بررسی فراوانی آلودگی به تیلریا، بابزیا و آناپلاسما در گاوهای استان البرز به روش‌های میکروسکوپی وPCR

محمد عبدلی*[۱]، لیدا عبدالمحمدی خیاو[۲]

چکیده

آناپلاسموز، بابزیوز و تیلریوز از بیماری‌های انگلی می‌باشند که می‌توانند خسارات قابل توجهی به صنعت دامپروری وارد نمایند. علیرغم اهمیت بیماریزایی تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسموز در جمعیت دام‌های بزرگ، در ایران عمدتا بررسی‌ها در نشخوارکنندگان کوچک صورت گرفته است. لذا هدف از این مطالعه تشخیص فراوانی آلودگی به تیلریا، بابزیا و آناپلاسما در گاوهای استان البرز به روش‌های میکروسکوپی و PCR (Polymerase chain reaction) بود. بدین منظور از مجموع ۱۳۰ راس گاو خونگیری نموده و به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد. نمونه‌های اسمیر مثبت برای تشخیص مولکولی وارد بررسی شدند. از نمونه های خون استخراج DNA با روش فنل – کلروفرم صورت گرفت و آزمون مولکولی توسط پرایمرهای 18S rRNA، 16S rRNA و TamS جهت تشخیص جنس و گونه انجام شد. نتایج این مطالعه فراوانی فرم پیروپلاسمی توسط میکروسکوپ نوری را در ۹/۲۳ درصد از موارد نشان داد. یافته‌های آزمون 18S rRNA PCR در ۵/۳۸ درصد تائید کننده عفونت با تیلریا و بابزیا بود. همچنین نتایج آزمون PCR ژن Tams1 در همه این موارد نشان‌دهنده عفونت با تیلریا آنولاتا بود. در 16S rRNA PCR در ۳/۸۵ درصد نمونه‌ها آناپلاسما تشخیص داد شد. در هیچ موردی آلودگی به بابزیا مشاهد نشد. با توجه به موارد آلودگی با تیلریا آنولاتا و بابزیای گوسفندی و اهمیت برخی گونه‌های بابزیا اهمیت مطالعات بیشتر برای ارزیابی این بیماری‌ها در راستای بهبود صنعت دامپروری ضروری به‌نظر می‌رسد.

واژگان کلیدی: استان البرز، آناپلاسما ، بابزیا، گاو، تیلریا آنولاتا.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۷/۲۷ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۸

مقدمه

تیلریا و بابزیا متعلق به شاخه اپی‌کمپلکس‌ها، رده اسپوروزوا، زیر رده پیروپلاسما می‌باشد که توسط کنه منتقل می‌شود (۱). تیلریا عامل ایجاد بیماری تیلریوزیس در نشخوارکنندگان می‌باشد. یکی از گونه‌های مهم آن *تیلریا آنولاتا* می‌باشد که در گاو بیماریزاست (۲). بابزیا عامل بابزیوز یک بیماری تک‌یاخته‌ای خونی است که در حیوانات اهلی، وحشی و گاهی انسان ایجاد بیماری می‌کند. گونه مهم بابزیوز که در گوسفند و بز ایجاد بیماری می‌نمایند *بابزیا اویس* می‌باشد (۱). آناپلاسما متعلق به خانواده *آناپلاسماتاسه* و راسته *ریکتزیاله* می‌باشد که توسط کنه منتقل می‌شود. گونه مهم آن *مارجیناله* می‌باشد که در گاو اهمیت دارد (۳). برای اولین بار تیلریوز در ایران در سال ۱۳۱٤ با ورود گاو از فرانسه و تلف شدن چند راس از آن‌ها مورد توجه قرار گرفت. از سال ۱۳۱۵ تحقیق در مورد شناسایی این بیماری توسط دلپی انجام و عامل تیلریوز حاد در ایران *تیلریا آنولاتا* معرفی گردید (۲). بابزیوز در ایران توسط دلپی در سال ۱۹۳٦ در گوسفند و بز شناسایی و درسال ۱۹۸۱ توسط هاشمی و فشارکی جداسازی شد (۱). همچنین در سال ۲۰۰۹ اولین مورد آناپلاسموز در این کشور در گاو شناسایی شد (٤). از گذشته یکی از چالش‌های اساسی بشر تأمین نیازهای غذایی بوده است. در این میان پرورش گاو از اهمیت فوق‌العاده‌ای برخوردار است. در ایران هر ساله مقادیر قابل توجهی از تولیدات دامی بنا به علل مختلفی از جمله بیماری‌های انگلی تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسموز از بین می‌روند. از سوی دیگر برنامه جامعی جهت کنترل بابزیوز و آناپلاسموز در ایران وجود ندارد و حتی علیرغم برنامه واکسیناسیون برای تیلریوز گاوی مواردی از این بیماری‌ها به صورت پراکنده از اقلیم‌های متفاوت گزارش شد (۵, ٦). این بیماری‌های انگلی می‌توانند با تلف شدن دام، کاهش وزن و کاهش شدید تولید شیر خسارات قابل توجهی به دامپروران واقتصاد کشور وارد نمایند (۷). روش‌های متعددی جهت تشخیص این بیماری‌ها وجود دارد. معمولا به منظور

