بررسی عوامل مسببه‌ی اختلال در تشخیص بالینی و میکروسکوپیک بیماری تیلریوز در جمعیت نشخوارکنندگان کوچک استان کردستان

حمید سیفی[۱]، میثم مروجی[۲*]، صابر اسمعیلی[۳]، احسان مصطفوی[۴]

۱) دانش آموخته‌ی دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲) گروه علوم درمانگاهی، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۳) گروه میکروبیولوژی و آمار زیستی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

۴) گروه اپیدمیولوژی و آمار زیستی، انستیتو پاستور ایران، تهران، ایران

نویسنده مسئول: Email: moravedji@iausdj.ac.ir

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۶/۲ پذیرش نهایی: ۱۴۰۰/۸/۲۷)

چکیده

زمینه و هدف: بیماری تیلریوز یکی از بیماری‌های شایع در جمعیت نشخوارکنندگان کوچک استان کردستان می‌باشد که تشخیص بالینی و میکروسکوپیک آن با مشکلات جدی روبه‌روست؛ به‌طوری‌که وجود این نقیصه، خسارات مالی هنگفتی را سالیانه بر پیکره‌ی صنعت دامپروری این استان وارد می‌آورد. هدف از انجام مطالعه‌ی کنونی، مقایسه‌ی یافته‌های بالینی و میکروسکوپیک در گوسفندان و بزهای آلوده به کنه، ارزیابی ارزش تشخیصی میکروسکوپی بیماری تیلریوز و نهایتاً شناسایی نقیصه‌های تکنیکی و یافتن راهکارهای مطمئن به‌منظور کاهش خطاهای تشخیصی در هر دو روش بوده است. مواد و روش‌ها: در این مطالعه، پس از ثبت علایم بالینی ۲۵۰ رأس از نشخوارکنندگان کوچک آلوده به کنه (۲۳۰ رأس گوسفند و ۲۰ رأس بز)، از خون محیطی و غده‌ی لنفاوی پیش‌کتفی هر یک گسترش تهیه شد. نتایج: نتایج نشان دادند که فرم پیروپلاسمی تیلریا در گسترش خونی ۲۲۹ رأس و اجسام آبی کُخ در گسترش لنفاوی ۲۳۸ رأس از دام‌ها وجود داشتند. آنالیزهای آماری نیز مبیّن آن بودند که میان نتایج حاصل از گسترش‌های خونی و لنفاوی، ارتباط آماری معنی‌داری وجود داشته ($p<۰/۰۵$) و همچنین ارتباط آماری معنی‌داری میان هر یک از گسترش‌های تهیه شده با تعداد ضربان قلب، تغییر در رنگ مخاطات ملتحمه و درجه‌ی حرارت به‌چشم خورد ($p<۰/۰۵$). بحث و نتیجه‌گیری: تطابق یافته‌های بالینی و آزمایشگاهی مؤید آن بودند که علت اصلی مشکل در تشخیص بالینی تیلریوز در استان کردستان، درگیری دام‌ها با فرم‌های غیرحاد بیماری (نظیر *T. ovis*) در اغلب جمعیت‌های نشخوارکنندگان کوچک بوده و بررسی گسترش لنفی به‌همراه گسترش خونی، کمک شایانی به کاهش چشم‌گیر خطای آزمایشگاهی می‌نماید.

واژگان کلیدی: تیلریوز، گوسفند، بز، پیروپلاسم، کُخ

مقدمه

بیماری تیلریوز همچنان یکی از بیماری‌های مهم در جمعیت نشخوارکنندگان ایران است (Heidarpour Bami *et al.* ۲۰۱۰) که وجود آن نیز در استان کردستان ایران مسبوق به سابقه می‌باشد (Khezri *et al.* ۲۰۱٦; Habibi *et al.* ۲۰۲۰). البته گزارشی از وجود فرم خوش‌خیم بیماری در کردستان عراق نیز وجود دارد (Hassen and Meerkhan ۲۰۲۰). تیلریا دارای گونه‌های متعددی است که میزان حدت بیماری، بسته به نوع گونه تیلریا متفاوت می‌باشد (Agina *et al.* ۲۰۲۰). به‌عنوان مثال: (*Theileria hirci*) *Theileria lestoquardi* که در منابع از آن تحت عنوان عامل تیلریوز بدخیم در نشخوارکنندگان کوچک در ایران یاد می‌شود، باعث ایجاد علائم بالینی نظیر: رنگ پریدگی و زردی مخاطات، تورم غدد لنفاوی، پنومونی، تب بالا و کاهش شدید اشتها شده (Razmi and Yaghfoori. ۲۰۱۳; El Imam and Taha ۲۰۱۵) در حالی‌که عامل ایجاد کننده‌ی تیلریوز خوش‌خیم در نشخوارکنندگان کوچک (*Theileria ovis*)، برخلاف نوع بدخیم بیماری، علائم بالینی قابل توجهی را برجای نگذاشته و بیشترین یافته‌ی بالینی آن کاهش میزان تولیدات دامی و کاهش تدریجی وزن می‌باشد (Tumwebaze *et al.* ۲۰۲۰; Naz *et al.* ۲۰۱۲). همان‌طور که اشاره شد، وجود بیماری تیلریوز در جمعیت نشخوارکنندگان استان کردستان به اثبات رسیده است (Khezri *et al.* ۲۰۱٦; Habibi *et al.* ۲۰۲۰)؛ اما علی‌رغم وجود سابقه‌ی دیرین بیماری در منطقه، همچنان تشخیص آن چه از بُعد بالینی و چه از بُعد آزمایشگاهی برای دامپزشکان شاغل در بخش خصوصی امری بسیار چالش‌برانگیز می‌باشد، چرا که کلینیسین‌های بخش خصوصی علت اصلی مشکل در تشخیص را به مبهم بودن علایم بالینی مرتبط دانسته و از سوی دیگر نیز دامپزشکان شاغل در آزمایشگاه-های بخش خصوصی، علت خطا در تشخیص را غالباً به دشوار بودن رؤیت اشکال پیروپلاسمی تیلریا در گسترش‌های خونی تهیه شده از گردش خون محیطی نشخوارکنندگان کوچک، به‌ویژه در موارد ابتلا به فرم خفیف بیماری، نسبت می‌دهند (Constable *et al.* ۲۰۱۷).

