مطالعه مولکولی گونه‌های بابزیا (*Babesia*) در گاوهای استان مازندران

نصرالله واحدی نوری*، وحید نعمان

بخش تحقیقات بیماری‌های انگلی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

*مسئول مکاتبات: nsvahedi@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۹/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۲/۲۱

چکیده

گونه‌های مختلف *بابزیا* (*Babesia*) از شاخه‌ی *اپی‌کمپلکسا*، انگل داخل گلبول‌های قرمز می‌باشند که طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی و همچنین انسان را آلوده می‌نمایند. *بابزیوز* یکی از بیماری‌های جدی در صنعت گاوداری می‌باشد که بیش از نیم میلیارد از گاوهای دنیا به آن مبتلا می‌باشند. هدف از این مطالعه تعیین گونه‌های *بابزیا* در گاوهای استان مازندران بود. در مجموع تعداد ۲۱۰ نمونه خون از طریق رگ وداج گاو به‌طور تصادفی اخذ شد. در ابتدا DNA استخراجی از نمونه‌های خونی با جفت آغازگری که قطعه حدود ٤۰۰ جفت بازی از ژن 18S rRNA جنس *بابزیا* را تکثیر می‌کرد، تکثیر شد. تمامی نمونه‌های مثبت گاوی با semi nested-PCR اختصاصی ازنظر وجود *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* بررسی شدند. نتایج نشان داد که شیوع آلودگی *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس گاوی* به ترتیب ۳۳/۳۳٪ و ۲۸/٦٪ بود. آزمون مربع کای جهت مقایسه میزان شیوع نسبت به فصول سال، سن دام و نوع دامداری (سنتی– نیمه‌صنعتی) انجام شد. جهت تجزیه‌وتحلیل داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده و سطح معنی‌دار بودن ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که *بابزیوز* از بیماری‌های مهم و قابل‌توجه در گاوهای استان مازندران بخصوص در فصول فعالیت کنه‌ها می‌باشد.

کلمات کلیدی: گونه‌های بابزیا، گاو، مولکولی، مازندران

مقدمه

تک‌یاخته‌های جنس *بابزیا* (*Babesia*) متعلق به شاخه‌ی *اپی‌کمپلکسا*، رده‌ی *اسپوروزیدا*، راسته‌ی *اوکوکسیدیوریدا*، زیرراسته *پیروپلاسمورینا* و خانواده‌ی *بابزیدا* می‌باشند. گونه‌های مختلف این جنس، انگل داخل گلبول‌های قرمز می‌باشند که طیف وسیعی از حیوانات اهلی و وحشی و همچنین انسان را آلوده می‌نمایند (۱۰). بیماری ناشی از این تک‌یاخته در دام شامل: تب، کم‌خونی، هموگلوبینوری و ضعف می‌باشد. *بابزیا* اولین تک‌یاخته‌ای می‌باشد که انتقال آن توسط بندپایان به اثبات رسیده است (۲۰). *بابزیوز* یکی از بیماری‌های جدی در صنعت گاوداری می‌باشد که بیش از نیم میلیارد از گاوهای دنیا به آن مبتلا می‌باشند. این بیماری برخلاف دیگر بیماری‌های انگلی، دام‌های مسن را درگیر نموده و سبب مرگ‌ومیر می‌گردد. بیماری بخصوص در دام‌های وارداتی در مناطق اندمیک بسیار شایع می‌باشد (۵). علاوه بر این، اهمیت بهداشتی این بیماری نباید ازنظرها دور پنداشته شود. *بابزیای* گاوی در مناطقی که کنه‌ها فعالیت

می‌نمایند حضور دارد، اما عمدتاً در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری شایع می‌باشند. *بابزیا بوویس* و *بابزیا بایجمینا* در اکثر نقاط دنیا بخصوص در عرض‌های جغرافیائی ٤٠° شمالی تا ٣٢° درجه جنوبی، جایی که کنه ناقل جنس *ریپی سفالوس* فعالیت می‌نمایند، دیده می‌شوند. این دو گونه در آسیا، آفریقا، مرکز و جنوب آمریکا، بخش‌های جنوبی اروپا و استرالیا شایع می‌باشند.

کریادو و همکاران (٢٠٠٣) با استفاده از ژن 18s rRNA و تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی، اعضاء زیرراسته *پیروپلاسمورینا* را به پنج گروه تقسیم نمودند که یکی از این گروه‌ها *بابزیای* سم‌داران شامل: *بابزیا بایجمینا*(*Babesia bigemina*)، *بابزیا اوویس*، *بابزیا بوویس* (*Babesia bovis*) و *بابزیا* کابالی (*Babesia caballi*) می‌باشد (٣). در *بابزیوز* گاوی، گونه‌های متعددی حضور دارند که سه گونه غالب شامل: *بابزیا بوویس*، *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا دایورجنس* می‌باشد. برای تشخیص *بابزیا* در دام‌ها، معمولاً از روش‌های میکروسکوپی (رنگ‌آمیزی با گیمسا)، سرولوژیکی و علائم کلینیکی در فاز حاد بیماری استفاده می‌نمایند. این روش‌ها بخصوص در موارد تشخیص بالینی در مزرعه بسیار رایج می‌باشد. به دلیل شباهت برخی از گونه‌های *تیلریا* با گونه‌های کوچک *بابزیا*، روش رنگ‌آمیزی چندان قابل‌اعتماد نمی‌باشد (١٤). همچنین درروش سرولوژیکی به دلیل واکنش متقاطع بین گونه‌های مختلف *بابزیا*، تشخیص با مشکل مواجه می‌گردد (٤).