*۱- بخش تحقیق و تولید واکسن‌های باکتریایی بی‌هوازی، آزمایشگاه تحقیقاتی کلستریدیا، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، تهران، ایران(abdolimohamad3@yahoo.com)

۲- بخش تحقیق و تولید واکسن‌های باکتریایی بی‌هوازی، آزمایشگاه تحقیقاتی کلستریدیا، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان ترویج آموزش توسعه کشاورزی، تهران، ایران

تشخیص از مشاهده میکروسکوپی خون با رنگ آمیزی گیمسا استفاده می‌گردد که نسبت به روش‌های دیگر از حساسیت و ویژگی کمتری برخوردار می‌باشد (۸). ولی هنوز در بسیاری از نقاط جهان و ایران به عنوان تکنیک تشخیصی استفاده می‌شود. امروزه به دلیل حساسیت و ویژگی بالای آزمون‌های سرولوژیکی نظیر ایمونوفلورسنت غیرمستقیم Indirect immunofluorescence Assay (IFA)، ثبوت کمپلمان Complement-fixation (CF)، الیزا Enzyme-Linked ImmuneSorbent Assay (ELISA) و آزمون مولکولی PCR از آن‌ها جهت انجام مطالعات تحقیقاتی استفاده می‌گردد (۹, ۱۰). علیرغم اهمیت این تک‌یاختگان تاکنون بررسی در این زمینه در استان البرز انجام نشده است. با توجه به مطالب ذکر شده هدف از این تحقیق بررسی فراوانی آلودگی به تیلریا، بابزیا و آناپلاسما در گاوهای استان البرز به روش‌های میکروسکوپی وPCR می‌باشد.

مواد و روش‌کار

جمع آوری نمونه

در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹۸ پس از ثبت مشخصات دام‌ها در پرسش‌نامه و کد دهی از ۱۳۰ راس گاو به ظاهر سالم شامل ۱۲٤ راس ماده (۹ راس نابالغ و ۱۱۵ راس بالغ) و ٦ راس نر (۱ راس نابالغ و ۵ راس بالغ) شهرسنان های هشتگرد و ساوجبلاغ استان البرز به صورت تصادفی نمونه-گیری به منظور مطالعه توصیفی و تحلیلی انجام شد. برای این منظور ورید مارجینال گوش و همچنین ورید وداجی ضد عفونی و خونگیری به عمل آمد. نمونه‌های خون از ورید وداج در ماده‌ی ضدانعقاد اتیلن دی‌آمین ترا استیک اسید (Ethylenediaminetetraacetic acid) (EDTA) و در کنار یخ نگه‌داری و فورا به آزمایشگاه منتقل شد و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری گردید.

