايران نيز با توجه به شرايط جغرافيايي و آب و هوايي، ورود حيوانات حساس به مناطق آلوده، وجود حيوانات حامل بيماري، فراهم بودن شرايط براي تكثير و فعاليت ناقلان بندپا و بالابودن تعداد دام‌های حساس، سالانه خسارات قابل توجهي ناشي از اين بيماري

www.SID.ir

Archive of SID

به دامداران مناطق مختلف وارد مي‌شود. با توجه به خسارات اقتصادي قابل توجه و هزينه‌هاي سنگين درماني و تلفات ناشي از بيماري بنظر مي‌رسد هنوز شناخت جامعي از اين بيماري در بين دامپزشكان ايران وجود ندارد تا اقدامات مؤثري در پيشگيري و كنترل اين بيماري در ايران صورت گيرد. لذا در اين مقاله به تفصيل در خصوص بيماري و عامل آن بحث شده است.

تاريخچه و رده‌بندي

آرنولد تيلر در سال ۱۹۱۰ در آفريقاي جنوبي اولين بار آناپلاسما مارجيناله را در گلبول‌هاي قرمز گاوهاي آفريقايي بصورت يک نقطه حاشيه‌اي توصيف كرد. گزارش مشابهي نيز در آمريكا توسط اسميت و سالمون در سال ۱۸۹۶ منتشر شده بود كه آناپلاسما مارجيناله را جرم بيماري‌زاي گرد و كوچک كه در لبه گلبول قرمز قرار مي‌گرفت و در رنگ‌آميزي به رنگ آبي روشن مشاهده مي‌شد توصيف كرده بودند. متعاقب اين، تيلر در سال ۱۹۱۱ تحت گونه آناپلاسما مارجيناله يعني آناپلاسما سنتراله را توصيف كرد كه بيماري‌زايي آن كمتر و در مركز اريتروسيت‌ها قرار مي‌گرفت. گونه‌هاي آناپلاسما در ابتدا به عنوان انگل‌هاي تك‌ياخته‌اي در نظر گرفته مي‌شدند. مطالعات بعدي نشان داد اگر چه اين ارگانيسم‌ها به راحتي با اسپروزوآهاي تك‌ياخته‌هاي خوني قابل اشتباه مي‌باشند ولي اين ارگانيسم‌ها داراي خصوصيات توصيف شده براي تك‌ياخته‌ها نمي‌باشند. از سال ۱۹۵۷ اين ارگانيسم‌ها در خانواده آناپلاسماتاسه‌آ(Anaplasmatac eae) و راسته ريكتزياله (Rickettsiale) طبقه‌بندي شدند(۲۷).

داملر و همكاران در سال ۲۰۰۱ ارگانيسم‌هاي راسته ريكتزياله را بر اساس خصوصيات بيولوژيک و آناليز ژنتيكي ژن‌هاي gro ، ۱۶S rRNA و ژن‌هاي پروتئين سطحي اصلي (Major Surface Protein) ESL دوباره دسته‌بندي كردند (۱۹).

ژنوم كوچك آناپلاسما مارجيناله حلقوي است و اندازه آن بين ۱/۲ تا ۱/۶ ميليون باز تخمين زده مي‌شود (۲۶،۱۹). تحقيقات۲۰ سال اخير بر روي تشخيص پروتئين‌هاي سطحي اصلي آناپلاسما مارجيناله متمركز شده است. شش پروتئين سطحي اصلي MSP۲ ,MSP۱b ,MSP۱a ,MSP۳ ,MSP۴ ,MSP۵ از ارگانيسم‌هاي مشتق از گلبول‌هاي قرمز تشخيص داده شده است. MSP۴ ,MSP۱a و MSP۵ توسط ژن‌هاي تكي كد مي‌شوند در حالي كه MSP۳ ,MSP۲ ,MSP۱b توسط چندين ژن كد مي‌شوند. MSP۱a از نظر وزن ملكولي در بين ايزوله‌هاي جغرافيايي اختلاف دارد كه بخاطر اختلاف تعداد رديف تكراري ۲۸ يا ۲۹ اسيد آمينه‌اي است كه در انتهاي آميني پروتئين قرار گرفته است (۲۶،۱۹، ۲۸). بعلت تنوع در قسمت تكراري ژن MSP۱a در مناطق مختلف اين ژن به عنوان مارکر ژنتيكي براي تشخيص ايزوله‌هاي جغرافيايي آناپلاسما مارجيناله استفاده مي‌شود (۲۶، ۲۸). در پروتئين MSP۱a رديف تكراري اسيد آمينه براي اتصال موثر به اريتروسيت‌هاي گاو و سلول‌هاي كنه لازم مي‌باشد. نشان داده شده است كه MSP۱a در آلوده كردن و انتقال آناپلاسما در كنه‌ها دخيل است و همچنين در ايمني گاوهاي آلوده به آناپلاسما مارجيناله كمك مي‌كند. MSP۱b حداقل توسط دو ژن كد مي‌شود. مشخص شده است كه MSP۱b تنها براي اتصال به اريتروسيت‌هاي گاو است و ثابت نشده كه نقشي در اتصال به سلول‌هاي كنه داشته باشد (۱۷). MSP۲ و MSP۳ توسط خانواده چند ژني با پلي مورفيسم زياد كد مي‌شوند. توالي و تركيبات آنتي‌ژنتيكي MSP۲ در طول تكثيرهاي پي‌درپي باكتري در گاوها و كنه‌هايي كه آلودگي پايدار دارند متفاوت است. MSP۳ نيز در خصوصيات آنتي‌ژنتيكي و ساختاري در بين ايزوله‌هاي جغرافيايي متفاوت است. MSP۲ و MSP۳ در القاي پاسخ ايمني محافظتي گاو برضد آناپلاسما مارجيناله دخالت دارند. MSP۴ و MSP۵ توسط ژن‌هاي تكي كد مي‌شوند. اگر چه MSP۴ شديداً بدون تغيير مي‌ماند ولي اطلاعاتي در خصوص وظيفه اين پروتئين در دسترس نمي‌باشد. MSP۵ نيز پروتئين سطحي با پايداري بالا است كه نقش آن به عنوان آنتي‌ژن در آزمون تشخيصي اليزاي رقابتي كه در حال حاضر در آمريكا بصورت تجاري در دسترس است ثابت شده است (۲۶، ۱۹، ۲۸). آناليز تبارشناسي ايزوله‌هاي جغرافيايي آناپلاسما مارجيناله با استفاده از كپي ژن‌هاي *msp1α* و *msp4* در ايالت متحده آمريكا انجام گرفته است (۱۷) و مشخص شده است كه *msp4* يك مارکر ژنتيكي خوبي براي مطالعات تكميلي در جنس آناپلاسما و پي بردن به الگوي تبارشناسي ايزوله‌هاي آناپلاسما مارجيناله است (۱۷). توالي ژن Heat Shok Protein ۶۰ (HSP۶۰) (groEL) نيز براي آناليز تبارشناسي گونه‌هاي آناپلاسما استفاده شده است (۳۱).

ارگانيسم‌هاي طبقه‌بندي شده در خانواده آناپلاسماتاسه آ ارگانيسم‌هاي داخل سلولي اجباري هستند كه در واكوئل‌هاي سيتوپلاسمي سلول‌هاي ميزبان مانند اريتروسيت، سلول‌هاي رتيكولواندوتليال، سلول‌هاي فاگوسيت كننده، سلول‌هاي اندوتليال و بافت‌هاي زاياي حشرات، بندپايان يا كرم‌ها تكثير مي‌يابند. اغلب اعضاي اين خانواده ترماتدها، كنه‌ها و يا ديگر بي‌مهرگان را به عنوان ميزبان ناقل انتخاب مي‌كنند (۱۹، ۵۴).

آناپلاسما به معني بدون پروتوپلاسم است و در اين جنس گونه‌هاي مختلفي وجود دارند كه برخي بيماري‌زا و برخي فاقد قدرت بيماري‌زايي مي‌باشند. آناپلاسموزيس گاوي بوسيله آناپلاسما مارجيناله ايجاد مي‌شود در حالي كه آناپلاسما سنتراله بيماري‌زايي كمتري براي گاو دارد و بعنوان واكسن زنده در اسرائيل، استراليا، آفريقا و آمريكاي جنوبي استفاده مي‌شود. آلودگي با اين گونه در برخي موارد مي‌تواند ايجاد بيماري كلينيكي كند. آناپلاسما اوويس براي گوسفند بيماري‌زا است و در گاو آلودگي پايدار ايجاد نمي‌كند (۶).

انتشار جغرافيايي آناپلاسموزيس گاوي در ايران و جهان و عوامل خطر

اگرچه آناپلاسموزيس در كل دنيا وجود دارد ولي در مناطق گرمسيري و نيمه گرمسيري بيشتر اتفاق مي‌افتد و از مشكلات پرورش‌دهندگان گاو در كل دنيا است. در آمريكا آناپلاسموزيس در ايالت‌هاي جنوب آتلانتيک، خليج‌شرقي و چندين ايالت غربي و غربي‌مركزي(۲۶) انزوتيک است. به هرحال آناپلاسموزيس در كليه ايالت‌هاي آمريكا گزارش شده است و انتشار وسيع آن ممكن است ناشي از افزايش نقل و انتقال گاو و افزايش فرصت انتقال مكانيكي عامل بيماري از گاوهاي مبتلا به عفونت پايدار و بدون علايم باليني باشد. آناپلاسموزيس گاوي در مكزيک آمريكاي شمالي و مركزي و جزاير كارابين اندميک است. اين بيماري در اكثر كشورهاي آمريكاي لاتين بجز نواحي صحرايي يا رشته كوه‌هايي نظير آند انزئوتيک است (۲۶).

www.SID.ir

Archive of SID

انتشار آناپلاسموزیس بعلت روند گرم شدن کره زمین و تاثیر در انتقال میزبان‌های کنه‌ای ممکن است روند رو به افزایش داشته باشد یک مثال جهت ثابت کردن این نظریه تایید وجود آناپلاسموزیس در گله‌های بیسون در ساسکاچوان کانادا در طول تابستان ۲۰۰۰ است. اولین شیوع آناپلاسموزیس در سال ۱۹۷۱ در کانادا اتفاق افتاد اما علت این شیوع، انتقال مکانیکی عامل بیماری از گاوهای ناقل بود (۲۶).