به همین دلیل امروزه از روش‌های مولکولی برای تشخیص و همچنین مطالعات اپیدمیولوژی استفاده می‌کنند. تا کنون مطالعات اپیدمیولوژی در زمینه‌ی *بابزیا* در گاو و گوسفندان در کشور عمدتاً بر پایه خصوصیات ریخت‌شناسی انگل *بابزیا* با بررسی میکروسکوپی گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا بوده که در نواحی مختلف جغرافیایی کشور انجام‌شده است (١٦). به‌طورکلی، مطالعات اندکی در خصوص شناسایی *بابزیوز* گاوی با استفاده از روش‌های مولکولی، انجام‌شده است (١٣).

از آنجایی‌که تاکنون مطالعه درباره شناسایی مولکولی گونه‌های *بابزیای* گاو در استان مازندران صورت نگرفته است، لذا هدف از این مطالعه تشخیص مولکولی مهم‌ترین گونه‌های *بابزیا* در گاوهای مازندران بود. علاوه بر این، تحقیقات دیگری در جهت شناسایی ناقلین، اثر متقابل میزبان- ناقل و شناسایی واریته‌های ژنتیکی که ممکن است حضور و گسترش گونه‌های *بابزیا* را در گاوهای ایران تحت تأثیر قرار دهند، مورد نیاز است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق روی گاوهای استان مازندران انجام گردید. برای این منظور در طول یک سال، به‌صورت تصادفی از ٢١٠ رأس گاو به‌ظاهر سالم از نقاط مختلف استان (ساری، قائم‌شهر، بابل و آمل)، نمونه‌گیری خون به‌عمل‌آمده است. از هر دام ٥ میلی‌لیتر خون از ورید وداج اخذ و در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد (EDTA) قرار داده شد. نمونه‌ها در فریزر (٢٠°C-) جهت آزمایش‌های بعدی نگهداری گردید. هم‌زمان متغیرهایی نظیر فصل، سن و نوع دامداری، در فرم مخصوص ثبت گردید. سن دام بر اساس بررسی دندان‌ها تعیین گردید. همچنین دام‌های مورد بررسی نیز همگی دورگه (آمیخته) بودند. جهت شناسایی مولکولی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در گاو مراحل ذیل انجام گردید.

استخراج DNA: برای این منظور، نمونه‌های خون از فریز خارج و در دمای اتاق قرارگرفته است. پس از ذوب، تقریباً ٥٠ میکرولیتر از هر نمونه را در داخل تیوب اپندورف ١/٥ میلی‌لیتر ریخته و با استفاده از

کیت مخصوص استخراج DNA تولید شده در شرکت MBST (ایران)، طبق دستورالعمل شرکت، استخراج DNA انجام شده است. سپس DNA استخراجی، روی ژل آگارز مورد بررسی و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

PCR اولیه: به دنبال استخراج DNA از خون، با توجه به متلاشی شدن سلول‌های قرمز و سفید، DNA استخراج‌شده مربوط به سلول‌های هسته‌دار خون گاو است. چنانچه ژنوم اجرام *بابزیایی* در سلول‌های مذکور وجود داشته باشد، این ژنوم در DNA استخراجی حضور خواهد داشت. لذا، PCR اولیه برای شناسایی جنس *بابزیا* بدون در نظر داشتن گونه خاصی انجام گرفت. بدین منظور از جفت آغازگر ThBab1,2 استفاده شد که ترادف نوکلئوتیدی آن در گونه‌های موردنظر (*بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس*) وجود دارد (جدول ۱). باند حاصله از تکثیر در اثر این جفت آغازگر پس از PCR در همه گونه‌ها در حدود ٤٠٠ جفت بازخواهد بود.

Semi-Nested PCR برای شناسایی گونه‌های *بابزیا*: با استفاده از محصول PCR اولیه (٤٠٠ جفت باز)، آزمایش semi-Nested PCR با جفت آغازگرهای *B. bigemina* (F) و ThBab2(R)، برای آزمایش گونه *بابزیا بایجمینا* و جفت آغازگرهای *B. bovis* (F) و ThBab2(R) برای آزمایش گونه *بابزیا بوویس*، برای هر نمونه انجام شد. در این آزمایش مواد با حجم کلی ۲۰ میکرولیتر و بر اساس دستورالعمل تهیه گردید. بعد از آماده‌سازی محلول‌ها در تیوب اپندورف ۲۰۰ میکرولیتر، این تیوب‌ها در دستگاه ترموسایکلر (T100 Thermal Cycler, Bio-Rad) قرارگرفته و تحت برنامه موردنظر تکثیر مکرر DNA انجام گرفت. نتیجه بعد از الکتروفورز و درصورتی‌که نمونه با هر جفت از آغازگرهای اختصاصی *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* تکثیرمی شد، به ترتیب باندی در حدود ۲۱۰ جفت باز و ۱۳۲ جفت باز روی ژل مشاهده می‌گردید و گونه *بابزیا* در رابطه با آغازگری که واکنش داشت، تعیین می‌شد. در پایان پس از به دست آمدن نتایج، از نرم‌افزار SPSS 18 و آزمون کای دو با سطح اطمینان ۹۵٪، (p <۰/۰۵)، جهت مقایسه درصد آلودگی گاوها به هر یک از گونه‌ها در فصول مختلف سال، سنین مختلف و نوع دامداری (سنتی- نیمه‌صنعتی) استفاده شد.