آزمون میکروسکوپی

از نمونه‌های خون ورید مارجینال گوش اسمیر تهیه و پس از فیکساسیون به روش گیمسا رنگ‌آمیزی شد. اسمیرهای خون از نظر وجود پیروپلاسم با بزرگنمایی ۱۰۰۰(X ۱۰۰۰) مورد بررسی میکروسکوپی قرار گرفتند. برای تائید از نمونه-های اسمیر مثبت، استخراج DNA با روش فنل کلروفرم صورت گرفت.

استخراج DNA

برای این منظور ۱ میلی‌لیتر بافر لیز کننده به نیم میلی‌لیتر نمونه خون اضافه شد. پس از سانتریفوژ به رسوب محلول پروتئیناز K و سدیم دودسیل سولفات (Sodium dodecyl sulfate) (SDS) اضافه گردید. در ادامه فنل- کلروفرم اضافه شد وترسیب با اتانل صورت گرفت (۱۱). پس از افزودن بافر *Tris EDTA 1X* (TE1X) بر روی نمونه‌ها آزمون PCR برای دو ژن 18S rRNA و TamS برای تشخیص *تیلریا* و بابزیا و 16S rRNA برای تشخیص آناپلاسما انجام شد.

آزمون PCR

حجم نهایی هر واکنش برابر با ۵۰ میکرولیتر که متشکل از ۱/۵ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی‌مولار، ۵ میکرولیتر بافر 10X ویژه PCR، ۱ میکرولیتر ۱۰dNTP میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر Taq DNA polymerase (فرمنتاز)، ۵ میکرولیتر DNA الگو و ۲/۵ میکرولیتر پرایمر forward و ۲/۵ میکرولیتر پرایمر reverse (سیناژن ایران) و ۳۱/۵ میکرولیتر آب مقطر دوبار تقطیر بود. از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از سویه واکسینال *تیلریا آنولاتا* و خون یک رأس گاو مبتلا به آناپالسما مارژیناله که دچار پارازایتمی شدید بود، به عنوان کنترل مثبت برای تائید موارد تیلریوز و آناپلاسموز به ترتیب استفاده شد. پرایمرهای T*ams*1 در جدول ۱ آورده شد. برای این منظور توالی ژن با نرم افزار آنلاین از NCBI گرفته شد و بر اساس توالی ژن T*ams*1 با *accession number*

(Z48739) توسط نرم افزار (Gene Runner program, Version 3.05). پرایمر اختصاصی طراحی شد. پرایمرهای اختصاصی 18s rRNA نیز بر اساس توالی ژن مورد نظر با accession # DQ866841.1 توسط نرم افزار Gene Runner طراحی شد (جدول ۱).

برنامه PCR دستگاه ترموسایکلر (اپندورف، آلمان) شامل واسرشت سازی اولیه ۹۵ درجه سلسیوس برای ۵ دقیقه، ۳۵ سیکل ۱ دقیقه در ۹۵ درجه سلسیوس، ٤٥ ثانیه در ۵۲ درجه سلسیوس، ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سلسیوس و متعاقب آن گسترش نهایی برای ۱۰ دقیقه در دمای ۷۲ درجه سلسیوس بود. سپس ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR با ۲ میکرولیتر محلول رنگ (6X) مخلوط و درون چاهک‌های ژل آگاروز ۱ درصد ریخته شد و پس از الکتروفورز با اتیدیوم بروماید (۰/۵ میکروگرم در میلی‌لیتر) به مدت ۱۵ دقیقه رنگ‌آمیزی گردید در نهایت توسط دستگاه ژل‌داک (Biocom) عکس-برداری انجام شد.

تحلیل آماری داده‌ها

بررسی آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ١٦ به صورت توصیفی و تحلیلی انجام شد. تحلیل داده‌ها با آزمون مربع کای و آزمون دقیق فیشر انجام شده است. در این تجزیه و تحلیل آلفا P مساوی ۰/۰۵ مبنای ارزیابی آماری در نظر گرفته شده است.