مشکل مطرح شده نیز با توجه به اهمیت خاص خود، پایه‌گذار انجام این مطالعه شد. هدف از انجام تحقیق کنونی آن بود که عیناً با انجام مسیرهای بالینی و آزمایشگاهی طی شده توسط همکاران، به مطالعه‌ی دقیق چالش‌ها و خطاهای تشخیصی گزارش شده از سوی ایشان پرداخته شده تا پس از پی بردن خطاهای احتمالی (به‌خصوص به‌هنگام تشخیص میکروسکوپیک بیماری)، پیشنهادات و راهکارهای لازم به ایشان در جهت رفع نقیصه‌ها به‌هنگام بررسی‌های آتی ارایه گردد تا بدین صورت بتوان بدون نیاز به بهره‌گیری و مداخله‌ی سایر روش‌های زمان‌بر و هزینه‌بردار آزمایشگاهی نظیر IFAT و PCR (Nayel *et al.* ۲۰۱۲; Altay *et al.* ۲۰۰۵)، همچنان با اعتماد کامل و با حداقل خطای ممکن،

وجود بیماری را توسط همان ابزار ساده آزمایشگاهی تشخیص بیماری تیلریوز (میکروسکوپ)، قویاً تأیید یا رد نمود؛ زیرا در صورت میسر شدن این عمل، نه-تنها کمک شایانی در امر تشخیص به همکاران بخش بالینی صورت می‌پذیرد، بلکه در کلیه‌ی هزینه‌های تحمیلی به دامداران نظیر: پرداخت هزینه‌های چندباره‌ی تشخیص آزمایشگاهی بیماری، پرداخت حق ویزیت‌های مکرر به دامپزشکان و جلوگیری از تهیه‌ی انواع داروها، بسیار مقرون به صرفه خواهد بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه از نوع مقطعی بوده که انجام تمامی مراحل آن (اعم از معاینات بالینی، نمونه‌گیری و بررسی‌های آزمایشگاهی) از ابتدای شهریورماه لغایت انتهای آذرماه سال ۱۳۹۹ به طول انجامید؛ نتایج حاصله نیز در خاتمه توسط نرم‌افزار آماری SPSS نسخه‌ی ۲۱ و آزمون آماری مربع کای مورد تحلیل و بررسی واقع شد (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵).

مطالعات بالینی

به‌منظور شروع مطالعه ابتدا به گله‌های گوسفند و بز ٤ شهرستان بانه، مریوان، دیواندره و سنندج که همگی دارای سابقه‌ی آلودگی با کنه بودند، مراجعه گردید. سپس از هر یک از گوسفندان و بزهایی که آلودگی به کنه در آن‌ها رؤیت شد، مطابق جدول ٤، معاینات بالینی از: غده‌ی لنفاوی پیش‌کتفی (Hassen and Meerkhan ۲۰۲۰)، مخاطات ملتحمه‌ی چشم، درجه حرارت بدن، وضعیت دستگاه تنفسی، وضعیت دستگاه قلبی – عروقی و وضعیت دستگاه گوارش به‌عمل آمد. پس از اخذ علایم بالینی مورد نظر از هر دام، اقدام به تهیه‌ی گسترش خونی (Blood smear) از خون محیطی دام (گوش) و گسترش لنفی (Lymphatic puncture) از غده‌ی لنفاوی پیش-کتفی بر روی لام گردید. پس از خشک شدن گسترش‌های تهیه شده، به منظور تثبیت آن‌ها چند قطره الکل متانول به سطح گسترش‌ها افزوده شد که پس از خاتمه‌ی فرایند تثبیت، کد دام‌های مربوطه توسط قلم الماس بر روی لام‌ها حک گردید (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵; Majidiani *et al.* ۲۰۱٦). در نهایت لام‌های فیکس شده به‌منظور انجام فرایند رنگ‌آمیزی و مطالعات میکروسکوپیک توسط جعبه‌ی لام به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج ارسال شدند.