جدول ۱- پرایمرهای تشخیص جنس *بابزیا* و گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در گاو بر اساس ژن 18s rRNA

ردیف	نام پرایمر	توالی پرایمر	منبع	محصول مورد انتظار
۱	ThBab1(F)	5’ CACAGGGAGGTAGTGACAAG 3’	(۱۸)	٤۰۲ جفت باز
۲	ThBab2(R)	5’ CTAAGAATTTCACCTCTGACAG 3’	(۱۸)	٤۰۲ جفت باز
۳	*B. bigemina*(F) for semi nested	5` CGTTTTTTCCCTTTTGTTGG 3`	(۸)	۲۰۹ جفت باز
٤	*B. bovis* (F) for Semi nested	5`CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG 3`	(۷)	۱۳۲ جفت باز

نتایج

شناسایی گونه‌های *بابزیا* در گاو: در ابتدا پس از استخراج DNA از مجموع ۲۱۰ نمونه خون جمع‌آوری‌شده، جهت تشخیص جنس *بابزیا*، با انجام PCR اولیه، تعدادی از نمونه‌های DNA مذکور با جفت آغازگرهای ThBab1(F) و ThBab2(R) تکثیر و محصول مورد نظر ٤۰۰ جفت باز ایجاد کردند. این نمونه‌ها ازنظر جنس *بابزیا* مثبت تشخیص داده شدند. در شکل ۱، چهار نمونه مثبت نشان داده شده است.

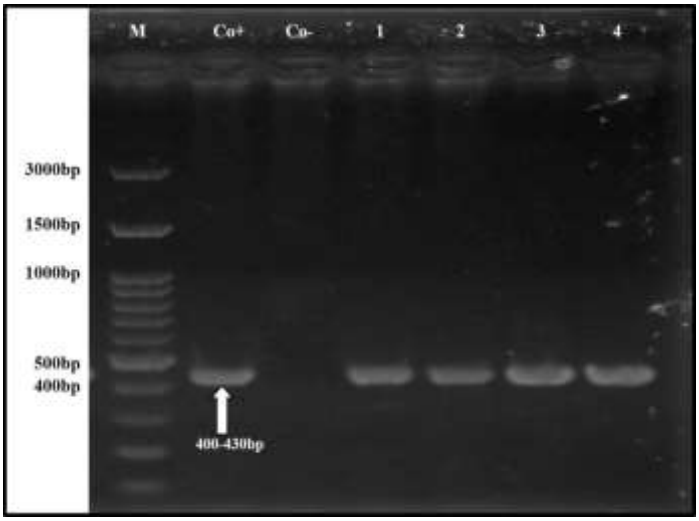
با استفاده از محصول PCR اولیه، Semi-nested-PCR اختصاصی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* انجام شد که ۷۰ مورد (۳۳/۳۳ درصد) *بابزیا بایجمینا* و ٦۰ مورد (۲۸/٦ درصد) *بابزیا بوویس* تعیین گردید (جدول ۲)(شکل‌های ۲ و ۳).

آلودگی *بابزیا بایجمینا* در گاو بر اساس متغیرهای مورد مطالعه: از ۲۱۰ رأس گاو موردبررسی، ۷۰ رأس (۳۳/۳۳ درصد) آلوده به تک‌یاخته *بابزیا بایجمینا* بودند (جدول ۲). بر این اساس، درصد آلودگی *بابزیا بایجمینا* در فصول مختلف سال، به ترتیب بهار (٤۱/۲ درصد)، تابستان (۳۷/۵ درصد)، پائیز (۳۱/۸ درصد) و زمستان (۱٦/٦ درصد)، می‌باشد. در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بایجمینا* گاو در استان مازندران و در فصول مختلف نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (p<۰/۰۵) (جدول ۳). همچنین درصد آلودگی *بابزیا بایجمینا* در بین گاو و در سنین مختلف به ترتیب کمتر از ۱ سال (۲۵ درصد)، ۱ الی ۳ سال (۳۲/٤ درصد)، ۳ – ۵ سال (۳٤/۹ درصد) و بالای ۵ سال (۳۷/۵ درصد) می‌باشد (جدول ۳). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بایجمینا* در گاوهای استان مازندران در سنین مختلف نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (p > ۰/۰۵) (جدول ۳). در بررسی ارتباط بین درصد آلودگی گاوهای مورد مطالعه به *بابزیا بایجمینا* و نوع دامداری (سنتی– نیمه‌صنعتی)، به ترتیب در دامداری سنتی (۲۵/۹ درصد) و نیمه‌صنعتی (۳۵/۹ درصد) به‌دست‌آمده است (جدول ۳). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بایجمینا* در گاوهای استان مازندران در ارتباط با نوع دامداری نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (p > ۰/۰۵) (جدول ۳).