گزارشات متعددي از شيوع آناپلاسموزيس گاوي در كشورهاي دنيا وجود دارد كه نشان مي‌دهد بيماري در كشورهاي استوايي و نيمه‌استوايي در نيمكره جنوبي شيوع بيشتري دارد بطوري كه درصد شيوع از ۳۵ تا ۹۵ درصد متفاوت است (۴۷). در نيمكره شمالي اگر چه بيماري در سراسر اين نيمكره گزارش شده است ولي عمدتا مربوط به مناطق نيمه گرمسيري و كشورهاي حوزه مديترانه مي‌باشد و بر اساس منابع، شيوع در اين مناطق از ۲ تا ۳۰ درصد متفاوت مي‌باشد (۴۷)(جدول ۱).

در ایران نعمان و همکاران در سال ۲۰۰۲ در مطالعه‌اي كه در طول ۶ سال بر روي ۳۲۶۹ گسترش خوني حاصله از گاوهاي اصيل و دورگ هلشتاين غيرصنعتي (مشکوک به انگل‌های خونی) یکی از شهرستان‌های استان اصفهان انجام دادند نشان دادند که ۱۶/۷درصد از دام‌ها از نظر *آناپلاسما مارجیناله* مثبت و به آناپلاسموزیس حاد مبتلا بودند و میزان وقوع آناپلاسموزیس در این شهرستان روند افزایشي داشت (۳۷). تا قبل از سال ۲۰۰۹ میلادی تحقیق جامعی در خصوص شناسایی گونه‌های آناپلاسما در ایران انجام نشده بود و تحقیقات محدود به بررسی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا بود. از سال ۲۰۰۹ تا کنون تحقیقات گسترده‌ای در خصوص شناسایی گونه‌های آناپلاسما در ایران انجام شده است و برای اولین بار در ایران *آناپلاسما مارجیناله*، *آناپلاسما سنترال سویه آموری*، *آناپلاسما بوویس*، *آناپلاسما فاگوسیتوفیلم* در گاو و *آناپلاسما اوویس* در گوسفند با روش‌های ملکولی و تعیین توالی شناسایی شدند (۳۸، ۳۹، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۴۵، ۴۸، ۴۹). مطالعات انجام شده توسط نعمان و همکاران در ایران نشان مي‌دهد كه فراواني *آناپلاسما مارجیناله* در گاو در مركز و جنوب غربي كشور بيشتر از شمال و غرب كشور مي‌باشد. همچنين بين اقليم‌هاي مختلف نمونه‌گيري شده بيشترين فراواني مربوط به منطقه بياباني، بين ارتفاعات مختلف نمونه‌گيري شده بيشترين فراواني مربوط به ارتفاع ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ متر، بين طول‌هاي جغرافيايي مختلف نمونه‌گيري شده بيشترين فراواني مربوط به طول جغرافيايي ۴۸ تا ۵۰ درجه و بين عرض‌هاي جغرافيايي بيشترين فراواني مربوط به عرض جغرافيايي كمتر از ۳۱ درجه مي‌باشد (۴۷).

آموريم و همكاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند كه حضور كنه و سن دام در فراواني آلودگي نمونه‌ها به *آناپلاسما مارجیناله* تاثير دارد (۲). رحمان و همكاران در سال ۲۰۱۵ به اين نتيجه رسيدند كه گاوهاي دو رگ نسبت به بومي، گاوهاي ماده نسبت به گاوهاي نر، وجود كنه در برابر عدم وجود كنه و سن بالاي ۲/۵ سال از فاكتورهاي خطر ايجاد آلودگي با آناپلاسما مارجيناله مي‌باشند (۵۳). داسيلوا و همكاران در سال ۲۰۱۴ نژاد، آلودگي با كنه و تراكم گله را فاكتورهاي خطر براي عفونت با آناپلاسما مارجيناله دانستند و به اين نتيجه رسيدند كه انتقال عمودي نقش مهمي در شيوع بيماري در برزيل داشته است (۱۴). شرما و همكاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند سن بالاي يك سال و نواحي كوهپايه‌اي عوامل خطر آناپلاسموزيس مي‌باشند (۵۶). ساجيد و همكاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند كه شيوع آناپلاسموزيس در گاوميش بيشتر از گاو، در گوساله بيشتر از بالغين و در ماده‌ها بيشتر از نرها بود (۵۵). داسيلوا و فون سكا در سال ۲۰۱۴ نشان دادند تعداد شكم زايش، نژاد، زايمان، توليد شير، آلودگي با كنه و تراكم گله در ميزان شيوع *آناپلاسما مارجيناله* نقش دارند (۱۵). اتيف و همكاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند گاوهاي بيش از ۴ سال، گاوهاي آميخته، فاصله متوسط سم‌پاشي، تغذيه داخل دامداري، استفاده از سرسوزن‌هاي غيربهداشتي و مناطق در شيوع آناپلاسما مارجيناله دخيلند (۴). كاستا و همكاران در سال ۲۰۱۳ دفعات كم سم‌پاشي را در شيوع بالاي آناپلاسما مارجيناله دخيل دانستند (۱۲). اورداز-رودريگز و همكاران در سال ۲۰۰۹ چرا در مراتع و فقدان كنترل مگس‌ها را از عوامل شيوع آناپلاسما مارجيناله دانستند (۶۲). در ايران در بررسی انجام شده توسط نعمان و همكاران در سال ۲۰۱۵ مشخص شد كه در فراوانی گاوهای آلوده به آناپلاسما مارجيناله عواملی از قبيل دامداري‌هاي سنتي، تغذيه دام در چراگاه، سطح بهداشتي پايين دامداری، عدم استفاده از سر سوزن مجزا در تزريقات و واكسيناسيون، فاصله كمتر از يك كيلو متر دامداری‌ها و تماس با نشخوارکنندگان غير اهلي دخالت داشتند. ولی عواملی مانند حضور ناقلين مختلف، تراكم دام، نژاد دام، سن دام و جنس دام در فراوانی گاوهای آلوده به آناپلاسما مارجيناله دخالت نداشتند (۴۷).

نشانه‌های بالینی

گلبول‌های قرمز تنها محل شناخته شده آلودگی با آناپلاسما مارجيناله در گاو است (۵۴). به سلول‌های آلوده گنجيدگی‌های غشايی حاوی ۴ تا ۸ ريكتزيا چسبيده است و ۷۰ درصد يا بيشتر گلبول‌های قرمز در طول عفونت حاد ممكن است آلوده شوند (۲۶). دوره كمون بيماری(پيش آشكاری) بسته به تعداد ارگانيسمی كه بصورت دز عفونی وارد بدن می‌شود بين ۷ تا ۶۰ روز با ميانگين ۲۸ روز متفاوت است (۲۹، ۲۸). در طول اين مرحله حيوانات هنوز بدون علايم مي‌باشند. اولين نشانه باليني در طول مرحله پيشرفته بيماري هنگامي ظاهر مي‌شود كه بيش از ۱۵ درصد از گلبول‌های قرمز آلوده شوند. تب اولين يافته باليني است كه با بي‌اشتهايي، خمودگي و لاغري همراه مي‌شود اين مرحله بين ۴ تا ۹ روز به طول مي‌انجامد. بعد از تشخيص آلودگی گلبول قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز آلوده بطور تصاعدی افزايش مي‌يابد متعاقب آن گلبول‌های قرمز آلوده توسط سيستم رتيكولو اندوتليال فاگوسيت شده و در نتيجه كم‌خونی خفيف تا شديد و زردی بدون ظهور هموگلوبين در خون و ادرار ظاهر می‌شود (۳). در طول آناپلاسموزيس حاد سطح ريكتزيا تا 10^9 گلبول قرمز آلوده در ميلی‌ليتر می‌رسد و در نتيجه نشانه‌های كلينيكی شامل تب، كاهش وزن، سقط، لاغری مفرط، زردی و اغلب مرگ در حيوانات بالای ۲ سال مشاهده می‌شود. طول مرحله بهبودي از هفته‌ها تا ماه‌ها متفاوت است و از حضور رتيكولوسيت‌ها در خون محيطي تا برگشت فاكتورهاي خوني به حالت طبيعي متغير مي‌باشد. مرگ و مير ممكن است در ابتداي مرحله بهبودي حادث شود (۶۱، ۲۷).