نتایج

در بررسی میکروسکوپی از مجموع ۱۳۰ گسترش خونی در ۱۲ مورد (۹/۲۳ درصد) آلودگی به تک‌یاخته مشاهده شد که ۷ مورد مربوط به عفونت پیروپلاسمی *تیلریا* و ۵ مورد آن *آناپلاسما* و یک مورد (۰/۷۷ درصد) عفونت توام دو تک یاخته بود (نگاره ۱) که در جدول ۲ به صورت انفرادی در هر دو مورد محاسبه گردید. از این تعداد در ٦ راس (٤/٨٤ درصد) ماده و ۱ راس (١٦/٦ درصد) نر آلودگی به *تیلریا آنولاتا* مشاهده شد. همچنین در ٤ (۳/۲۲ درصد) ماده و ۱ راس (١٦/٦ درصد) نر آلودگی به آناپلاسما مشاهده شد. آلودگی به *بابزیا* در این مطالعه مشاهده نگردید. در مورد فراوانی تیلریوز در دام‌های بالغ نسبت به نابالغ ٦ مورد به ۱ مورد به.

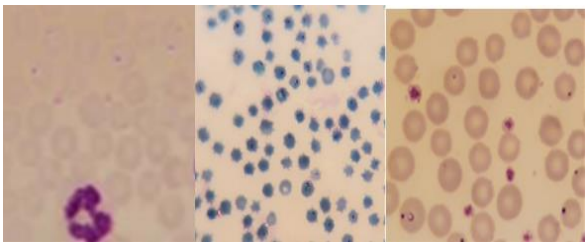
جدول ۱- پرایمرهای استفاده شده در این تحقیق

نام ژن	توالی نوکلئوتیدی پرایمر	اندازه محصول (جفت باز)	شماره دسترسی (GenBank)	منبع
Tams1	F:ATGTTGTCCAGGACCACCCTCAAG R:GAT AAG TTG TTA CGA ACA TGG	۸۷۰	Z48739	(۱۲)
18s rRNA	F: CAGATACCGTCGTAGTCC R: CCTTGTTACGACTTCTCC	۷۷۱	DQ866841.1	(۱۳)
16s rRNA	F: AAGATAATGACGGTACCTAC R: TTAGCTACAACACAGAGGCA	۳۹۰	LC432111.1	(١٤)

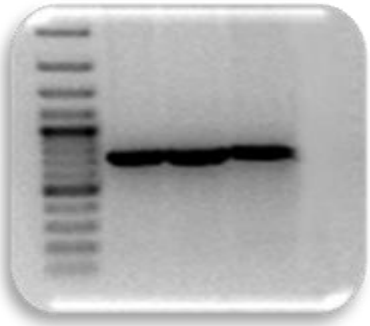
جدول ۲- فراوانی *تیلریا آنولاتا* و *آناپلاسما* در جمعیت دام‌های تحت مطالعه در دو شهرستان هشتگرد و ساوجبلاغ

جنس	هشتگرد	ساوجبلاغ	فراوانی *تیلریا آنولاتا*	فراوانی *آناپلاسما*	مجموع فراوانی در هر جنس
ماده	٤٨	٧٦	٦ (٤/٨٤ درصد)	٤ (٣/٢٢ درصد)	١٠ (٨/٠٦ درصد)
نر	٢	٤	١ (١٦/٦ درصد)	١ (١٦/٦ درصد)	٢ (٣٣/٣٣ درصد)
مجموع موارد	٥٠	٨٠	٧ (٥/٣٨ درصد)	٥ (٣/٨٥ درصد)	١٢ (٩/٢٣ درصد)