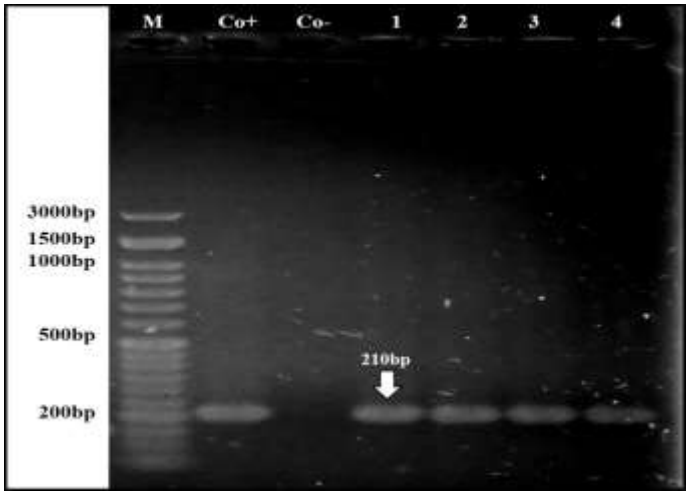
آلودگی *بابزیا بوویس* در گاو بر اساس متغیرهای مورد مطالعه: از ۲۱۰ رأس گاو مورد بررسی، ٦۰ رأس (۲۸/٦ درصد) آلوده به تک‌یاخته *بابزیا بوویس* بودند (جدول ۲). بر این اساس، درصد آلودگی *بابزیا بوویس* در فصول مختلف سال، به ترتیب بهار (۵/۹ درصد)، تابستان (۱۸/۸ درصد)، پائیز (٤۰/۷ درصد) و زمستان (۰ درصد)، می‌باشد. در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* گاو در استان مازندران و در فصول مختلف نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده گردید (p < ۰/۰۵)(جدول ٤). همچنین درصد *بابزیا بوویس* در بین گاو و در سنین مختلف به ترتیب کمتر از ۱ سال (۱٦/٦ درصد)،۱ الی ۳ سال (۳۲/٤ درصد)، ۳ – ۵ سال (۳۵/۵ درصد) و بالای ۵ سال (۱۸/۸ درصد) می‌باشد (جدول ٤). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاوهای استان مازندران در سنین مختلف نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (p > ۰/۰۵)(جدول ٤). در بررسی ارتباط بین درصد آلودگی گاوهای موردمطالعه به *بابزیا بوویس* و نوع دامداری (سنتی– نیمه‌صنعتی)، به ترتیب در دامداری سنتی (۱۸/۵ درصد) و نیمه‌صنعتی (۲۸/۷ درصد) به‌دست‌آمده است (جدول ٤). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاوهای استان مازندران در ارتباط با نوع دامداری نمونه‌گیری شده، با انجام آزمون کای دو، اختلاف معنی‌دار مشاهده نگردید (p < ۰/۰۵) (جدول ٤).

جدول ۲– نتایج کلی حاصله از آزمون‌های ملکولی نمونه‌های خونی گاو

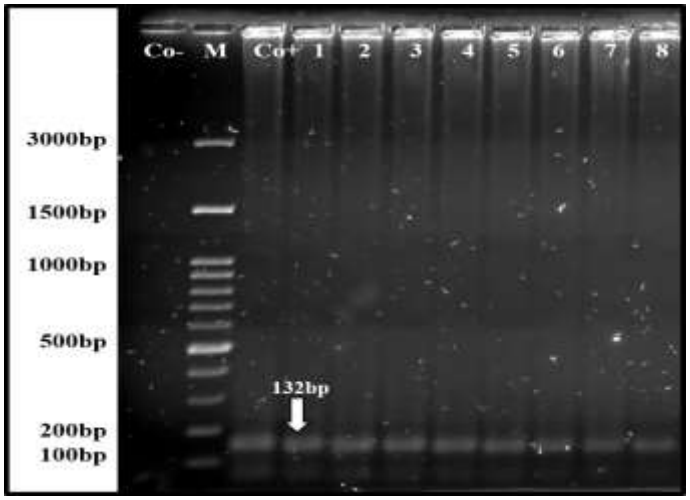
نوع دام	گونه‌های *بابزیا*	تعداد مورد بررسی	موارد آلودگی	درصد
گاو	*بابزیا بایجمینا*	۲۱۰	۷۰	۳۳/۳۳
	بابزیا بوویس	۲۱۰	٦۰	۲۸/٦



شکل ۱- نمونه‌های PCR اولیه و تکثیرشده با جفت آغازگر ThBab1(F) و ThBab2(R)، محصول ۴۳۰-۴۰۰ جفت باز



شکل ۲- نمونه‌های Seminested PCR و تکثیرشده با جفت آغازگر *B. bigemina* (F) و ThBab2 (R) برای تشخیص *بابزیا بایجمینا*، محصول ۲۱۰ جفت باز



شکل ۳- ۱ تا ۸ نمونه‌های Seminested PCR و تکثیرشده با جفت آغازگر *B. bovis* (F) و ThBab2 (R) برای تشخیص *بابزیا بوویس*، محصول ۱۳۲ جفت باز