بهبودی از آناپلاسموزيس حاد باعث عفونت پايدار می‌شود كه در اثر سيكل‌های متوالی، ريكتزميا تقريباً به 10^2 تا 10^7 گلبول قرمز آلوده در ميلی‌ليتر می‌رسد و سطح ارگانيسم در حدي نيست كه به روش

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱- درصد شیوع *آناپلاسما مارجیناله* در گاوهای ایران و کشورهای مختلف در ۵ سال اخیر با روش های مختلف

منبع	سال	روش شناسایی	شیوع (درصد)	تعداد گاو (راس)	کشور
(۱)	۲۰۱۱	RLB,(۱۶SrRNA gene)	۲/۸	۳۸۹	ترکیه ۶ استان
(۷)	۲۰۱۱	PCR	۶/۱	۶۹۲	سودان ۶ ایالت
(۵۷)	۲۰۱۵	PCR msp۱β gene	۶/۳	۱۶۵	هند شرق پنجاب
(۶۰)	۲۰۱۲	Giemsa-stained Peripheral blood smears	۸/۵۳	۸۶۲	هند، پنجاب
(۶۳)	۲۰۱۳	PCR (msp۵ gene)	۸/۷	۳۰۰	مغولستان
(۲۳)	۲۰۱۴	cELISA	۱۵/۰۲	۱۲۰۰۰	تگزاس
(۳۵)	۲۰۱۳	PCR	۱۶/۶	۱۵۰	جنوب هند
(۶۵)	۲۰۱۴	msp۱a	۱۹/۸	۶۵۸	فیلیپین ۶ استان
(۲۴)	۲۰۱۲	nPCR	۲۱/۹	۶۶۸	مراکش، شمال
(۴۷)	۲۰۱۵	PCR (msp۴ gene)	۲۴/۱	۹۵۶	ایران ۹ استان
(۶۶)	۲۰۱۶	PCR (msp۴ gene)	۲۹/۱	۱۹۶	ترکیه ۶ استان
(۸)	۲۰۱۵	PCR (۱۶S rRNA gene)	۳۴/۹	۲۳۲	تونس، شمال
(۳۰)	۲۰۱۲	PCR	۳۸	۶۷	آنگولا، مرکز
(۳۶)	۲۰۱۵	RLB	۴۲/۷	۴۵۳	کنیا، غرب
(۵۹)	۲۰۱۲	PCR (msp۵ gene)	۴۵/۲	۵۷	هند، پنجاب
(۳۳)	۲۰۱۵	PCR (msp۵ gene)	۵۰	۱۹۲	کنیا
(۳۴)	۲۰۱۴	PCR (msp۱a gene)	۵۶	۲۵۰	آفریقای جنوبی
(۲۵)	۲۰۱۲	ELISA	۵۷/۶	۸۰۵	سودان جنوبی
(۵۸)	۲۰۱۲	real-time PCR	۵۹/۹	۴۹۹	کاستاریکا
(۱۰)	۲۰۱۴	PCR	۶۰/۶	۳۳	برزیل،سانتاکاتارینا
(۲)	۲۰۱۴	nPCR	۶۳	۳۰۹	برزیل، باهیا
(۶۴)	۲۰۱۳	PCR (۱۶S rRNA gene)	۶۶/۷	۱۲	فیلیپین
(۲۲)	۲۰۱۵	PCR (RT-qPCR)	۸۲	۱۱گله	آمریکا، تگزاس
(۵۱)	۲۰۱۵	PCR (۱۶S rRNA gene)	۹۵/۵	۳۳۹	فیلیپین،جزیره لوزون

www.SID.ir

Archive of SID

میکروسکوپیك قابل تشخیص باشد. گاوهاي حامل در هنگام استرس نشانه‌هاي کلینیکي را بروز مي‌دهند. باقي ماندن آلودگي در میزبان اولیه علت دوام آلودگي است چون انتقال عمودي از طریق تخمدان در کنه‌هاي ناقل آناپلاسموزیس اتفاق نمي‌افتد (۲۶، ۵) (شکل ۱).

گاوهایی که آلودگی دایمی دارند (حامل) ایمنی طولانی مدت کسب کرده و نسبت به بیماری کلینیکی و مواجهه با عامل بیماری مقاومت نشان می‌دهند. به هر حال گاوهایی که آلودگی دایمی دارند به عنوان مخزن آناپلاسما مارجیناله عمل می‌کنند زیرا این حیوانات منبع آلودگی خونی برای انتقال مکانیکی و بیولوژیکی عامل بیماری توسط کنه‌ها می‌باشند. نژادهای بوس تاروس (Bos Taurus) (مثل هولشتاین، براون سوئیس یا هرفورد) نسبت به گاوهای دو رگ زبو(Zebu) یا کروله (Creole) حساسترند و بیشترعلایم آناپلاسموزیس حاد را نشان می‌دهند (۲۸). گوساله‌ها حساسیت کمتری نسبت به آناپلاسما مارجیناله دارند و در هنگام عفونت کمتر نشانه‌های بالینی را نشان می‌دهند. علت این حالت به خوبی مشخص نشده است ولی برداشت طحال در گوساله باعث حساسیت شدید آن‌ها نسبت به بیماری می‌شود و آناپلاسموزیس در گوساله‌هایی که طحال آن‌ها برداشته شده است شدیدتر است از آنچه در گاوهای مسن مشاهده می‌شود. به هر حال زمانی که گوساله‌ها آلوده می‌شوند عفونت دایمی در بدن آن‌ها ایجاد شده و در طول مدت زندگی ایمن می‌شوند (۲۶).

کالبدگشایی

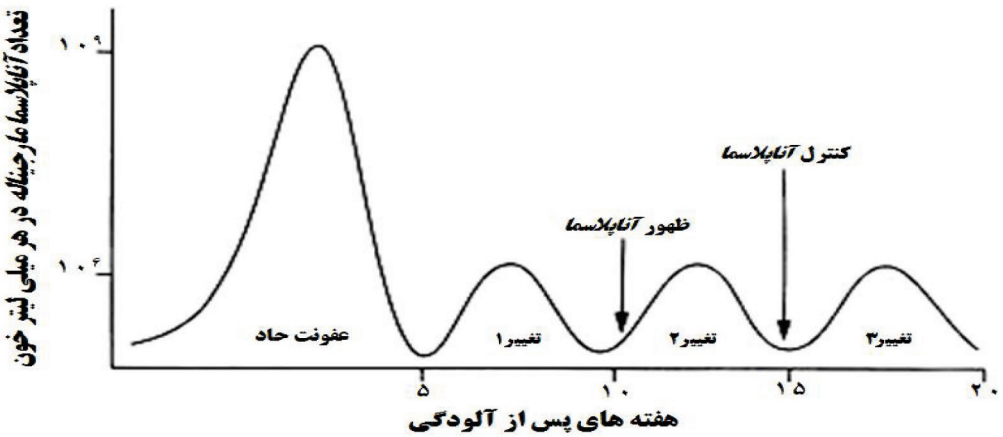
در کالبدگشایي کم‌خوني یکي از مشخص‌ترین تغییراتي است که از نظر آسیب‌شناسي قابل تشخیص است. جراحات دیگر عبارتند از زردي مخاطات، بزرگ‌شدن طحال و انسداد کیسه صفرا و گاهي روي آب شامه قلب لکه‌هاي خون دیده مي‌شود. ماهیچه قلب رنگ پریده، سست و نرم مي‌باشد. که به رنگ زرد یا قهوه‌اي است. غدد لنفي بطني و کبد متورم، قهوه‌اي رنگ و در برش، مرطوب بنظر مي‌رسند. در آزمایشات میکروسکوپي استحاله‌اي شدن ماهیچه قلب، هموسیدروز (Hemosiderosis) کلیه و کبد و گویچه‌هاي قرمز بیگانه‌خوار شده مشهود است (۶۱، ۲۶).

تشخیص تفریقی

این بیماري باید از تمام بیماري‌هایي که باعث کم‌خوني مي‌شوند تفریق شود و اشکال فوق حاد بیماري در گاو باید از بیماري‌هایي مانند سیاه زخم، پاستورلوزیس، شاربن علامتي، لپتوسپیروزیس و برخي مسمومیت‌ها تشخیص تفریقي داده شود (۲۶). این بیماري باید از بیماري‌هاي حاصله توسط سایر تك یاخته‌هاي انگل خون مانند تیلریوزیس و بابزیوزیس نیز تفریق شود در این موارد علاوه بر اشکال متفاوت هر کدام در زیر میکروسکوپ، در آناپلاسموزیس کم خوني دیده مي‌شود ولي تورم گره‌هاي لنفاوي، هموگلوبینوري و هماتوري وجود ندارد و مي‌توان بر این اساس آناپلاسما را از تیلریا و بابزیا تفریق نمود (۵۲، ۶۱).

مشخصات زیستی و بیوشیمیایی

براي اینکه آناپلاسما در درون گلبول قرمز به بقا و رشد خود ادامه دهد،



تصویر شماره ۱: بعد از ایجاد پاسخ اولیه در سیستم ایمنی میزبان تعداد *آناپلاسما مارجیناله* که در مرحله حاد بیماری تا ۱۰^۹ گلبول قرمز آلوده در خون رسیده بود کاهش می یابد ولی در اثر تغییر آنتی ژنتیکی پروتئین سطحی اصلی ۲ (MSP2) در چرخه تکثیری *آناپلاسما مارجیناله* که تقریباً ۵ هفته بطول می انجامد میزان آلودگی تا ۱۰^۶ گلبول قرمز آلوده در خون (درگاوهایی که آلودگی پایدار دارند) می‌رسد و دوباره پاسخ ایمنی اختصاصی میزبان باعث کاهش و کنترل آلودگی می شود (۲۶)