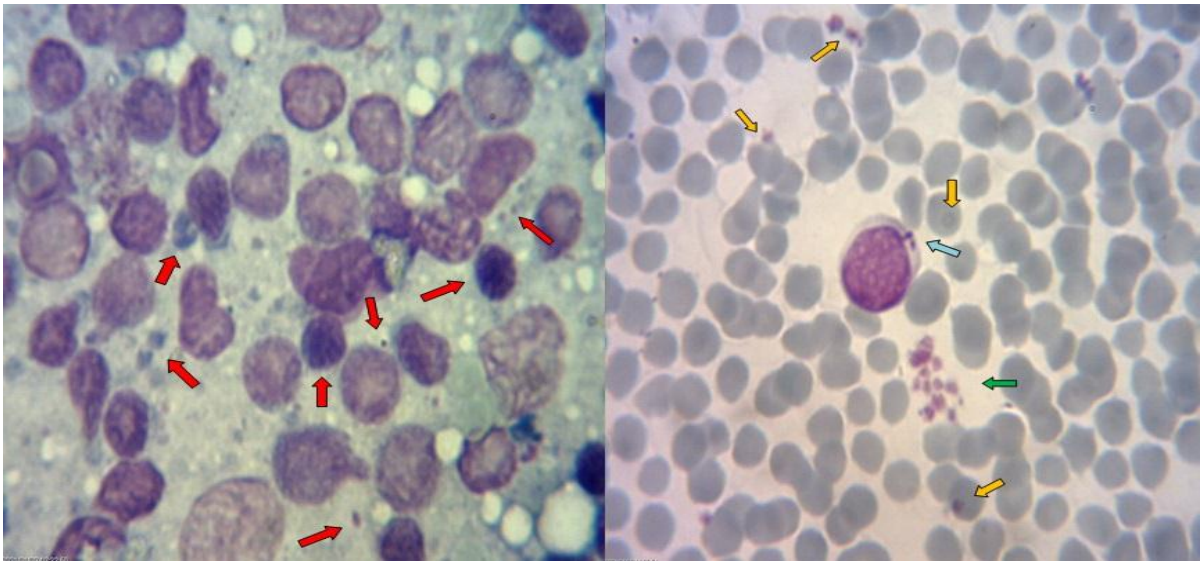
مطالعات آزمایشگاهی

گسترش‌های خونی و لنفی ارسال شده به آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج، جهت رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا و سپس انجام بررسی‌های میکروسکوپیک بر روی آن-ها، آماده‌سازی شدند (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵). پس از اتمام مراحل رنگ‌آمیزی، گسترش‌های خونی با استفاده از عدسی چشمی

(×۱۰۰) میکروسکوپ نوری (Olympus، ساخت کشور ژاپن) مورد بررسی قرار گرفتند.

نتایج

بر اساس نتایج مندرج در جدول ۱، مشخص گردید که ارتباط آماری معنی‌داری میان امکان رؤیت هم-زمان فرم‌های پیروپلاسمی انگل تیلریا در گسترش-های خونی تهیه شده با رؤیت اجسام آبی کُخ در گسترش لنفاوی وجود دارد ($p<۰/۰۵$). همچنین مطابق مندرجات جدول ۲ نیز ارتباط آماری معنی-داری میان بروز برخی از علایم بالینی نظیر: تغییرات رنگ مخاطات چشم (زرد و کمی زرد)، درجه‌ی حرارت بدن و تغییرات دستگاه قلبی – عروقی (تعداد ضربان) با مشاهده‌ی فرم پیروپلاسمی انگل تیلریا در گسترش خونی و یا با مشاهده‌ی اجسام آبی کُخ در گسترش لنفاوی مشهود بود ($p<۰/۰۵$)؛ مضافاً اینکه در مقایسه‌ی هم‌زمان علایم بالینی با هر دو نوع گسترش نیز ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده گردید ($p<۰/۰۵$). شکل ۱ نیز به‌وضوح نمایانگر وجود اشکال مختلف و متنوع جسم آبی کُخ و فرم‌های پیروپلاسمی در گسترش‌های لنفی و خونی بوده که توسط پیکان‌های رنگی در هر دو شکل نشان داده شده است؛ همچنین فرم پیروپلاسمی تیلریا در گسترش‌های خونی توسط پیکان‌های رنگی، به‌خوبی مشخص گردیده است.