جدول ۳- رابطه آلودگی گاوهای مازندران به *بابزیا بایجمینا* و متغیرهای موردبررسی

متغیر		بابزیا بایجمینا (مثبت)		بابزیا بایجمینا (منفی)		شاخص آزمون کای دو	درجه آزادی	*p*-value
		فراوانی	درصد	فراوانی	درصد			
فصل	بهار	۱٤	٪٤۱/۲	۲۰	٪۵۸/۸	۱/٤۱٤	۳	۰/۷۰۲
	تابستان	۱۲	٪۳۷/۵	۲۰	٪٦۲/۵			
	پائیز	٤۲	٪۳۱/۸	۹۰	٪٦۸/۲			
	زمستان	۲	٪۱٦/٦	۱۰	٪۸۳/٤			
سن	۱ سال>	٦	٪۲۵	۱۸	٪۷۵	۰/٦۵۱	۳	۰/۹۰۵
	۳-۱ سال	۲۲	٪۳۲/٤	٤٦	٪٦۷/٦			
	۵-۳ سال	۳۰	٪۳٤/۹	۵٦	٪٦۵/۱			
	۵ سال <	۱۲	٪۳۷/۵	۲۰	٪٦۲/۵			
نوع دامداری	سنتی	۱٤	٪۲۵/۹	٤۰	٪۷٤/۱	۰/۸۹۷	۱	۰/۳٤۳
	نیمه‌صنعتی	۵٦	٪۳۵/۹	۱۰۰	٪٦٤/۱			

$*p < ۰/۰۵$

جدول ٤- رابطه آلودگی گاوهای مازندران به *بابزیا بوویس* و متغیرهای موردبررسی

متغیر		*بابزیا بوویس* (مثبت)		*بابزیا بوویس* (منفی)		شاخص آزمون کای دو	درجه آزادی	*p*-value
		فراوانی	درصد	فراوانی	درصد			
فصل	بهار	۲	٪۵/۹	۳۲	٪۹٤/۱	۱۱/۲۳۲	۳	۰/۰۱۱*
	تابستان	٦	٪۱۸/۸	۲٦	٪۸۱/۲			
	پائیز	۵۲	٪٤۰/۷	۸۰	٪۵۹/۳			
	زمستان	۰	٪۰	۱۲	٪۱۰۰			
سن	۱ سال>	٤	٪۱٦/٦	۲۰	٪۸۳/٤	۲/۱٦۳	۳	۰/۵۳۹
	۳-۱ سال	۲۲	٪۳۲/٤	٤٦	٪٦۷/٦			
	۵-۳ سال	۲۸	٪۳۵/۵	۵۸	٪ ٦٤/۵			
	۵ سال <	٦	٪۱۸/۸	۲٦	٪۸۱/۲			
نوع دامداری	سنتی	۱۰	٪۱۸/۵	٤٤	٪۸۱/۵	۱/۸۰۰	۱	۰/۱۸۰
	نیمه‌صنعتی	۵۰	٪۲۸/۷	۱۰٦	٪۷۱/۳			

$*p < ۰/۰۵$

بحث

بابزیوز یکی از بیماری‌های مهم انگلی می‌باشد که از راه کنه به گاو انتقال می‌گردد و امروزه یکی از مهم‌ترین مشکلات پرورش دام‌ها، در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری تلقی می‌شود. مطالعه حاضر که به‌منظور شناسایی گونه‌های *بابزیا* گاو در استان مازندران گرفت، از تعداد ۲۱۰ نمونه که به روش Semi-nested-PCR آزمایش شد به ترتیب ۳۳/۳ درصد و ۲۸/٦ درصد آلوده به *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* بودند. همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد درصد عفونت *بابزیا بایجمینا* بیشتر از *بابزیا بوویس* می‌باشد. از آنجائی که کنه‌های بیشتری در انتقال *بابزیا بایجمینا* نقش دارند، لذا ثبات و نرخ عفونت *بابزیا بایجمینا* در منطقه‌ای که گونه‌های متنوع کنه حضور دارند، بیشتر می‌باشد (۲). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در این

تحقیق، بحث نیز حول دو محور مورد بررسی قرار می‌گیرد.

بررسی شیوع *بابزیا بایجمینا* در گاو: *بابزیا بایجمینا* به‌طور گسترده در نیمکره جنوبی، آفریقا، آسیا، استرالیا مرکز و جنوب آمریکا در جریان می‌باشد. توزیع *بابزیا بایجمینا* با توزیع کنه‌های ناقل آن بستگی دارد. لذا هرگونه مهره‌دار مستعد که در ارتباط با کنه‌های ناقل این تک‌یاخته باشد، امکان آلودگی با آن وجود دارد (٦). معمولاً ۳۰ درصد از گلبول‌های قرمز آلوده به انگل می‌باشند (۱۱).

نتایج به‌دست‌آمده حاکی از آن است که ۷۰ نمونه (۳۳/۳۳ درصد) از ۲۱۰ نمونه اولیه به لحاظ *بابزیا بایجمینا* مثبت بوده و باند مورد نظر (۲۱۰ جفت باز) را تشکیل دادند (شکل ۲) (جدول ۲). تحقیقات انجام‌گرفته توسط سیلوا و همکاران (۲۰۰۹) در نواحی جنوبی پرتغال، روی گاوها، به روش مولکولی، درصد آلودگی به *بابزیا بایجمینا* را ۳٤٪، تعیین نمود (۱۹). درحالی‌که این نتیجه با نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق مطابقت می‌نماید، تحقیقات انجام‌گرفته روی گاوهای مناطقی از مصر، درصد آلودگی به *بابزیا بایجمینا* را ۹/٤ درصد تعیین نمود (۲۱).