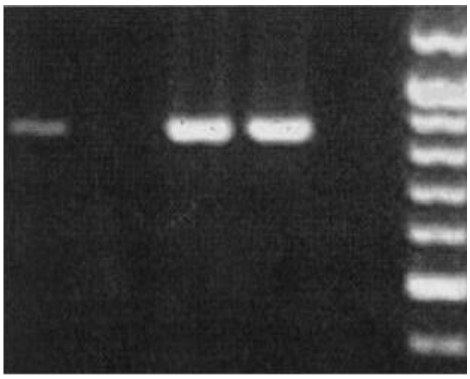
ترتیب بدست آمد. همین نتیجه برای آلودگی با آناپلاسموز حاصل شد. نتایج آزمون PCR با استفاده از شش پرایمری که در جدول ۱ مشخص شده، در ۷ مورد (۵/۳۸ درصد) برای ژن 18S rRNA در تیلریا ایجاد قطعه ۷۷۱ جفت بازی نموده که تائید کننده عفونت پیروپلاسمی با تیلریا و بابزیا می‌باشد (نگاره ۲). همچنین نتایج آزمون PCR برای ژن T*ams*1 در همه این موارد ایجاد قطعه ۸۷۰ جفت بازی نموده که تائید کننده عفونت با *تیلریا آنولاتا* است (نگاره ۳). درمورد PCR برای ژن آناپلاسما در ۵ مورد از ۱۳۰ نمونه (۳/۸۵ درصد) آلودگی تشخیص داده شد (نگاره ٤). در هیچ موردی آلودگی به بابزیا مشاهده نشد. نتایج یافته‌های فراوانی برای *تیلریا آنولاتا* و *آناپلاسما* در جدول ۲ آورده شده است.



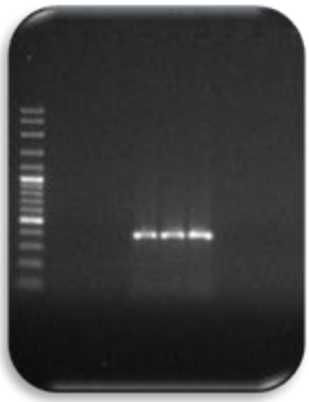
نگاره ۱- سمت راست عفونت توام *تیلریا آنولاتا* و *آناپلاسما* وسط *تیلریا آنولاتا* و سمت چپ *آناپلاسما* (رنگ‌آمیزی گیمسا، درشت‌نمایی 1000X).



نگاره ۲- نتایج الکتروفورز تکثیر ژن 18 SrRNA جهت شناسایی عفونت پیروپلاسمی (نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۱ درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید) چاهک ۱ لدر ۱۰۰ جفت بازی ، چاهک ۲ کنترل مثبت (سویه واکسینال *تیلریا آنولاتا*)، چاهک شماره‌های ۳ و ٤ نمونه‌های استان البرز و چاهک ۵ کنترل منفی.



نگاره ۳- نتایج الکتروفورز تکثیر ژنT*ams*1 جهت شناسایی *تیلریا آنولاتا* (نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۱% رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید) چاهک شماره‌های ۱ و ۲ و ۳ نمونه‌های استان البرز و چاهک ٤ کنترل مثبت (سویه واکسینال *تیلریا آنولاتا*)، چاهک ۵ کنترل منفی چاهک ٦ لدر ۱۰۰ جفت بازی.



نگاره ٤- نتایج الکتروفورز تکثیر ژن 16S rRNA جهت شناسایی عفونت *آناپلاسما* (نمونه‌ها روی ژل آگاروز ۱درصد رنگ‌آمیزی شده با اتیدیوم بروماید) چاهک ۱ لدر ۱۰۰ جفت بازی، چاهک ۲ کنترل منفی، چاهک ۳ خالی، چاهک ٤ و ٥ نمونه‌های استان البرز، چاهک ٦ کنترل مثبت

نتایج تحلیل داده‌ها با آزمون مربع کای و آزمون دقیق فیشر نشان داد اختلاف آماری معنی‌دار بین جنس، سن (بلوغ و عدم بلوغ) و وضعیت ابتلا به *تیلریا آنولاتا* و *آناپلاسما* وجود ندارد ($P > ۰/۰۵$).