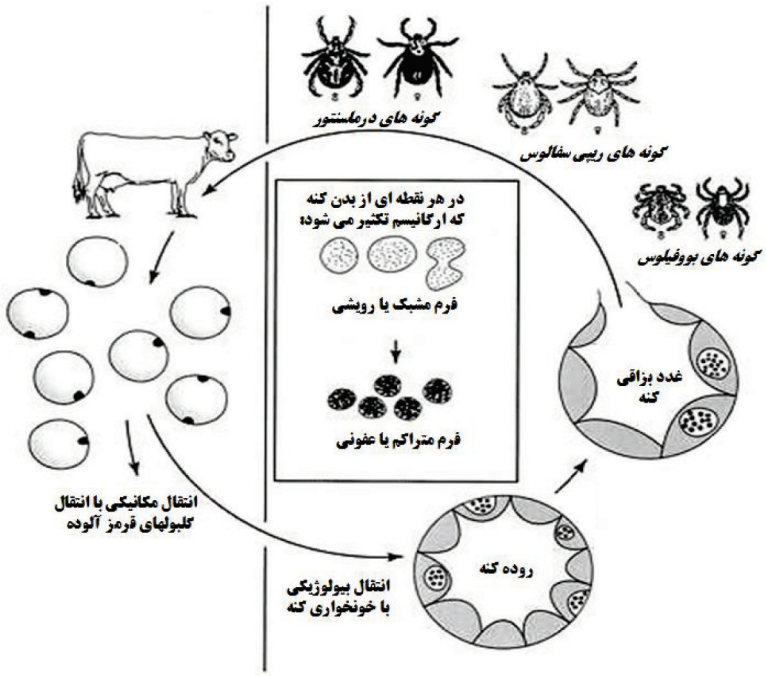
www.SID.ir

Archive of SID

لازم است که نياز آن از نظر رشد و نمو از حد قابل تحمل ميزبان تجاوز نکند. دخول و تکثير انگل بدون آسيب به ديواره گلبول قرمز انجام می‌شود، از اين رو سازش بين ميزبان و انگل از بدو امر پديد مي‌آيد. از طرفي در اثر حرکت اجسام اوليه مابين گلبول‌هاي قرمز، غشاء سلول آسيب نمي‌بيند و همچنين آناپلاسماها در هنگام خروج از گلبول‌هاي قرمز موجب انهدام آن‌ها نمي‌شوند. نتيجه برخورد و فعل و انفعالات انگل با غشاء سلول نشان دهنده کاهش غلظت فسفوليپيدها در ساختار گلبول‌های قرمز و بالا رفتن سياليك اسيد در سرم مي‌باشد. حذف و از بين بردن اجرام آناپلاسمايی در گردش خون در نتيجه بيگانه‌خواري گويچه‌هاي آلوده مي‌باشد. بيگانه خواري گويچه‌ها غيرآلوده که غالباً مشاهده مي‌شود احتمالاً در اثر تقويت واکنش ايمني خودي است (۲۸، ۲۶).

انتقال

انتقال آناپلاسما مارجيناله می‌تواند بصورت مکانيکی توسط نيش مگس‌ها يا وسايل آلوده به خون يا بصورت بيولوژيک توسط کنه‌ها انجام شود(۵۲، ۲۶). انتقال مکانيکی بطور متوالی از طريق وسايل آلوده به خون شامل سرسوزن، اره شاخ‌بری، حلقه بينی، وسايل خال‌کوبی، وسايل شماره‌زنی گوش و وسايل اخته کردن انجام می‌شود(۲۶). انتقال مکانيکی توسط بندپايان نيز گزارش شده است که توسط دوبالان جنس تابانوس (Tabanus)، استوموکسيس (Stomoxys)، پشه‌ها از جنس پزوروفورا (Psorophora) و شپش‌ها از جنس هماتوپينوس (Haematopinus) انجام می‌شود (۲۹، ۲۸، ۱۶). اين روش از انتقال مکانيکی در نواحی آمريکای مرکزی و جنوبی و آفريقا که ناقلين کنه‌ای وجود ندارند (۶) و در مکان‌هايی که بووفيلوس ميکروپلوس (*Boophilus microplus*) (کنه گاو در مناطق گرم) بعنوان ناقل بيولوژيک آناپلاسما مارجيناله شناخته نشده است به عنوان مهم‌ترين روش انتشار آناپلاسما مارجيناله می‌باشد. در برخی از نواحی آمريکا که ايزوله‌های جغرافيايی *آناپلاسما مارجيناله* قابليت آلوده کردن کنه‌ها را ندارند (برای کنه‌ها آلوده کننده نيستند) يا مناطقی که کنه‌ها توسط مورچه‌هاي آتشين (Fire ants) ريشه‌کن شده‌اند مشخص شده است که روش مکانيکی مهم‌ترين روش انتقال *آناپلاسما مارجيناله* می‌باشد (۵۲). علاوه بر انتقال مکانيکی و بيولوژيکی، آناپلاسما مارجيناله می‌تواند از گاو به گوساله از طريق جفت در طول آبستنی منتقل شود. برای مثال ۱۵/۶ درصد ميزان شيوع آناپلاسما در آفريقای جنوبی ناشی از انتقال رحمی است علاوه بر اين سالاباريا در سال ۱۹۸۸ نشان داد که ۴/۸۶ درصد از گوساله‌هاي بدنيا آمده از مادران مبتلا به آناپلاسما مارجيناله، آلوده بوده و ممکن است انتقال عمودي در اپيدميولوژي آناپلاسموزيس نقش بسزايي داشته باشد (۲۸، ۲۶، ۱۴). انتقال بيولوژيک *آناپلاسما مارجيناله* توسط کنه انجام می‌شود و تقريباً ۲۰ گونه کنه در کل جهان بعنوان ناقل در نظر گرفته شده‌اند انتقال توسط کنه می‌تواند مرحله به مرحله (transstadial) يا در يک مرحله (intrastadial) باشد در حالی که انتقال از طريق تخمدان (trans ovarial) از يک کنه به نسل بعدی هنوز مشخص نشده است (۲۹، ۲۶).



تصوير شماره ۲: خلاصه‌ای از چرخه زندگی *آناپلاسما مارجيناله* در گاو و کنه (۲۶)

www.SID.ir

Archive of SID

چرخه زندگی

چرخه زندگی *آناپلاسما مارجیناله* در کنه‌ها پیچیده است و متناسب با سیکل تغذیه کنه می‌باشد. گلبول‌های قرمز گاو با خون‌خواری وارد بدن کنه شده و منبع آلودگی برای سلول‌های روده کنه می‌باشند. پس از رشد آناپلاسما مارجیناله در سلول‌های روده کنه بسیاری از بافت‌های کنه مثل غدد بزاقی (محلی که ریکتزیا در هنگام تغذیه به مهره‌داران انتقال می‌یابد) آلوده می‌شوند. در هر نقطه آلوده بدن کنه *آناپلاسما مارجیناله* بصورت واکوئول‌ها یا کلونی‌های متصل به غشاء تکثیر می‌یابد. اولین فرم آناپلاسما مارجیناله فرم رویشي (vegetative) است که به صورت دوتایی تقسیم می‌شود و ایجاد کلنی‌هایی می‌کند که حاوی صدها ارگانیسم است. فرم شبکه‌اي (reticulated) سپس به فرم متراکم (dens) تبدیل می‌شود که فرم عفونی است و می‌تواند خارج از سلول‌های میزبان باشد. گاوها هنگامی به بیماري مبتلا می‌شوند که فرم متراکم در طول تغذیه کنه از غدد بزاقی به حیوان منتقل شود(۲۸، ۲۶) (شکل ۲).

تشخیص بیماری

شناسايي مستقيم عامل بيماری

تشخیص اجسام آناپلاسما در گسترش‌هاي خون و در زیر میکروسکوپ با رنگ‌آمیزي به طرق مختلف بخصوص گیمسا ممکن است در روزهاي اول قطعي نباشد، از روش‌هاي مختلف رنگ‌آمیزي مثل آبي تولوئیدین (Toluidin) و آکریدین (Acridine) نیز استفاده شده است، در بعضي از این رنگ آمیزي‌ها اجسام معروف به هاول جولي بادي (Howell jolly body) که در حقیقت اسیدنوکلئیك گویچه‌هاي قرمز نارس مي‌باشند و شباهت زیادي به آناپلاسما دارند نیز رنگ مي‌گیرند (۴۰، ۵۲).

برخلاف بابزیا بوویس، آناپلاسما مارجیناله در مویرگ‌ها تجمع نمي‌یابد و بهترین مکان‌ها براي نمونه‌گیري خون و تهیه گسترش خونی، رگ وداج و رگ‌هاي بزرگ مي‌باشند (۴۰، ۵۲).

مشاهده آناپلاسما در داخل گلبول قرمز در گسترش خون پس از رنگ‌آمیزي با گیمسا معمول‌ترین وسیله تشخیص بیماري است ولي باید مراقب بود ذرات رنگ در گسترش رسوب نکند و با آناپلاسما اشتباه نشود. پس از رنگ‌آمیزي با یکي از روش‌هاي رومانوسکي، آناپلاسما در درون گویچه‌هاي قرمز با ساختمان همگن و گرد به قطر ۰/۳ تا ۱ میکرون به رنگ آبي ارغواني دیده مي‌شود(۵۲). تشخیص زماني داراي اعتبار است که در گسترش‌هاي مناسب و با رنگ آمیزي خوب انجام شود. در صورتي که تعداد آناپلاسما در خون کم باشد با تزریق آن به حیواناتي که براي این منظور طحال آن‌ها برداشته شده و استفاده از خون آن‌ها مي‌توان این اجسام را در گسترش مشاهده نمود. در آزمایش خون مي‌توان به عوارض کم‌خوني از قبیل اختلاف ابعاد و اشکال گویچه‌ها و رنگ‌پذیري مخصوص در برخي گویچه‌ها توجه کرد (۳۸، ۳).

در دام‌هاي تلف شده مي‌توان از کبد، کلیه، قلب و ریه گسترش خوني نازك تهیه نمود و پس از رنگ‌آمیزي مورد بررسي قرار داد. از روش رنگ‌آمیزي فلورسنس آنتي‌بادي نیز مي‌توان براي تشخیص آلودگي پس از مرگ استفاده نمود. حساسیت این روش بیشتر از رنگ‌آمیزي گیمسا است ولي غیراختصاصي مي‌باشد. با این حال در تشخیص بیماري آناپلاسموزیس باید به مواردي نظیر تاریخچه واگیري، سابقه بیماري در منطقه و وجود بندپایان ناقل توجه کرد. همچنین احتمال وجود بیش از یك عامل در واگیري‌هایي که با کم خوني هموليتيك همراه است را نباید از نظر دور داشت (۵۲، ۶۱).