شکل ۱– شکل سمت راست نشان‌دهنده‌ی وجود اجسام آبی کخ در سیتوپلاسم لنفوسیت بوده (پیکان آبی) و همچنین نشان‌دهنده‌ی فرم پیروپلاسمی تیلریا در درون گلبول‌های قرمز (پیکان نارنجی) و پلاسما (پیکان سبز) می‌باشد. شکل سمت چپ نیز نشان‌دهنده‌ی وجود اشکال متنوع اجسام آبی کُخ در سیتوپلاسم لنفوسیت‌ها و مایع لنفی اخذ شده از غده‌ی لنفاوی پیش‌کتفی دام می‌باشد (پیکان قرمز).رنگ آمیزی گیمسا، درشت‌نمایی ۱۰۰×

جدول ۱- بررسی یافته‌های میکروسکوپیک

وضعیت مشاهده‌ی فرم پیروپلاسمی تیلریا در گسترش خونی	مشاهده	عدم مشاهده
	۲۲۹ (٪۹۱/۶)	۲۱ (٪۸/۴)
وضعیت مشاهده‌ی اجسام آبی کُخ در گسترش لنفاوی	مشاهده	عدم مشاهده
	۲۳۸ (٪۹۵/۲)	۱۲ (٪۴/۸)

امکان مشاهده‌ی توأم فرم پیروپلاسمی تیلریا و اجسام آبی کُخ	مشاهده	عدم مشاهده	ارزش p
	۲۲۹ (٪۹۱/۶)	۲۱ (٪۸/۴)	$p<۰/۰۵$

جدول ۲- موارد بررسی شده در معاینات بالینی

اندازه‌ی غده‌ی لنفاوی پیش‌کتفی	طبیعی	کمی متورم	متورم	ارزش p
	۱۴۸ (٪۵۹/۲)	۵۸ (٪۲۳/۲)	۴۴ (٪۱۷/۶)	p>۰/۰۵
رنگ مخاطات ملتحمه‌ی چشم	طبیعی	کمی زرد	زرد	ارزش p
	۴۸ (٪۱۹/۲)	۱۶۵ (٪۶۶)	۳۷ (٪۱۴/۸)	$p<۰/۰۵$
درجه‌ی حرارت بدن	متوسط حرارت±انحراف معیار	طبیعی	غیرطبیعی	ارزش p
	۰/۹۱±۳۹/۳۴	۶۹ (٪۲۷/۶)	۱۸۱ (٪۷۲/۴)	$p<۰/۰۵$
تعداد حرکات تنفسی و وضعیت دستگاه تنفسی	متوسط تعداد±انحراف معیار	وضعیت طبیعی	وضعیت غیرطبیعی	ارزش p
	۱۲/۶۴±۲۹/۶۷	۲۱۷ (٪۸۶/۸)	۳۳ (٪۱۳/۲)	$p>۰/۰۵$
تعداد ضربان قلب و وضعیت دستگاه قلبی – عروقی	متوسط تعداد±انحراف معیار	وضعیت طبیعی	وضعیت غیرطبیعی	ارزش p
	۱۳/۷۱±۸۹/۷۵	۶۳ (٪۲۵/۲)	۱۸۷ (٪۷۴/۸)	$p<۰/۰۵$
تعداد انقباضات شکمبه و وضعیت دستگاه گوارش	متوسط تعداد±انحراف معیار	وضعیت طبیعی	وضعیت غیرطبیعی	ارزش p
	۱/۲۷±۲/۷۶	۲۰۹ (٪۸۳/۶)	۴۱ (٪۱۶/۴)	$p>۰/۰۵$

بحث و نتیجه‌گیری

اساس انجام تحقیق کنونی، بررسی نقاط ضعف و چالش‌های تشخیصی بیماری تیلریوز از دو لحاظ بالینی و آزمایشگاهی در استان کردستان می‌باشد.

از لحاظ بالینی، بیماری تیلریوز در گوسفندان و بزها به دو صورت خوش‌خیم و بدخیم وجود داشته که نوع بدخیم آن نیز بسته به مقاومت دام و همچنین وجود کنه‌ها به سه فرم حاد، تحت حاد و مزمن ایجاد می‌گردد (Tageldin *et al.* ۱۹۹۲ ;Guo *et al.* ۲۰۰۲).

علایم ایجاد شده در فرم حاد تیلریوز بدخیم گوسفندان و بزها مشابه با تیلریوز حاره‌ای در گاو بوده که با نشانه‌هایی از قبیل: تب شدید، کم‌خونی شدید، زردی شدید و تورم غدد لنفاوی قابل تشخیص می‌باشد (Tageldin *et al.* ۱۹۹۲ ;Guo *et al.* ۲۰۰۲; El Imam and Taha ۲۰۱۵; Constable *et al.* ۲۰۱۷).