به‌هرحال میزان ۳۳/۳۳ درصد آلودگی در استان مازندران نسبتاً زیاد می‌باشد. عوامل گوناگونی از قبیل سن، نژاد، تغییرات آب و هوائی، نوع مرتع، وجود ناقلین (کنه‌ها) و استرس بر روی بروز بیماری و میزان آلودگی در یک منطقه تأثیرگذار می‌باشند (۱۷).

در این میان نقش کنه‌ها و سن به‌عنوان دو فاکتور خطر مهم برای بروز *بابزیوز* در حیوانات در نظر گرفته می‌شوند. باوجود پراکنش گونه‌های مختلف کنه‌های سخت در نشخوارکنندگان استان، آلودگی به گونه‌های مختلف *بابزیا* در این استان دور از انتظار نیست (۲۲).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق، درصد آلودگی گاو به *بابزیا بایجمینا* در فصل بهار و تابستان بیشتر از سایر فصول می‌باشد، اما این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p >۰/۰۵) (جدول ۳). معمولاً تغییرات فصلی در وقوع *بابزیوز* در گاوها مشاهده می‌شود که عامل اصلی آن کنه‌ها می‌باشند. اصولاً فصل بهار و تابستان، شاهد فعالیت گسترده کنه‌های سخت بخصوص جنس *ریپی‌سفالوس* در استان مازندران می‌باشیم (۲۲). لذا با توجه با نقش این کنه در انتقال این تک‌یاخته، آلودگی در فصول بهار و تابستان بسیار بالا می‌باشد. در همین راستا تحقیقات طاها و همکاران (۲۰۱۸) از کشور مصر، نشان می‌دهد که درصد آلودگی گاوها به *بابزیا بایجمینا* در فصول بهار و تابستان بیشتر از سایر فصول می‌باشد (۲۱).

در این تحقیق نیز درصد آلودگی *بابزیا بایجمینا* در بین گاو در سنین مختلف به ترتیب کمتر از ۱ سال (۲۵ درصد)،۱ – ۳ سال (۳۲/٤ درصد)، ۳ – ۵ سال (۳٤/۹ درصد) و بالای ۵ سال (۳۷/۵ درصد) می‌باشد (جدول ۳). اگرچه با افزایش سن، میزان درصد آلودگی افزایش می‌یابد، اما در این تحقیق با انجام آزمون کای دو، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p < ۰/۰۵). تحقیقات ذوالفقار و همکاران (۲۰۱۲) روی گاوهای ایالت پنجاب پاکستان نشان داد که درصد آلودگی در گاوها بیشتر از گوساله بوده است (۲۳).

اصولاً در گاو، شاهد یک نوع مقاومت سنی معکوس در برابر *بابزیا* می‌باشیم. گوساله‌ها پس از تولد و با دریافت آغوز نسبت به تک‌یاخته *بابزیا* ایمنی پیدا می‌کنند. همین امر سبب افزایش مقاومت نسبی در برابر آلودگی در دام‌های جوان نسبت به دام‌های مسن‌تر می‌گردد (۵).

بعلاوه در سنین بالا به دلیل اینکه حیوان زمان بیشتری در معرض کنه‌های ناقل قرار می‌گیرد، و همچنین آبستنی‌های مکرر و احتمال همراهی بیشتر با حیوانات

حامل و حساسیت بیشتر حیوانات، درصد آلودگی باید بیشتر باشد (۹).

در بررسی ارتباط بین درصد آلودگی گاوهای موردمطالعه به *بابزیا بایجمینا* و نوع دامداری (سنتی- نیمه‌صنعتی)، درصد آلودگی به ترتیب در دامداری سنتی (۲۵/۹ درصد) و نیمه‌صنعتی (۳۵/۹ درصد) به‌دست‌آمده است (جدول ۳). با انجام آزمون کای دو، این تفاوت نیز به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (۰/۰۵ $<p$). اگرچه به دلیل پاره‌ای از مسائل نظیر تعویض سرسوزن‌های مصرفی، استفاده به‌موقع از واکسن‌ها، داروها و رعایت بسیاری از مسائل بهداشتی انتظار می‌رود که درصد آلودگی در دامداری‌های سنتی به‌مراتب بیشتر از دامداری‌های نیم صنعتی باشد، بااین‌حال در این تحقیق، درصد آلودگی در دامداری نیمه‌صنعتی بیشتر از دامداری سنتی موردمطالعه می‌باشد. به‌هرحال ریشه اصلی این موضوع به رعایت اصول بهداشتی در دامداری‌های موردمطالعه برمی‌گردد که به‌نوعی شاهد شرایط ایده آل و استاندارد حتی در دامداری‌های نیمه‌صنعتی نیستیم.