آزمون‌های سرمی

آزمون‌های سرولوژیکی شامل آزمون ثبوت مکمل (Complement fixation test) و کارد آگلوتیناسیون (Card agglutination test) معمول‌ترین آزمون‌ها برای تشخیص گاوهای آلوده به آناپلاسما مارجیناله در مزرعه می‌باشند و به عنوان آزمون‌هایی برای نقل و انتقال گاوها در یک کشور و جهت نقل و انتقالات بین‌المللی پذیرفته شده‌اند(۵۲، ۶). بعلاوه آزمون ایمیونو فلورسنت آنتی‌بادی و الیزا برای مطالعات اپیدمیولوژیک استفاده شده است(۵۲). تمام این آزمون‌ها برای تشخیص آنتی‌بادی بر اساس آنتی‌ژن خالص شده از آناپلاسما مارجیناله بوده است و فاقد حساسیت و ویژگی قابل اعتماد نسبت به آزمایش‌های ملکولی می باشند (۴۰).

۱-آزمون ثبوت مکمل

در ایالات متحده براي تشخیص حاملان روش ثبوت مکمل ابداع شد. این واکنش در گاو، گوسفند و بز نتایج رضایت بخشي داشته است. عیار پادتن در حیواناتي که در مرحله حاد بیماري هستند کاملاً بالاست ولي در حیوانات حامل پایین است و ممکن است در عده‌اي هم قابل تشخیص نباشد. در این آزمون ندرتاً در حیوان غیرآلوده نیز واکنش مثبت دیده شده که دلیل آن معلوم نیست. حیوانات واکسینه تا مدت یك سال در برابر تمام آزمایشات سرمي واکنش مثبت نشان مي‌دهند. اگر چه براي چندین سال از این آزمون جهت تشخیص آناپلاسموزیس استفاده مي‌شد ولي این آزمون فاقد حساسیت و داراي نقص در تشخیص گاوهای حامل مي‌باشد(۵۲، ۴۳).

۲- آزمون کارد آگلوتیناسیون

مزایاي این آزمون حساسیت مورد قبول و امکان انجام در آزمایشگاه و مزرعه و دستیابي به نتایج در کمتر از پنج دقیقه مي‌باشد (۲۶، ۵۲).

۳- آزمون الیزاي رقابتي (Competitive enzyme-linked immunosorbent assay)

این آزمون با استفاده از آنتي‌ژن نوترکیب MSP۵ و آنتي‌بادي منوکلونال اختصاصي MSP۵ طراحي شده و حساسیت و ویژگي بالایي در تشخیص حیوانات آلوده به آناپلاسما دارد(۵۲). تمام گونه‌هاي آناپلاسما مارجیناله، آناپلاسما اوویس و آناپلاسما سنتراله آنتي ژن MSP۵ را بیان مي‌کنند که حاوي اپي‌توپي است که توسط آنتي‌بادي منوکلونال MSP۵ مورد شناسایي قرار مي‌گیرد و تحریك‌کننده ایمني است. در آزمایش‌هاي انجام شده حساسیت این آزمون ۱۰۰ درصد و ویژگي این آزمون ۹۵ درصد ذکر شده است. اگرچه این آزمون توسط سازمان جهانی بهداشت دام جهت تشخیص آناپلاسموزیس گاوی توصیه شده است ولی با این آزمون نمی‌توان گونه‌های مختلف را از همدیگرتفریق نمود (۵۲، ۱۸). راه‌اندازی آزمون الیزاي رقابتی با استفاده از پروتئین سطحی نوترکیب (rMSP۵) نشان داده است که این آزمون سرولوژیکي حساسیت بالایی جهت تشخیص آناپلاسموزیس در نواحی مختلف و جداگانه جغرافیایی دارد. ژن MSP۵ در تمام ایزوله‌های جغرافیایی آناپلاسما مارجیناله بدون تغییر است و ثابت شده که یک آنتي‌ژن تشخیصي خوب است (۵۲).

www.SID.ir

Archive of SID

۴- آزمون اليزاي غيرمستقيم (Indirect enzyme-linked immunosorbent assay)

آزمون اليزاي غيرمستقيم بر پايه استفاده از گلبول قرمز طبيعي به عنوان آنتي‌ژن منفي و گلبول قرمز آلوده به آناپلاسما مارجيناله به عنوان آنتي‌ژن مثبت استوار است و براي تشخيص سرم‌هاي مثبت آناپلاسما مارجيناله قابل اعتماد است. اگر چه اين آزمون نسبت به آزمون‌هاي تك آنتي‌ژني دشوارتر است ولي اين آزمون واكنش‌هاي غيراختصاصي ناشي از ايزو آنتي‌بادي‌هايي كه عليه اجزاء گلبول‌هاي قرمز ايجاد مي‌شود را حذف مي‌كند (۵۲).

۵- آزمون دات‌اليزا (Dot enzyme-linked immunosorbent assay)

دات ايزا نسبت به اليزا سريع‌تر، ارزان‌تر و راحت‌تر انجام خواهد شد. دات اليزا حساسيت ۹۳ درصد و ويژگي ۹۶ درصد دارد (۶).

روش‌های ملکولی

استفاده از تكنيك‌هاي ملكولي در تشخيص گونه‌هاي آناپلاسما در خون دام‌ها و كنه در حال افزايش است. در مطالعات اخير آناليز توالي ژن ۱۶S rRNA جهت تعيين گونه در نمونه‌هاي خوني راحت و مناسب تشخيص داده شده است (۴۰). اريك و همكاران در سال ۱۹۸۹ كاوشگري را طراحي كردند كه اختصاصي ژن آناپلاسما مارجيناله بود و مي‌توانست ۵۰۰ الي ۱۰۰۰ گلبول قرمز را در نيم ميلي‌ليتر خون تشخيص دهد كه معادل ۰/۰۰۰۰۲۵ درصد پاريزيتمي بود. اين روش ۴۰۰۰ برابر حساس‌تر از ميكروسكوپ نوري است (۲۰). توريوني و همكاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند nPCR توانايي تشخيص كمتر از ۳۰ گلبول قرمز آلوده را در ميلي‌ليتر دارد و تشخيص گاوهايي با آلودگي پايدار و سطح پايين ريكتزميا با nPCR امكان‌پذير است. گئورگ و همكاران در سال ۲۰۰۱ و بكر و همكاران در سال ۲۰۰۲ با استفاده از قسمت (V۱) ۱۶SrRNA ارليشيا و آناپلاسما آزمايش RLB طراحي نمودند و ادعا كردند كه در اين روش در بين گونه‌هاي مختلف وا كنش متقابلي ديده نمي‌شود ولي اين روش براي تعيين حيوانات حامل توانايي كمي دارد (۲۱). كارلي و همكاران در سال ۲۰۰۷ آزمايش real time PCR را جهت تشخيص آلودگي آناپلاسما مارجيناله گاو پايه‌گذاري كردند كه بسيار اختصاصي بود و واكنش متقابلي در گونه‌هاي آناپلاسماي نشخواركنندگان ديده نشد. محدوديت‌هاي تشخيصي در خصوص real time PCR مانند n-PCR بود. در اين تحقيق هماهنگي بين real time PCR و n-PCR ۱۰۰ درصد ارزيابي شد (۱۱). مولاد و همكاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند كه RLB و n-PCR مي‌توانند تا ۵۰ گلبول قرمز آلوده را در يک ميلي‌ليتر خون تشخيص دهند (۳۲).

در ايران تا سال ۲۰۰۹ مطالعات در خصوص شناسايي گونه‌هاي آناپلاسما منحصر به بررسي گسترش‌هاي خوني رنگ‌آميزي شده با گيمسا بوده است. نعمان و شايان در سال ۲۰۱۰ و نعمان در سال ۲۰۱۳ با استفاده از قسمت (V۱) ژن ۱۶SrRNA روش RFLP -PCR را در خصوص شناسايي *آناپلاسما مارجيناله* ابداع نمودند كه مي‌توانست *آناپلاسما مارجيناله* را از *آناپلاسما اوويس* و *آناپلاسما سنتراله* تفريق كند (۴۳، ۴۶). در مقايسه مشاهده ميكروسكوپي(۵۰ و ۱۰۰ فيلد) و آزمون ملكولي انجام شده توسط نعمان و شايان در سال ۲۰۱۰ به ترتيب آزمون‌هاي بررسي ۵۰ و ۱۰۰ فيلد ميكروسكوپي گسترش‌هاي خوني رنگ‌آميزي شده داراي حساسيت ۲۸/۸ و ۹۱/۴ درصد و ويژگي ۹۹ و ۷۶/۱ درصد بودند (۴۰).

ايمني در آناپلاسموزيس

بررسي‌هاي زيادي از نظر پيدايش ايمني در آناپلاسموزيس انجام يافته و اطلاعات قابل توجهي بدست آمده است. بطور كلي نظر محققاني مثل ريستيك و بوئينينگ و ديگران آن است كه عفونت شديد حاصل از آناپلاسما مارجيناله موجب ايجاد واكنش ايمني هومورال و سلولي مي‌شود. تزريق واكسن‌هاي غيرفعال توأم با مواد روغني(ياور) منتج به پاسخ پادتني و همچنين حساسيت پوستي مي‌شود و اين حالات تا حدودي در ارتباط با تركيبات آنتي‌ژن‌هاي حاصل از گويچه‌هاي قرمز مي‌باشد در حالي كه تلقيح واكسن زنده موجب ايمني در مقابل آناپلاسما مي‌شود ولي حساسيت پوستي ايجاد نمي‌كند (۲۸، ۲۷).