در موارد تحت حاد و مزمن فرم بدخیم بیماری تیلریوز، به‌استثنای آنمی و لاغری مفرط، سایر علایم نام‌برده چندان جلب توجه ننموده (Tageldin *et al.*۱۹۹۲; Guo *et al.* ۲۰۰۲; Constable et al. ۲۰۱۷)، مضافاً اینکه در نوع خوش‌خیم تیلریوز نیز تنها یافته‌ی بالینی افت تولید شیر و گوشت می‌باشد (Tumwebaze *et al.*۲۰۲۰; Naz *et al.* ۲۰۱۲).

در مطالعه‌ی جهت‌دار کنونی نیز به‌جهت بررسی چالش‌های تشخیصی در بالین، صرفاً اقدام به بررسی یافته‌های بالینی در نشخوارکنندگان کوچک آلوده به کنه شد؛ زیرا وجود کنه بر روی دام‌ها، به‌صورت کلی شانس ابتلای آن‌ها به انواع فرم‌های بیماری تیلریوز را افزایش می‌دهد (Constable *et al.* ۲۰۱۷).

در تحقیق کنونی نیز از کل علایم بالینی مورد مطالعه، میان برخی از یافته‌های بالینی (مانند: زردی خفیف مخاطات ملتحمه، افزایش درجه‌ی حرارت و افزایش تعداد ضربان قلب) با بروز بیماری ارتباط آماری معنی‌دار مشاهده گردید که با کمی تعمق می‌توان استنتاج نمود که تظاهرات بالینی معنی‌دار شده، منطبق بر تظاهرات بالینی فرم تحت بالینی و مزمن نوع بدخیم و یا نوع خوش‌خیم بیماری تیلریوز بوده است (Constable *et al.* ۲۰۱۷).

لازم به ذکر است که دامنه‌ی طبیعی تعداد حرکات تنفسی در گوسفند و بز به ترتیب ۲۰-۱۰ عدد (Constable *et al.* ۲۰۱۷) و ۴۰-۱۵ حرکت در دقیقه (Smith *et al.* ۲۰۲۰) می‌باشد؛ که با وجود افزایش حرکات تنفسی در کل جمعیت نشخوارکنندگان کوچک مطالعه‌ی کنونی، ۲۹/۶۷±۱۲/۶۴ (متوسط تعداد±انحراف معیار)، ارتباط آماری معنی‌داری میان این یافته با بروز بیماری مشاهده نشد. با استناد بر منابع معتبر دامپزشکی، حصول این نتیجه منطبق بر علایم بالینی دام‌های درگیر با فرم‌های غیر حاد نوع بدخیم یا فرم خوش‌خیم بیماری می‌باشد (Constable *et al.*

۲۰۱۷; Smith *et al.* ۲۰۲۰)؛ علاوه بر آن نتیجه‌ی به‌دست آمده از این یافته‌ی بالینی، مشابه نتیجه‌ی تحقیق آقامحمدحسن و همکاران بر روی بیماری تیلریوز در جمعیت نشخوارکنندگان کوچک شمال ایران بوده است که در آن مطالعه نیز ارتباط آماری معنی‌داری میان افزایش تعداد حرکات تنفسی با بروز بیماری تیلریوز مشاهده نگردید (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵).

در مطالعه کنونی تورم غدد لنفاوی تنها در ۱۰۲ مورد (۴۰/۸٪) مشاهده گردید که با توجه به مثبت شدن تعداد کثیری از نمونه‌ها و معنی دار نبودن این یافته، می‌توان اذعان داشت که در این فرم بیماری، تورم غدد لنفاوی نمی‌تواند یافته بالینی ثابتی باشد که این نتیجه به‌طور مشابه با نتیجه‌گیری آقامحمدحسن و همکاران در رابطه با این یافته‌ی بالینی همخوانی دارد (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵).

عدم تحت تأثیر قرار گرفتن تعداد انقباضات شکمبه و وضعیت دستگاه گوارش در این مطالعه، در انطباق کامل با درگیری بیماران با فرم‌های غیر حاد نوع بدخیم یا فرم خوش‌خیم بیماری می‌باشد (Constable *et al.* ۲۰۱۷; Smith *et al.* ۲۰۲۰).

به‌طور خلاصه با توجه به نتایج به‌دست آمده از یافته‌های بالینی مطالعه‌ی کنونی، در شرایط بالینی کاملاً مشابه با سایر کلینیسین‌ها، مشخص می‌شود که مهم‌ترین چالش‌های تشخیص بالینی بیماری برای کلینیسین‌های منطقه، عوامل ذیل بوده است: ۱- عدم شیوع فرم حاد نوع بدخیم بیماری (چهره‌ی شناخته شده‌ی بیماری توسط غالب کلینیسین‌ها) و ۲- عدم آگاهی کافی نسبت به تظاهرات بالینی فرم‌های خوش‌خیم بیماری یا غیر حاد بدخیم بیماری در منطقه.