بحث

در ایران هر ساله مقادیر قابل توجهی از تولیدات دامی بنا به علل مختلفی از جمله بیماریهای انگلی دامی از بین می‌روند. آناپلاسموز، بابزیوز و تیلریوز که اغلب نشخوارکنندگان را درگیر می‌کنند با تلف شدن دام، کاهش وزن و کاهش تولید شیر خسارات قابل‌توجهی را به دامپروران واقتصاد کشور وارد می‌نمایند (۷). به علاوه هزینه مبارزه با کنه را نیز به صنعت دامداری وارد می‌نماید. پیشینه تحقیقات در ایران در زمینه شیوع تیلریوز، بابزیوز و آناپلاسموزحاکی از شیوع این بیماری‌ها در اقلیم‌ها و میزبان‌های مختلف است (۱۵). فراوانی این بیماری‌ها به عواملی متعددی نظیر نژاد دام، انتقال دام، سن و وضعیت بدن دام، بارداری ، تغییرات ناگهانی محیط و اضطراب بستگی دارد (٦). با توجه به نتایج مطالعات انجام شده در ایران در اقلیم‌های مختلف کشور بیان‌گر آن است که جمعیت گاوهای ایران بیش‌تر به بیماری تیلریوز مبتلا می‌شوند.به عنوان مثال در بررسی جم پور وهمکاران در شهرستان گرمسار موارد ابتلا زیادی به *تیلریا* گزارش شد (۵). البته این میزان فراوانی در مناطق گرمسیر و نیمه‌گرمسیر و دارای رطوبت نسبی بالا بیشتر می‌باشد (١٦). به عنوان مثال بیشترین میزان آلودگی با *تیلریا آنولاتا* در استان خوزستان ٦٥/٨٣ درصد و در کهکیلویه و بویراحمد ٥٧/٤٤ درصد گزارش گردید (٦). برعکس عفونت بابزیا در گاو شیوع کمتر و در نشخوارکنندگان کوچک (گوسفند و بز) شیوع بیستری دارد (۷). بر اساس نتیجه‌ی مطالعه حاضر، فراوانی تیلریوز در استان البرز بیشتر از سایر انگل‌های خونی بود. *آناپلاسما* پس از *تیلریا* از فراوانی بالایی در گاوهای این استان برخوردار بود. درحالی‌که در هیچ موردی عفونت با بابزیا مشاهده نشد. نتیجه این بررسی نزدیک به نتایج فخار و همکاران و خمیس‌پور و همکاران در ایران بود که گزارش کردند میزان شیوع گونه‌های *بابزیا* در گله‌های گاو ایران بین ۲-۰ درصد متغیر است (۱۷، ۱۸). در گذشته اکثر مطالعات صورت گرفته در زمینه تشخیص گونه تیلریوز و بابزیوز بر اساس آزمایش میکروسکوپی بوده که از حساسیت و ویژگی کمی برخوردار است. لیکن این روش‌ها اختصاصی نیستند و امکان واکنش متقاطع در بین گونه‌ها وجود دارد. همچنین احتمال نتایج مثبت و منفی کاذب در فاز اولیه عفونت و موارد حامل یا موارد با پارازیتمی کم وجود دارد (۸). برعکس روش‌های مولکولی از جمله PCR، حساسیت و ویژگی بالایی در شناسایی تک‌یاخته‌های *بابزیا* و *تیلریا* دارند. همچنین می‌تواند موارد حامل را شناسایی نماید که در روش آزمایش مستقیم امکان‌پذیر نیست. امروزه از روش‌های دیگر تشخیصی نظیر روش‌های سرولوژیک ثبوت کمپلمان، ایمنوفلورسانت غیرمستقیم و الیزا به منظور تشخیص استفاده می‌شود (۹, ۱۰). رزمی و خداوردی در سال ۲۰۰۸ میزان