بررسی شیوع *بابزیا بوویس* در گاو: *بابزیا بوویس* تک‌یاخته پاتوژن بوده و معمولاً سبب مرگ‌ومیر بالا در گاوهای حساس می‌شود. *بابزیا بوویس* نسبت به *بابزیا بایجمینا* از شدت و حدت عفونت بیشتری در گاو برخوردار می‌باشد. *بابزیا بوویس* در مناطق نیمه گرمسیری بسیار شایع می‌باشد، چون کنه جنس *ریپی سفالوس* در این مناطق فعالیت گسترده دارند. همچنین کنه گونه *ایکسودس رسینوس* در انتقال این‌گونه نقش دارد(۵). نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق حاکی از آن است که ٦٠ نمونه (۲۸/٦ درصد) از ۲۱۰ نمونه خون موردبررسی به لحاظ *بابزیا بوویس* مثبت بوده و باند مورد نظر (۱۳۲ جفت باز) را تشکیل دادند (شکل ۳) (جدول ۲). با توجه به اینکه نمونه‌گیری از دام‌هایی صورت گرفته است که فاقد هرگونه علائم بالینی ناشی از *بابزیوز* بودند، لذا این میزان درصد آلودگی قابل‌توجه می‌باشد. در همین رابطه، تحقیقات صورت گرفته توسط سیلوا و همکاران (۲۰۰۹) در نواحی جنوبی پرتغال و مارتینز و همکاران (۲۰۱۰) از کشور موزامبیک روی گاوهای مناطق یادشده، به روش مولکولی، درصد آلودگی به *بابزیا بوویس* را به ترتیب ۷۱ و ۲۷ درصد تعیین نمودند (۱۲، ۱۹).

بر اساس نتایج به‌دست‌آمده در این تحقیق، درصد آلودگی گاو به *بابزیا بوویس* در فصل پائیز بیشتر از سایر فصول می‌باشد (٤٠/۷ درصد) و این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار است (p <۰/۰۵) (جدول ٤). تحقیقات نشان می‌دهد، علاوه بر گرما، رطوبت بالا (بیشتر از ۵۰ درصد)، نیز شرایط مناسبی را برای فعالیت اکثر کنه‌های ناقل فراهم می‌نماید (۱، ۱۵). اصولاً فصل بهار و تابستان، شاهد فعالیت گسترده کنه‌های سخت بخصوص جنس *ریپی سفالوس* در استان مازندران می‌باشیم و از طرفی در استان مازندران فعالیت کنه گونه *ایکسودس رسینوس* در فصل پائیز شروع می‌شود (۲۲). با توجه به اینکه شیوع آلودگی *بابزیا بوویس* به فعالیت کنه‌ها وابسته می‌باشد، لذا در این تحقیق و در فصل پائیز شاهد آلودگی بیشتر نسبت به سایر فصول می‌باشیم، اگرچه آلودگی در فصل تابستان نیز قابل‌توجه می‌باشد.

همچنین در این تحقیق، درصد آلودگی *بابزیا بوویس* در بین گاو در سنین مختلف به ترتیب کمتر از ۱ سال (١٦/٦ درصد)،۱ – ۳ سال (۳۲/٤ درصد)، ۳ – ۵ سال (۳۵/۵ درصد) و بالای ۵ سال (۱۸/۸ درصد) می‌باشد (جدول ٤). اگرچه با افزایش سن، میزان درصد آلودگی افزایش می‌یابد، اما در این تحقیق، با انجام آزمون کای دو، این اختلاف به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p > ۰/۰۵). در سنین بالا به دلیل اینکه حیوان زمان بیشتری در معرض کنه‌های ناقل قرار می‌گیرد و همچنین آبستنی‌های مکرر و احتمال همراهی بیشتر

با حیوانات حامل و حساسیت بیشتر حیوانات، درصد آلودگی باید بیشتر باشد (۹). از طرفی در گاو، شاهد یک نوع مقاومت سنی معکوس در برابر تک‌یاخته *بابزیا* می‌باشیم. گوساله‌ها پس از تولد و با دریافت آغوز نسبت به تک‌یاخته *بابزیا* ایمنی پیدا می‌کنند. همین امر سبب کاهش شدت علائم کلینیکی در دام‌های جوان نسبت به دام‌های مسن‌تر می‌گردد (۵).

در بررسی ارتباط بین درصد آلودگی گاوهای موردمطالعه به *بابزیا بوویس* و نوع دامداری (سنتی- نیمه‌صنعتی)، درصد آلودگی به ترتیب در دامداری سنتی (۱۸/۵ درصد) و نیمه‌صنعتی (۲۸/۵ درصد) به‌دست‌آمده است (جدول ٤). با انجام آزمون کای دو، این تفاوت نیز به لحاظ آماری معنی‌دار نیست (p ۰/۰۵ >). اگرچه انتظار می‌رود که درصد آلودگی در دامداری‌های سنتی به‌مراتب بیشتر از دامداری‌های نیم صنعتی باشد، بااین‌حال در این تحقیق، همانند *بابزیا بایجمینا*، درصد آلودگی در دامداری نیمه‌صنعتی بیشتر از دامداری سنتی مورد مطالعه می‌باشد. به‌هرحال ریشه اصلی این موضوع به رعایت اصول بهداشتی در دامداری‌های مورد مطالعه برمی‌گردد که به‌نوعی شاهد شرایط ایده آل و استاندارد حتی در دامداری‌های نیمه‌صنعتی نیستیم.

نتیجه‌گیری

نهایتاً فراوانی وقوع *بابزیوز* در کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در طول سال متفاوت است و ارتباط مستقیمی با جمعیت و فعالیت کنه‌های ناقل بیماری و حضور دام حساس دارد. در کشورهای معتدل بیماری، چهره فصلی به خود گرفته و با شروع فصل گرما به دلیل افزایش جمعیت و فعالیت کنه، بیماری وقوع یافته و با پیشرفت وضعیت مطلوب ازنظر درجه حرارت و رطوبت سیر صعودی را نشان می‌دهد.