چالش دیگر در تشخیص بیماری، بُعد آزمایشگاهی آن است. برای تشخیص آزمایشگاهی بیماری، روش‌های متعددی از جمله PCR، IFAT، ELISA (Constable *et al.* ۲۰۱۷; Smith *et al.* ۲۰۲۰; Altay *et al.* ۲۰۰۵) و روش میکروسکوپی (شامل بررسی گسترش‌های خون محیطی و پونکسیون غدد لنفاوی) (Aghamohammad Hassan *et al.* ۲۰۱۵) تعریف شده است.

مطالعات متعددی در ارتباط با ارزش تشخیصی هر یک از روش‌های آزمایشگاهی فوق صورت گرفته است (Kirvar *et al.* ۱۹۹۸; Nayel *et al.* ۲۰۱۲; Al-Hosary *et al.* ۲۰۱۸; Mans *et al.* ۲۰۱۵; Maharana *et al.* ۲۰۱۶; Hassen and Meerkhan. ۲۰۲۰). به‌عنوان مثال طی انجام مطالعه‌ای در سال ۲۰۱۲ به‌منظور مقایسه‌ی ارزش تشخیصی سه روش آزمایشگاهی PCR، IFAT و میکروسکوپی در ارتباط با انگل‌های بابزیا و تیلریا، نشان داده شد که هیچ‌گونه اختلاف آماری معنی داری میان موارد گزارش شده‌ی مثبت در هر سه روش مورد استفاده وجود نداشته است (Nayel *et al.* ۲۰۱۲)؛ این در حالی است که اغلب مطالعات مدعی هستند که روش آزمایشگاهی PCR، از

حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به سایر روش‌های آزمایشگاهی مانند روش‌های میکروسکوپی برخوردار است (Noaman ۲۰۱٤; Maharana *et al*. ۲۰۱٦؛ Al-Hosary *et al*. ۲۰۱۸؛ Hassen and Meerkhan. ۲۰۲۰).

علی‌رغم حساسیت و ویژگی بالای روش آزمایشگاهی PCR (Schnittger *et al*. ۲۰۰٤; Renneker *et al*. ۲۰۱۳)، متأسفانه به‌دلیل عدم وجود این دستگاه در اغلب آزمایشگاه‌های دامپزشکی و همچنین پر هزینه بودن و زمان‌بر بودن این روش برای دامداران، در عمل استفاده از این روش ناممکن بوده و همواره چاره‌ای جز استفاده از میکروسکوپ که به‌عنوان ابزاری در دسترس، سریع و مقرون به‌صرفه برای دامداران می‌باشد، نخواهد بود (Al-Hosary *et al*. ۲۰۱۸; Noaman ۲۰۱٤; Maharana *et al*.۲۰۱٦) و لذا همان‌گونه که اشاره شد، یکی از اهداف مطالعه‌ی کاربردی کنونی، بررسی معضلات تشخیصی ناشی از استفاده‌ی این وسیله‌ی پر کاربرد در استان کردستان می‌باشد.

در ارتباط با تشخیص میکروسکوپی بیماری تیلریوز، چالش اصلی آزمایشگاه‌های دامپزشکی، حصول نتیجه‌ی منفی کاذب از گسترش‌های خونی تهیه (و یا ارسال) شده می‌باشد که دلایل آن ذیلاً مورد بررسی قرار خواهند گرفت:

۱- یکی از دلایل حصول نتیجه‌ی منفی کاذب در ارزیابی‌های میکروسکوپی، عدم بررسی تعداد کافی زمینه‌ها (فیلدهای) میکروسکوپی می‌باشد؛ زیرا برخلاف فرم حاد و بدخیم بیماری، در صورت ابتلای دام‌ها به فرم‌های خوش‌خیم و غیر حاد بیماری تیلریوز، تعداد بسیار کمتری از اجسام پیروپلاسمی در جریان خون قابل رؤیت خواهند بود (Maharana *et al*. ۲۰۱٦; Ullah *et al*. ۲۰۲۱) که در صورت عدم توجه به این نکته‌ی کلیدی و بررسی تعداد فیلدهای کم، حصول نتیجه‌ی منفی کاذب دور از انتظار نخواهد بود. بدین منظور برای افزایش دقت در این نوع تشخیص، بررسی ۲۰ فیلد (Hassen and Meerkhan. ۲۰۲۰) تا ۵۰ فیلد میکروسکوپی (Noaman ۲۰۱٤) به‌ازای هر لام لازم و ضروری بوده که انجام آن نیز مستلزم صرف زمان بیشتری خواهد بود که در این مطالعه نیز تمامی گسترش‌های تهیه شده بدین شکل مورد بررسی قرار گرفتند.

۲- از دیگر مواردی که منجر به عدم تشخیص صحیح میکروسکوپی بیماری می‌شود، تهیه گسترش‌های ضخیم خونی است که برای رفع این نقیصه می‌بایست اقدام به تهیه‌ی گسترش‌های نازک نمود (Shayan and Rahbari ۲۰۰۵; Aghamohammad Hassan *et al*. ۲۰۱۳; Nayel *et al*. ۲۰۱۲; Hoghooghi-Rad *et al*. ۲۰۱۱). همانگونه که نتایج مطالعه‌ی کنونی مؤید آن است، ۹۱/٦درصد از گسترش‌های خونی در این مطالعه مثبت قرائت شدند که یکی از مهم‌ترین علل حصول نتایج مناسب در این مطالعه، تهیه گسترش با ضخامت نازک بوده است.