آلودگی به *تیلریا آنولاتا* را در۳۵ گاو دارای علائم بالینی شهرستان مشهد به دو روش میکروسکوپی و PCR به ترتیب ۱۰ مورد (۲۸/۵ درصد) و ۱۸ مورد (۵۱/٤ درصد) گزارش نمود (۱۹). حیدرپور بمی و همکاران نیز ارزیابی در پنج ناحیه نیمه شرقی ایران (زابل، لار، فردوس، سمنان و گرگان) انجام دادند که نتیجه مشابهی بدست آمد (۲۰) که نشان-دهنده اختصاصیت بیشتر PCR می‌باشد. در اکثر مطالعات، به منظور تشخیص *تیلریا* با آزمون PCR از ژن 18S rRNA استفاده می‌گردد و از ژن T*ams* جهت تفریق گونه‌های *تیلریا* استفاده می‌شود (۲۱). در این بررسی برای تائید موارد اسمیر مثبت، آزمون مولکولی انجام شد که در تمامی موارد وجود عفونت تائید گردید. از سوی دیگر فراوانی موارد مثبت در جنس ماده بیشتر از نر بود؛ هر چند این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد(P >۰/۰۵). نتایج این مطالعه نشان داد فراوانی تیلریا آنولاتا در دو رده سنی نابالغ و بالغ تقریباً مشابه است و اختلاف معنی‌داری وجود ندارند. در مورد فراوانی آناپلاسموز نیز همین وضعیت مشاهده می‌شود (P >۰/۰۵). در مطالعه‌ی رزمی و همکاران در سالهای ۲۰۰۳ و ۲۰۰٦ نتایج مشابه این مطالعه در ارتباط با سن و جنس گوسفندان آلوده به این انگل‌های خونی در اهواز به دست آورد (۲۲،۲۳). بر اساس این اطلاعات به نظر می‌رسد هر دو جنس دام‌ها در گاو و گوسفند به میزان برابری نسبت به آلودگی با این انگل‌ها حساس هستند. در مجموع یافته‌های پژوهش اخیر آلودگی گاوهای این استان را به *تیلریا آنولاتا* و *آناپلاسما* نشان می‌دهد. لذا استفاده از گوشت و شیر آلوده می‌تواند مشکلات جدی را برای سلامت انسان ایجاد نماید. بنابراین اتخاذ راه‌حلی جهت کنترل و پیشگیری از بیماری-های فوق‌الذکر ضروری به‌نظر می‌رسد. پیشنهاد می‌شود با توجه به اهمیت برخی گونه‌های *بابزیا* و موارد بالای آلودگی با *تیلریا آنولاتا* و بابزیای گوسفندی در ایران و نیز مطالعات محدودی که در این زمینه در انسان صورت گرفته است، مطالعات بیشتر در این زمینه صورت گیرد. همچنین با طراحی پرایمرهای اختصاصی و انجام Multiplex PCR در حداقل زمان گونه‌های *تیلریا* و *بابزیا* را شناسایی نمود..

فهرست منابع

1. Kalani H, Fakhar M, Pagheh A. An overview on present situation babesiosis and theileriosis and their distribution of ticks in Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology. 2012;5(4):59-71.
2. vosughi H, Goudarzi R. Prevalence of bovine theileriosis in Boroujerd city. Veterinary Histobiology 2013;1(2):65-9.
3. Noaman V. A review of anaplasmosis and the prevalence of Anaplasma marginale in cattle in Iran and the world. Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi). 2017; 116: 2-15.
4. Noaman V, Nabinejad A, Shahmoradi A, Esmaeilkhanian S. Molecular detection of bovine leukocytic Anaplasma species in Isfahan, Iran. Research in Molecular Medicine. 2016;4(2):47-51.
5. Jampour M, Tehrani Sharif M, Alavi S, Abil M. Determination of the prevalence rate of cutaneous theileriosis in infected cattle with theileriosis in Garmsar, Iran. The 15th Iranian Veterinary Congress; Tehran, Iran.2008.
6. Dehkordi FS, Parsaei P, Saberian S, Moshkelani S, Hajshafiei P, Hoseini S, et al. Prevalence study of T. annulata by comparison of four diagnostic techniques in Southwest Iran. Bulgarian Journal of Veterinary Medicine. 2012;15(2);123-130.
7. Razmi G, Pourhosseini M, Yaghfouri S, Rashidi A, Seidabadi M. Molecular detection of Theileria spp. and Babesia spp. in sheep and ixodid ticks from the northeast of Iran. The Journal of parasitology. 2013;99(1):77-81.
8. Almería S, Castella J, Ferrer D, Ortuno A, Estrada-Peña A, Gutierrez J. Bovine