منابع

1. Barros S.L., Madruga C.R., Araujo F.R., Menk C.F., Almeida M.A., Melo E.P.S., Kessler R.H. 2005. Serological survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, and *Anaplasma marginale* antibodies in cattle from the semi-arid region of the state of Bahia, Brazil, by enzyme-linked immunosorbent assays. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100: 513-517.

2. Bock R., Jackson L., de Vos A., Jorgensen W. 2004. Babesiosis of cattle. *Parasitology*, 129: S247-269.

3. Criado-Fornelio A., Martinez-Marcos A., Buling-Sarana A., Barba-Carretero J.C. 2003. Molecular studies on *Babesia*, *Theileria* and *Hepatozoon* in southern Europe: part I. Epizootiological aspects. *Veterinary Parasitology*, 113: 189-201.

4. D'Oliveira C., Van der Wide M., Jacquiet P., Jongejan F. 1997. Detection of *Theileria annulata* by the PCR in ticks (Acari: Ixodidae) collected from cattle in Mauritania. *Experimental and Applied Acarology*, 21: 279-291.

5. Demessie Y., Derso S. 2015. Tick borne hemoparasitic diseases of ruminants: A review. *Advances in Biological Research*, 9: 210-224.

6. Florin-Christensen M., Suarez C.E., Rodriguez A.E., Flores D.A., Schnittger L. 2014. Vaccines against bovine babesiosis: where we are now and possible roads ahead. *Parasitology*, 141: 1563-1592.

7. Georges K., Loria G.R., Riili S., Greco A., Caracappa S., Jongejan F. and Sparagano O., 2001. Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on the distribution of ticks in Sicily. *Veterinary Parasitology*, 99: 273-286.

8. Gubbels J.M., De Vos A.P., Van Der Weide M., Viseras J., Schouls L.M., De Vries E., Jongejan F. 1999. Simultaneous detection of bovine*Theileria* and *Babesia* species by reverse line blot hybridization.

Journal of Clinical Microbiology, 37: 1782-1789.

9. Homer M.J., Aquilar-Defin I., Teleford S.R., Krause P.J., Persing D.H. 2000. Babesiosis. *Clinical Microbiology Reviews*, 13: 451-469.

10- Levine N. D., 1971. Taxonomy of the piroplasms. *Transactions of the American Microscopical Society*, 90: 2-33.

11. Magona J.W., Walubengo J., Olaho-Mukani W., Jonsson N.N., Welburn S.C. and Eisler M.C. 2008. Clinical features associated with seroconversion to *Anaplasma marginale*, *Babesia bigemina* and *Theileria parva* infections in African cattle under natural tick challenge. *Veterinary Parasitology*, 155: 273-280.

12. Martins T.M., Neves L P., Olivia C., Fafetine J M., Rosario V., Domingos A. 2010. Molecular detection of *Babesia spp.* and other haemoparasitic infections of cattle in Maputo Province, Mozambique. *Parasitology*, 137: 939-946.

13. Noaman V. 2013. A molecular study on *Theileria* and *Babesia* in cattle from Isfahan province, Central Iran. *Journal of Parasitic Diseases*, 37: 208-210.

14. Noaman V., 2014. Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria spp*. in carrier cattle. *Journal of Parasitic Diseases*, 38: 64-67.

15. Noaman V., Abdigoudarzi M., and Nabinejad A. 2017. Abundance, diversity, and seasonal dynamics of hard ticks infesting cattle in Isfahan Province, Iran. *Archives of Razi Institute*, 72: 15-21.

16. Noaman V., Jahangirnejad A. A.,and Nabinejad A., 2005. A study on prevalence and identification of Babesia spp. in immigrant and sheep & goats and nomadic people of Isfahan Province. *Pajouhesh -Va-Sazandegi*, 67: 35-41.

17. Oliveira-Sequeira T.C.G., Oliveira M.C. S., Araujo J.P., Amarante A.F.T. 2005. PCR-based detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in their natural host *Boophilus microplus* and cattle. *International Journal for Parasitology*, 35: 105-111.

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

19. Silva M.G., Henriques G., Sanchez C., Marques P.X., Suarez C.E., Oliva A. 2009. First survey for *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle from Central and Southern regions of Portugal using serological and DNA detection methods. *Veterinary Parasitology*, 166: 66-72.

20. Smith T., Kilborne F.L. 1893. Investigations into the nature, causation, and prevention of Texas or southern cattle fever. US Government Printing Office.

21. Taha E .M., El-Kareem A., Mahmoud A. Amir., El-Rahman A., Fadly R.S. 2018. Epidemiological, Clinical and Diagnostic Studies on Blood Parasites in Cattle and Buffaloes in ElBehera Provence. *Alexandria Journal for Veterinary Sciences*, 56: 45-55.

22. Vahedi Noori N., Abdi Goodarzi M., Mohammad Nejad Kiasari Sh. 2015. Evaluation of the species diversity and abundance of hard ticks (Family: Ixodidae) parasite of cattle and sheep in Mazandaran province. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 28: 58-64.

23. Zulfiqar S., Shahnawaz S., Ali M., Bhutta A. M., Iqbal S., Hayat S., Qadir S., Latif M., Kiran N.,Saeed A., Ali M., Iqbal F. 2012. Detection of *Babesia bovis* in blood samples and its effect on the hematological and serum biochemical profile in large ruminants from Southern Punjab. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2: 104-108.