۳- عدم تهیه و بررسی گسترش لنفاوی به‌منظور جستجو و بررسی اجسام آبی کخ. با توجه به این‌که سلول‌های مورد هدف اجسام پیروپلاسمی تیلریا، در ابتدا لنفوسیت‌ها و سپس گلبول‌های قرمز می‌باشند (Smith *et al.* ۲۰۲۰)، لذا به‌راحتی متبادر می‌نماید که ارزش تشخیصی پونکسیون غدد لنفاوی قابل توجه می‌باشد (Hassen and Meerkhan ۲۰۲۰) چه بسا در این مطالعه نیز تعداد موارد مثبت در گسترش‌های لنفی تهیه شده در مقایسه با گسترش‌های خون محیطی، ۹۵/۲ درصد در برابر ۹۱/٦ درصد بود.

٤- عدم استفاده از رنگ با کیفیت مرغوب و عدم تخصیص زمان مناسب برای رنگ‌آمیزی؛ که منابع متعددی به اهمیت کیفیت رنگ و همچنین تخصیص زمان مناسب در رنگ‌آمیزی اشاره نموده اند (Ullah *et al.* ۲۰۲۱; Nayel *et al.* ۲۰۱۲; Hoghooghi-Rad *et al.* ۲۰۱۱). در این مطالعه نیز یکی از عوامل موفقیت در کسب نتیجه‌ی مطلوب، رعایت این نکته بوده است.

۵- نداشتن مهارت کافی جهت کار کردن با میکروسکوپ (Nayel *et al.* ۲۰۱۲; Hoghooghi-Rad *et al.* ۲۰۱۱) و همچنین کیفیت نامطلوب عدسی میکروسکوپ‌های مورد استفاده. پر واضح است که از میان لنزهای میکروسکوپ، لنز شماره ۱۰۰ در معرض فرسودگی بیشتری نسبت به سایر لنزها قرار دارد، زیرا در معرض ساییدگی با سطح لام قرار داشته و همچنین در صورت سهل‌انگاری به‌هنگام پاک نمودن مناسب روغن امرسیون از سطح آن، رفته رفته عدسی دچار کدورت و خراشیدگی شده می‌گردد. یکی دیگر از دلایل استحصال نتایج درخور در این مطالعه، بهره‌گیری از عدسی‌های با کیفیت بوده است.

نتیجه‌گیری کلی که از این مطالعه در ابعاد بالینی و آمایشگاهی عاید می‌گردند به‌صورت ذیل ارایه می‌شوند: در این مطالعه، مشخص شد که تیلریوز غالب در استان کردستان از انواع تحت حاد و مزمن فرم بدخیم و یا نوع خوش‌خیم بیماری می‌باشد. لذا منطقی جلوه می‌نماید که درصورت مشاهده‌ی تظاهرات بالینی نظیر: لاغری، کاهش میزان تولید، کم‌خونی، زردی خفیف مخاطات، افزایش تعداد ضربان قلب و افزایش درجه حرارت، می‌بایست احتمال وجود بیماری تیلریوز را در لیست تشخیص تفریقی قرار داد و به‌جهت تأیید تشخیص آزمایشگاهی بیماری، مبادرت به تهیه‌ی هم‌زمان گسترش‌های نازک از خون محیطی و غدد لنفاوی سطحی (حتی در صورت عدم مشاهده‌ی تورم) نمود. در آزمایشگاه نیز به‌منظور افزایش حصول نتایج قابل اطمینان توصیه بر بهره‌گیری از: رنگ مرغوب، تخصیص زمان کافی برای رنگ‌آمیزی، بررسی هم‌زمان گسترش‌های خونی و لنفی نازک در ۵۰-۲۰ فیلد میکروسکوپی و در آخر استفاده از افراد با مهارت و میکروسکوپ دارای عدسی ۱۰۰ سالم می‌باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله اینجانبان از همکاری و مساعدت‌های ارزنده‌ی حوزه‌ی معاونت پژوهشی دانشگاه اسلامی واحد سنندج، ریاست محترم دانشکده جناب آقای دکتر علی‌اکبر امیری، معاونت محترم پژوهشی دانشکده سرکار خانم دکتر مهدیه رییس‌زاده، مسئول محترم آزمایشگاه تحقیقاتی دانشکده سرکار خانم ماهرخ شفیعی و در نهایت آقای دکتر نیما شعبان‌پور بابت ارایه‌ی کمک‌های شایان به اعضای گروه در جمع‌آوری نمونه‌های مطالعه کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع

۱. Aghamohammad Hassan M. Raoofi A. Lotfollahzadeh S. Javanbakht J. (۲۰۱۵). Clinical and cytological characteristics and prognostic impliations on sheep and goat *Theileria* infection in north of Iran. Journal of Parasitic Diseases. ۳۹(۲): ۱۹۰-۱۹۳.