piroplasms in Minorca (Balearic Islands, Spain): a comparison of PCR-based and light microscopy detection. Veterinary Parasitology. 2001;99(3):249-59.
9. Böse R, Jacobson R, Gale K, Waltisbuhl D, Wright I. An improved ELISA for the detection of antibodies againstBabesia bovis using either a native or a recombinantB. bovis antigen. Parasitology research. 1990;76(8):648-52.
10. Silva MG, Henriques G, Sanchez C, Marques PX, Suarez CE, Oliva A. 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. 2009;166(1-2):66-72.
11. Sambrook J, Fritsch EF, Maniatis T. Molecular cloning: a laboratory manual. 4th edition. New York: Cold spring harbor laboratory press; 1989.
12. Shiels BR, d'Oliveira C, McKellar S, Ben-Miled L, Kawazu S-i, Hide G. Selection of diversity at putative glycosylation sites in the immunodominant merozoite/piroplasm surface antigen of Theileria parasites. Molecular and biochemical parasitology. 1995;72(1-2):149-62.
13. García-Sanmartín J, Aurtenetxe O, Barral M, Marco I, Lavin S, García-Pérez A, et al. Molecular detection and characterization of piroplasms infecting cervids and chamois in Northern Spain. Parasitology. 2007;134(3):391.
14. Amer S, Kim S, Yun Y, Na K-J. Novel variants of the newly emerged Anaplasma capra from Korean water deer (Hydropotes inermis argyropus) in South Korea. Parasites & vectors. 2019;12(1):365.
15. Noaman V, Shayan P. Molecular detection of Anaplasma phagocytophilum in carrier cattle of Iran-first documented report. Iran J Microbiol. 2009;1(2):37-42.
16. Mahmoudvand P, Varshosaz M, Nayebzadeh H, Rocky A, Pourmahdi Borujeni M. Study the frequency of blood parasites of sheep in Dezful suburb, southwest Iran. Iranian Veterinary Journal. 2019;15(3):68-77.
17. Fakhar M, Hajihasani A, Maroufi S, Alizadeh H, Shirzad H, Piri F, et al. An epidemiological survey on bovine and ovine babesiosis in Kurdistan Province, western Iran. Tropical animal health and production. 2012;44(2):319-22.
18- Khamesipour F, Doosti A, Koohi A, Chehelgerdi M, Mokhtari-Farsani A, Chengula AA. Determination of the presence of Babesia species in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. Archives of Biological Sciences. 2015;67 (1):83-90.
19. Razmi G, Khodaverdi M. Diagnosis of Theileria annulata in cattle with subclinical or clinical symptoms by polymerase chain reaction (PCR). 15th Iranian Veterinary Congress; Tehran, Iran.2008.
20. Heidarpour Bami M, Khazraiinia P, Haddadzadeh H, Kazemi B. Identification of Theileria species in sheep in the eastern half of Iran using nested PCR-RFLP and microscopic techniques. Iranian Journal of Veterinary Research. 2010;11(3):262-6.
21. Esmaelizad M, Niaraki SJ, Fesharaki RH. Molecular and phylogenetic analysis of the partial tams1 gene sequence of a vaccine strain of Theileria annulata. Brazilian Archives of Biology and Technology. 2011;54(6):1109-16.
22. Razmi GR, Eshrati H, Rashtibaf, M. Prevalence of Theileria spp. infection in sheep in South Khorasan province, Iran. Veterinary Parasitology. 2006;140 (3-4):239-243.
23. Razmi GR, Hosseini M, Aslani MR. Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran. Veterinary Parasitology. 2003; 116 (1):1-6.