بطور كلي حالات ايمني در مقابل آناپلاسموزيس بدين‌گونه تعريف مي‌شود:

الف – مقاومت طبيعي مربوط به نوع حيوان: اين حالت مربوط به عدم حساسيت گونه‌هايي از حيوانات مي‌باشد كه بطور ذاتي در مقابل آناپلاسما مقاومند، مانند خرگوش كه به هيچ وجه نمي‌توان آن را مبتلا كرد.

ب – مقاومت طبيعي ناشي از خصوصيات انتقالي يا ارثي برخي از حيوانات حساس مثل دام‌هاي جوان كه با عفونت آناپلاسمايي مواجه گشته ولي نشانه‌هاي بيماري ظاهر نمي‌شود. علت اين مقاومت طبيعي روشن نيست و چنين بيان مي‌كنند كه در اين حيوانات نسبت تراكم بافت رتيكولواندوتليال به وزن بدن حيوان بيش از دام‌هاي پير است و قدرت فعاليت سازندگي گويچه‌هاي قرمز و جانشين كردن آن‌ها بيشتر است (۲۸).

ج – ايمني اكتسابي در آناپلاسموزيس: ايمني اكتسابي به حالتي مي‌گويند كه در اثر مواجه شدن دام با آنتي ژن‌هاي آناپلاسمايي حاصل شده باشد. اين برخورد از راه‌هاي مختلف تأمين مي‌شود، مثلاً با تزريق خون آلوده و تحت درمان قرار دادن دام در فواصل معين، در اين حالت ايمني پس از آلودگي قبلي تأمين مي‌شود و يا چنين حالتي را با تزريق خود اجسام آناپلاسمايي غيرفعال و يا آنتي‌ژن‌هاي آن‌ها در حيوان سالم بوجود مي‌آورند. در اين صورت ايمني بدون توليد عفونت حاصل شده است و يا نوعي ديگر ايمني ديده مي‌شود و آن هم در اثر بقاي عفونت در حيواني است كه در مقابل آلودگي اوليه مقاومت كرده است، چنين حالتي كه دام را در مقابل عفونت‌هاي ثانويه در امان نگه مي‌دارد، پيش زينهاري مي‌نامند (۲۸، ۲۷).

د- بقاياي آناپلاسما در بدن ميزبان پيش زينهاري يافته: ضمن اينكه پيدايش ايمني ادامه زندگي ميزبان را امكان‌پذير مي‌سازد، موجب نشو و نماي مداوم و انتقال آناپلاسما نيز مي‌شود. حالت تعادل زيستي بين انگل كه آن را همزيستي متحمل (Tolerant symbiosis) نيز ناميده‌اند، بقاي انگل را تضمين نموده و در مقابل، ميزبان نيز در برابر آناپلاسماهايي مشابه كه در محيط زيست دام يافت مي‌شود به نحوي در امان مي‌ماند. مكانيسم يا طرز عمل آناپلاسما به منظور جلوگيري از انهدام خود در بدن ميزبان ايمن، متفاوت است. آناپلاسما انگل اجباري درون سلولي است و در اين شرايط در مقابل اثر مستقيم و نفوذ پادتن بخوبي حفظ مي‌شود (۲۸، ۲۷). *آناپلاسما مارجيناله* باعث عفونت پايدار مي‌شوندكه براي انتقال ارگانيسم از طريق كنه به حيوانات حساس بسيار مهم مي‌باشد. دليل توانايي ايجاد عفونت پايدار بعلت تنوع ژنتيكي وسيع در پروتئين ايمني‌زاي سطحي

www.SID.ir

Archive of SID

MSP۲ و MSP۳ برای آناپلاسما مارجیناله می‌باشد و بدین ترتیب از پاسخ ایمنی میزبان فرار می‌کنند. در طول عفونت پایدار، آناپلاسما مارجیناله بطور متوالی اپیتوپ‌های پروتئین MSP۲ که به سلول‌های B و T ارائه می‌شوند را تغییر داده و از تاثیر IGg۲ و سلول‌های T cell CD۴+ که قبلاً تولید شده بودند می‌گریزد (۹).

اقدامات کنترلی آناپلاسموزیس

اقدامات کنترلی برای آناپلاسموزیس در طول ۵۰ سال گذشته تغییر مشخصی پیدا نکرده است. اقدامات کنترلی اخیر با موقعیت جغرافیایی تغییر می‌یابد و شامل کنترل بندپایان بوسیلهٔ استفاده از سموم کنه‌کش، تجویز آنتی‌بیوتیک، پاک نگهداشتن گله از آناپلاسما و واکسیناسیون است. استفاده از روش‌های کنترلی تحت تأثیر در دسترس بودن ابزار، هزینه و عملی بودن کار می‌باشد (۲۸، ۲۷).

الف-کنترل بندپایان

کنترل بندپایان برای آناپلاسموزیس شامل کنترل کنه‌ها و مگس‌های گزنده است که شدیداً پرزحمت و پرهزینه می‌باشد. آلودگی محیط بوسیله سموم مسألهٔ بسیار مهمی است و تکرار استفاده از کنه‌کش‌ها می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در جمعیت کنه‌ها و مگس‌ها و باعث افزایش خطر ایجاد جمعیت گاوهای حساس شود. در نواحی و مناطق اندمیک قطع استفاده از کنه‌کش‌ها اجازه می‌دهد که گاوهای حساس در خطر آلوده شدن قرار گیرند و این ممکن است به شیوع وسیع بیماری منجر شود.

اگرچه در آفریقا از کنه‌کش‌ها جهت کنترل کنه بطور گسترده‌ای استفاده می شود، ولي در ایالات متحده آمریکا در مناطقي که بطور همزمان کنه‌ها و مگس‌های گزنده در گسترش آناپلاسموزیس دخیل می‌باشند این روش بندرت استفاده می‌شود (۲۸، ۲۷).

طبیعي است براي از بین بردن کنه‌ها بر اساس چرخه زندگی آن‌ها روش‌هاي متفاوتي باید بکار برده شود تا بازدهي لازم را داشته باشد. در مورد کنه‌هاي يك ميزبانه بکارگیری سمپاشي یا حمام ضدکنه به فواصل هر ۲۱ روز یا هر ۱۲ روز یکبار، مبارزه بسیار مؤثر و سطح بالایي خواهد بود که هر چه این فواصل بیشتر شود مبارزه در سطح پایین‌تري خواهد بود. در مجموع اینگونه بنظر مي‌رسد که براي مبارزه با کنه‌هاي چند میزبانه لازم است در مناطق آلوده هفته‌اي یکبار سمپاشي شود تا تمام کنه‌ها از بین بروند. براي مبارزه با کنه‌هاي نرم چون فقط دوره کوتاهي در بدن دام بصورت انگل بسر مي‌برند باید در محل اختفاي آن‌ها اقدام کرد و آن‌ها را در پناگاه خود از بین برد. مي‌توانیم براي این کار محل کنه‌ها را با يك کنه‌کش غلیظ آغشته کنیم و مي‌توان این کنه‌ها را از پناهگاه خود بیرون کشید و سپس آن‌ها را نابود کرد (۲۸، ۲۶).

ب- درمان

درمان دارویی از آناپلاسموزیس کلینیکی جلوگیری می‌کند ولی گاوها را از عفونت‌های پایدار با آناپلاسما مارجیناله حفظ نمی‌کند. علاوه بر این گاوهایی که آنتی‌بیوتیک درمانی می‌شوند ممکن است از آلودگی پاک نشوند.

تجویز تتراسایکلین‌ها به گاو از طریق تزریق، خوراکی یا مکمل‌های غذایی انجام می‌شود. هنگامی که به غذا اضافه می‌شوند یا از طریق مکمل‌های غذایی داده می‌شوند دادن مقادیر یکسان دارو به هر گاو مشکل است. تتراسایکلین‌ها بطور وسیعی در برخی از مناطق آمریکا استفاده می‌شوند اما بندرت در دیگر نواحی دنیا استفاده شده‌اند. در آمریکا، آنتی‌بیوتیک‌ها ابزار کنترلی مهمی می‌باشند زیرا واکسن‌های کشته در بازار وجود ندارند. اگرچه مقاومت آناپلاسموزیس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها هنوز گزارش نشده است ولي تجویز تتراسایکلین داراي معایبي است که شامل نیاز به تغذیه‌ی مداوم از آنتی‌بیوتیک و خطر گسترش مقاومت نسبت به آناپلاسموزیس می‌باشد (۲۸، ۲۷).

ج- پاك نگه داشتن گله از آناپلاسما مارجیناله

با توجه به اینکه گاوهاي حامل منبع عفونت براي گله مي‌باشند در نواحی که آناپلاسموزیس اندمیک نیست با جلوگیری از ورود گاوهای حامل آناپلاسموزیس به گله کنترل آناپلاسموزیس امکان‌پذیر است. این روش کنترلی به علت عدم وجود آزمون‌های سرولوژیکی با حساسیت بالا که بتوانند سطوح پائین عفونت را در گاوهای حامل تشخیص دهند با مشکل مواجه شده است (۲۸، ۵۲).

د- واکسیناسیون

به علت ایجاد ایمنی طولانی مدت، از واکسیناسیون بطور وسیعی برای کنترل آناپلاسموزیس در اغلب نقاط دنیا استفاده شده است و این روش مؤثرترین روش کنترلی برای آناپلاسموزیس است. واکسیناسیون با واکسن‌های زنده و مرده باعث جلوگیری از ابتلا و مرگ و میر ناشی از بیماری می‌شود ولی باعث جلوگیری از آلوده شدن پس از رویارویی با عامل بیماری نمی‌شود. بنابراین گاوهای ایمنی‌شده می‌توانند با کسب عفونت‌هاي مزرعه‌اي، عفونت پایدار ایجاد نموده و ممکن است بعنوان مخزن *آناپلاسما مارجیناله* برای انتقال بیولوژیکی و مکانیکی باشند. خون آلوده منبع آلودگی یا آنتی‌ژنتیکی واکسن‌های زنده و کشتهٔ آناپلاسموزیس می‌باشد. واکسن‌های مشتق از خون دارای مضراتی می‌باشند زیرا استاندارد کردن آن‌ها مشکل است و خطر انتقال دیگر عوامل بیماری‌زای گاوی که در هنگام جمع‌آوری خون بصورت مخفی می‌باشند را دارند. علاوه بر این در تولید واکسن‌های کشته مشتق از خون، جداسازی سلول‌های گاوی از آنتی‌ژن و تخلیص آنتی‌ژن دشوار است و این مواد ممکن است باعث اثرات جانبی شوند. از همه مهم‌تر اینکه جدایه‌های *آناپلاسما مارجیناله* در هر منطقه اغلب ایمنی محافظتی نسبت به دیگر جدایه‌ها ایجاد نمی‌کنند و واکسن تولید شده ممکن است محدود به منطقهٔ جغرافیایی خاص باشد(۲۸، ۲۷).

نتیجه گیری

بر اساس آمار معاونت امور تولیدات دامي وزارت جهاد کشاورزي در سال ۱۳۹۴ تعداد ۱۰۳۲۰۰۰ گاو اصیل، ۴۳۱۵۰۰۰ گاو آمیخته، ۲۸۴۲۰۰۰ گاو بومي، ۲۰۴۰۰۰ گاومیش، ۱۷۱۰۰۰ شتر، ۴۷۹۳۱۰۰۰ گوسفند و ۱۹۹۶۷۰۰۰ بز در ایران وجود داشته است. که این جمعیت دامي ۹۱۴۰ هزار تن شیر و ۸۰۶ هزار تن گوشت قرمز را در سال ۱۳۹۴ تامین کرده‌اند(۵۰). حفظ و نگهداري این جمعیت دامي جهت تامین امنیت غذایي از

www.SID.ir

Archive of SID

وظايف وزارت جهاد كشاورزي مي‌باشد. بيماري‌هاي منتقله از كنه از جمله آناپلاسموزيس يكي از بيماري‌هايي است كه اين جمعيت دامي را مورد تهديد قرار داده است ولي در ايران اطلاعات ناچيزي در خصوص اپيدميولوژي بيماري در دسترس است. با توجه به شيوع نسبتاً بالاي (۲۵ درصدی) *آناپلاسما مارجيناله* در گاوهای ايران لازم است تدابير خاصی در خصوص اين بيماری انديشيده شود. اگر چه ريشه‌كني اين بيماري در اكثر كشورها از جمله ايران در حال حاضر عملي بنظر نمي‌رسد ولي جهت كنترل بيماري در مناطق آلوده رعايت موارد زير ضروری است:

۱. شناسايی ناقلين *آناپلاسما مارجيناله* به روش‌های ملكولی
۲. كنترل و ريشه‌كني ناقلين بيماري با سم‌پاشي و كنترل بيولوژيكي
۳. دقت در عدم انتقال عامل بيماري با وسايل تزريق يا جراحي و تعويض و استريل كردن لوازم و وسايل براي استفاده در هر مورد
۴. دقت در انتقال گله‌هاي حساس به مناطق پر خطر و يا انتقال دام‌هاي بيمار و ناقل به مناطق عاري از بيماري
۵. انجام تحقيقات جهت بومی‌سازي ساخت كيت تشخيص سرمي آناپلاسما
۶. انجام تحقيقات جهت ساخت واكسن ضد *آناپلاسما مارجيناله*
۷. تاسيس آزمايشگاه ملی تشخيص آناپلاسما و ريكتزيا

منابع مورد استفاده

1. Aktas, M., K. Altay and N. Dumanli. 2011. Molecular detection and identification of Anaplasma and Ehrlichia species in cattle from Turkey. *Ticks and tick-borne diseases* 2(1):62-65.

2. Amorim, L.S., A. A. Wenceslau, F. S. Carvalho, P. L. S. Carneiro and G. R. Albuquerque. 2014. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária* 23(3):328-336.

3. Atif, F. A., M. S. Khan, H. J. Iqbal and T. Roheen. 2012. Prevalence of tick-borne diseases in Punjab (Pakistan) and hematological profile of *Anaplasma marginale* infection in indigenous and cross-bred cattle. *Pakistan Journal of Science* 64:11–15.

4. Atif, F. A., M. S. Khan, F. Muhammad, and B. Ahmad. 2013. Seroepidemiological study of *Anaplasma marginale* among cattle. *Journal of Animal and Plant Sciences* 23:740–744.

5. Atif, F.A., 2015. *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*: Rickettsiales pathogens of veterinary and public health significance. *Parasitology research* 114(11): 3941-3957.

6. Aubry, P. and D. W. Geale. 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transboundary and emerging diseases* 58:1–30.

7. Awad, H., S. Antunes, R. C. Galindo, V. E. do Rosario, J. De la Fuente, A. Domingos and El Hussein, A. M. 2011. Prevalence and genetic diversity of Babesia and Anaplasma species in cattle in Sudan. *Veterinary parasitology* 181(2):146-152.

8. Belkahia, H., M. B. Said, A. Alberti, K. Abdi, Z. Issaoui, D. Hattab, M. Gharbi and L. Messadi. 2015. First molecular survey and novel genetic variants' identification of *Anaplasma marginale*, *A. centrale* and *A. bovis* in cattle from Tunisia. *Infection Genetics and Evolution* 34:361-371.

9. Brown, W.C. 2008. Unraveling the immune regulatory mechanisms imposed by Anaplasma.*Veterinary Journal* 175(1):1-10.

10. Canever, M.F., L. L.Vieira, C. Reck, L Richter and L.C. Miletti. 2014. First evaluation of an outbreak of bovine babesiosis and anaplasmosis in Southern Brazil using multiplex PCR. *The Korean journal of parasitology* 52(5):507.

11. Carelli, G., N. Decaro, A. Lorusso, G. Elia, E, Lorusso, V, Mari, L. Ceci and C. Buonavoglia. 2007. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. *Veterinary Microbiology* 124:107-104.

12. Costa, V. M. D. M., M. F. B. Ribeiro, A. L. L. Duarte, J. M. Mangueira, A. F. A. Pessoa, S. S. Azevedo and M. B. Labruna. 2013. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária,* 22(2): 207-213

13. da Silva, J. B. and A. H. da Fonseca. 2013. Analysis of the risk factors related to the immune humoral anti-*Anaplasma marginale* in dairy cattle. Semina: Ciencias Agrarias, 34(2): 777-784

14. da Silva, J. B., G. N. de Santana Castro and A. H. Fonseca. 2014. Longitudinal study of risk factors for anaplasmosis and transplacental transmission in herd cattle. Semina: Ciências Agrárias, 35(4Supl): 2491-2500

15. da Silva, J. B., and A. H. da Fonseca. 2014. Risk factors for anaplasmosis in dairy cows during the peripartum. *Tropical animal health and production,* 46(2): 461-465

16. da Silva, A.S., L.S. Lopes, J.D.S. Diaz, A.A. Tonin, L. M. Stefani and D.N. Araujo. 2013. Lice outbreak in buffaloes: evidence of *Anaplasma marginale* transmission by sucking lice *Haematopinus tuberculatus. The Journal of parasitology* 99:546–547.

17. de la Fuente, J., R. A. Van Den Bussche, T. Prado and K. M. Kocan 2003. *Anaplasma marginale* major surface protein 1 genotypes evolved under positive selection pressure but are not a marker for geographic isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 41:1609-1616.

18. Dreher, U.M., J. de la Fuente, R. Hofmann-Lehmann, M. L. Meli, N. Pusterla, N., K. M. Kocan, Z. Woldehiwet, U. Braun, G. Regula, K. D. C. Staerk and H. Lutz. 2005. Serologic cross reactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12:1177–1183.

19. Dumler, J. S., A. F. Barbet, C. P. J. Bekker, G. A. Dasch, G. H. Palmer, S. C. Ray, Y. Rikihisa and F. R. Rurangirwa. 2001. Reor-

www.SID.ir

Archive of SID

ganization of the 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. The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:2145-2165.

20. Eriks, I. S., G. H. Palmer, T. C. McGuire, D. R. Allred and A. F. Barbet. 1989. Detection and quantitation of *Anaplasma marginale* in carrier cattle by using a nucleic acid probe. J*ournal of Clinical Microbiology* 27(2):279-84.

21. Georges, K., G.R. Loria, S. Riili, A. Greco, S. Caracappa, F. Jongejan and O. Sparagano. 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Veterinary Parasitology* 99(4):273-86.

22. Hairgrove, T., M. E. Schroeder, C. M. Budke, S. Rodgers, C. Chung, M. W. Ueti and M. A. Bounpheng. 2015. Molecular and serological in-herd prevalence of *Anaplasma marginale* infection in Texas cattle. *Preventive veterinary medicine* 119(1):1-9.

23. Hairgrove, T.B., T. M. Craig, C. M. Budke, S. J. Rodgers and R. J. Gill. 2014. Seroprevalence of *Anaplasma marginale* in Texas cattle. *Preventive veterinary medicine* 116(1):188-192.

24. Hamou, S.A., T. Rahali, H. Sahibi, D. Belghyti, B. Losson, W. Goff and A. Rhalem. 2012. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle of North Central Morocco. *Research in veterinary science* 93(3):1318-1323.

25. Kivaria, F.M., A. M. Kapaga, G. K. Mbassa, P. F. Mtui and R. J. Wani. 2012. Epidemiological perspectives of ticks and tick-borne diseases in South Sudan: Cross-sectional survey results. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 79(1):1-10.

26. Kocan, K. M., J. de la Fuente, A. A. Guglielmone and R. D. Melendez. 2003. Antigens and Alternatives for Control of Anaplasma marginale Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews* 16(4):698-712.

27. Kocan, K. M., E. F. Blouin and A. F. Barbet. 2000. Anaplasmosis control: past, present and future. *Annals of the New York Academy of Sciences* 916:501-509.

28. Kocan, K.M., J. de la Fuente, E.F. Blouin, J.F. Coetzee and S. A. Ewing. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale. Veterinary parasitology* 167:95–107.

29. Kocan, K.M., J. de la Fuente, D.L. Step and E.F. Blouin. 2010. Current challenges of the management and epidemiology of bovine anaplasmosis. *Bovine Practice*, 44:93–102.

30. Kubelova, M., J. Mazancova and P. Siroky. 2012. Theileria, Babesia, and Anaplasma detected by PCR in ruminant herds at Bié Province, Angola. *Parasite* 19(4):417.

31. Lew, A. F., K. R. Gale, C. M. Minchin, V. Shkap and V. de Waal. 2003. Phylogenetic analysis of the erythrocytic Anaplasma species based on 16S rDNA and GroEl (HSP60) sequences of *A. marginale, A. centrale, and A. ovis* and the specific detection of *A. centrale* vaccine strain. *Veterinary Microbiology* 20:145-160.

32. Molad, T., M. L. Mazuz, L. Fleiderovitz, L. Fish, I. Savitsky, Y. Krigel, B. Leibovitz, J. Molloy, F. Jongejan and V. Shkap. 2006. Molecular and serological detection of *A. centrale* and *A. marginale* infected cattle grazing within an endemic area. *Veterinary Microbiology* 113(1-2):55-62.

33. Moumouni, P.F.A., G. O. Aboge, M. A. Terkawi, T. Masatani, S. Cao, K. Kamyingkird, C. Jirapattharasate, M. Zhou, G. Wang, M. Liu and A. Iguchi. 2015. Molecular detection and characterization of *Babesia bovis, Babesia bigemina*, Theileria species and *Anaplasma marginale* isolated from cattle in Kenya. *Parasites and vectors* 8(1):1.

34. Mutshembele, A.M., A. Cabezas-Cruz, M. S. Mtshali, O. M. Thekisoe, R. C. Galindo and J. de la Fuente. 2014. Epidemiology and evolution of the genetic variability of *Anaplasma marginale* in South Africa. *Ticks and tick-borne diseases* 5(6):624-631.

35. Nair, A.S., R. Ravindran, B. Lakshmanan, C. Sreekumar, S. S. Kumar, R. Raju, P. V. Tresamol, M. B. Vimalkumar and M. R. Saseendranath. 2013. Bovine carriers of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma bovis* in South India. *Tropical biomedicine* 30(1):105-112.

36. Njiiri, N. E., N. E. Collins, H. C. Steyn, M. Troskie, I. Vorster, S. M. Thumbi, K. P. Sibeko, A. Jennings, I. C. van Wyk, M. Mbole-Kariuki and H. Kiara. 2015. The epidemiology of tick-borne haemoparasites as determined by the reverse line blot hybridization assay in an intensively studied cohort of calves in western Kenya. *Veterinary parasitology* 210(1):69-76.

37. Noaman, V., S. Arabzadeh and B. Kachooei. 2002. A study on Anaplasmosis in cattle of Falavarjan city, Isfahan province (1995-200). *Pajouhesh – Va- Sazandegi* 51:10-12.

38. Noaman, V., P. Shayan, and N. Amininia. 2009. Molecular diagnostic of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Parasitology* 4(1): 31-38.

39. Noaman, V., and P. Shayan. 2009. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in carrier cattle of Iran - first documented report. *Iranian Journal of Microbiology* 1(2): 37-42.

40. Noaman, V., and P. Shayan. 2009. Comparison of Microscopic methods and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Microbiology* 2(2): 89-94.

41. Noaman, V., P. Shayan and A. H. Shahmoradi. 2010. Detec-

www.SID.ir

Archive of SID

tion of *Anaplasma ovis* based on 16S rRNA gene by PCR-RFLP in sheep from central part of Iran. *Journal of Veterinary Medicine and Laboratory* 1(1): 27-37.

42. Noaman, V., and P. Shayan. 2010. Molecular detection of *Anaplasma bovis* in cattle from central part of Iran. *Veterinary Research Forum* 1(2): 117-122.

43. Noaman, V., and P. Shayan. 2010. A new PCR-RFLP method for detection of *Anaplasma marginale* based on 16S rRNA. *Veterinary Research Communications* 34(1): 43-50.

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

45. Noaman, V. 2013. Report of *Anaplasma centrale* (Amori strain) in cattle in Iran. *Veterinary Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* 98: 26-29.

46. Noaman, V. 2013. Discrimination between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* by PCR-RFLP. *World Applied Sciences Journal* 21(2): 190-195.

47. Noaman, V., A. R. Hatami, S. Esmaeilkhanian, A. H. Shahmoradi and M. R. Heidari. 2015. Molecular detection of Anaplasma species in cattle and sheep of Iran. Final report of national research project. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran.

48. Noaman, V., and D. Bastani. 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.

49. Noaman, V., A. Nabinejad, A. Shahmoradi and S. Esmaeilkhanian. 2016. Molecular detection of bovine leukocytic Anaplasma species in Isfahan, Iran. *Research in Molecular Medicine* 4 (2): 47-51.

50. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 2015. Deputy for animal production affairs. Available online at.http://dla.agri-jahad.ir/Portal/Home/

51. Ochirkhuu, N., S. Konnai, C. N. Mingala, T. Okagawa, M. Villanueva, F. M. I. R. Pilapil, S. Murata and K. Ohashi. 2015. Molecular epidemiological survey and genetic analysis of vector-borne infections of cattle in Luzon Island, the Philippines. *Veterinary parasitology* 212(3):161-167.

52. OIE. 2012. World Organization for Animal Health. OIE terrestrial manual, Section 2.4. Bovinae, In: Chapter 2.4.1. *Bovine anaplasmosis*; Paris, France, 589–600.

53. Rahman, A. S. M. S., S. M. M. R. Sumon, M. A. H. N. A. Khan and M. T. Islam. 2015. Current status of subclinical form of babesiosis and anaplasmosis in cattle at Rangpur district in Bangladesh. *Progressive Agriculture,* 26(1): 51-59.

54. Rikihisa, Y., 2011. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum. Clinical microbiology reviews* 24:469–489.

55. Sajid, M. S., R. M. Siddique, S. A. Khan, Z. Iqbal, and M. N. Khan. 2014. Prevalence and Risk Factors of Anaplasmosis in Cattle and Buffalo Populations of District Khanewal, Punjab, Pakistan. *Global Veterinaria* 12 (1): 146-153.

56. Sharma, A., L. D. Singla, P. Kaur and M. S. Bal. 2015. PCR and ELISA vis-a-vis Microscopy for Detection of Bovine Anaplasmosis: A Study on Associated Risk of an Upcoming Problem in North India. *The Scientific World Journal* 2015.

57. Sharma, A., L. D. Singla, A. Tuli, P. Kaur and M. S. Bal. 2015. Detection and assessment of risk factors associated with natural concurrent infection of *Trypanosoma evansi* and *Anaplasma marginale* in dairy animals by duplex PCR in eastern Punjab. *Tropical animal health and production* 47(1):251-257.

58. Shebish, E., R. Vemulapalli and C. Oseto. 2012. Prevalence and molecular detection of *Anaplasma marginale, Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. *Veterinary parasitology* 188(1):164-167.

59. Singh, H., M. Haque, N. K. Singh and S. S. Rath. 2012. Molecular detection of *Anaplasma marginale* infection in carrier cattle. *Ticks and tick-borne diseases* 3(1):55-58.

60. Singh, N.K., H. Singh, M. Haque and S. S. Rath. 2012. Prevalence of parasitic infections in cattle of Ludhiana district, Punjab. *Journal of parasitic diseases* 36(2):256-259.

61. The Merck Veterinary Manual. 2014. Available online at.http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp. Accessed 25 January 2015.

62. Urdaz-Rodriguez, J. H., G. T. Fosgate, A. R. Alleman, D. O. Rae, G. A. Donovan and P. Melendez. 2009. Seroprevalence estimation and management factors associated with high herd seropositivity for *Anaplasma marginale* in commercial dairy farms of Puerto Rico. *Tropical animal health and production*, 41(7), 1439-1448.

63. Ybanez, A.P., T. Sivakumar, B. Battsetseg, B. Battur, K. Altangerel, K. Matsumoto, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2013. Specific molecular detection and characterization of *Anaplasma marginale* in Mongolian Cattle. *Journal of Veterinary Medical Science* 75(4):399-406.

64. Ybanez, A.P., T. Sivakumar, R. H. D. Ybanez, J. C. Ratilla, Z. O. Perez, S. R. Gabotero, H. Hakimi, S. I. Kawazu, K. Matsumoto, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2013. First molecular characterization of *Anaplasma marginale* in cattle and *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* ticks in Cebu, Philippines. *Journal of Veterinary*

www.SID.ir

Archive of SID

Medical Science 75(1):27-36.

65. Ybanez, A.P., R. H. D. Ybanez, F. G. Claveria, M. J. CRUZ-FLORES, X. Xuenan, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2014. High genetic diversity of *Anaplasma marginale* detected from Philippine Cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science* 76(7):1009.

66. Zhou, M., S. Cao, F. Sevinc, M. Sevinc, O. Ceylan, P. F. A. Moumouni, C. Jirapattharasate, M. Liu, G. Wang, A. Iguchi and P. Vudriko. 2016. Molecular detection and genetic identification of *Babesia bigemina, Theileria annulata, Theileria orientalis* and *Anaplasma marginale* in Turkey. *Ticks and tick-borne diseases* 7(1):126-134.

www.SID.ir