۲. Agina O A. Shaari M R. Isa N M M. Ajat M. Zamri-Saad M. and Hamzah H. (۲۰۲۰). Clinical Pathology, Immunopathology and Advanced Vaccine Technology in Bovine Theileriosis: A Review. Pathogens. ۹(٦۹۷): ۱-۲۲.

۳. Altay K. Dumanli N. Holman PJ. Aktas M. (۲۰۰۵). Detection of Theileria ovis in naturally infected sheep by nested PCR. Veterinary Parasitology. ۱۲۷: ۹۹-۱۰٤.

٤. Constable P. D. Hinchcliff K. W. Done S. H. Grunberg W. (۲۰۱۷). Veterinary Medicine. ۱۱ rd ed. United States: Elsevier. ۱۲, ۲۱٤٤-۲۱٤٥.

٥. El Imam A H. and Taha Kh. M. (۲۰۱٥). Malignant Ovine Theileriosis (*Theileria lestoquadri*): A Review. Jordan Journal of Biological Sciences. ۸(۳): ۱٦٥-۱۷٤.

٦. Guo S. Yuan Z. Wu G. Wang W. Ma D. Du H. (۲۰۰۲). Epidemiology of ovine theileriosis in Ganan region, Gansu Province, China. Parasitology Research ۸۸: ٥۳٦-٥۳۷.

۷. Habibi GH. Sepahvand-Mohammadi E. Afshari A. Bozorgi S. (۲۰۲۰). Molecular detection of *Theileria spp*. and *Babesia ovis* Infection in Sheep in Baneh, Iran. Archives of Razi Institute. ۷٥(۲):۲۸۹-۲۹٦.

۸. Hassen ZI. Meerkhan AA. (۲۰۲۰). Detection and molecular characterization of Theileria ovis in sheep and goats with clinical *Theileriosis* in Kurdistan, Iraq. Journal of University of Duhok. ۲۳(۲): ٦۹-۷۸.

۹. Heidarpour Bami M. Khazraiinia P. Haddadzadeh H.R. and Kazemi B. (۲۰۱۰). Identification of *Theileria* species in sheep in the eastern half of Iran using nested PCR-RFLP and microscopic techniques. Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University. ۱۱(۳.):۲٦۲-۲٦٦.

۱۰. Hoghooghi-Rad N. Ghaemi P. Shayan P. Eckert B. Sadr-Shirazi N. (۲۰۱۱). Detection of native carrier cattle infected with Theileria annulata by semi-nested PCR and smear method in Golestan province of Iran. World Applied Sciences Journal. ۱۲(۳): ۳۱۷-۳۲۳.

۱۱. Khezri M. Habibi G. Esmail-Nia K. Afshari A. (۲۰۱٦). The first genetic identification of *Theileria ovis* subtype KP۰۱۹۲۰٦ in sheep in Iran. Archives of Razi Institute ۷۱(۳):۱٤٥-۱٥۲.

۱۲. Kirvar E. Ilhan T. Katzer F. Wilkie G. Hooshmand-Rad P. Brown D. (۱۹۹۸). Detection of *Theileria lestoquardi* (hirci) in ticks, sheep and goats using the polymerase chain reaction. Annals of the New York Academy of Sciences. ۸٤۹: ٥۲-٦۲.

۱۳. Majidiani H. Nabavi R. Ganjali M. Saadati D. (۲۰۱٦). Detection of *Theileria annulata* carriers in Holstein-Friesian (*Bos taurus taurus*) and Sistani (*Bos taurus*

indicus) cattle breeds by polymerase chain reaction in Sistan region, Iran. Journal of Parasitic Diseases ٤٠ (٤):١١٨٤-١١٨٨.

١٤. Mans BJ. Pienaar R. Latif AA. (٢٠١٥). A Review of *Theileria* diagnostics and epidemiology. International Journal of Parasitology. ٤: ١٠٤-١١٨.

١٥. Naz S. Maqbool A. Ahmed S. Ashraf K. Ahmed N. Saeed K. Latif M. Iqbal J. Ali Z. Shafi K. et al. (٢٠١٢). Prevalence of theileriosis in small ruminants in Lahore-Pakistan. Journal of Veterinary Animal Science ٢: ١٦–٢٠.

١٦. Nayel M. El-Dakhly KM. Aboulaila M. Elsify A. Hassan H. Ibrahim E. Salama A. Yanai T. (٢٠١٢). The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle in Menofia, Egypt. Parasitology Research. ١١١: ١٠١٩-١٠٢٤.

١٧. Noaman V. (٢٠١٤). Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria* spp. In carrier cattle. Journal of Parasitic Diseases. ٣٨(١): ٦٤-٦٧.

١٨. Razmi G. Yaghfoori S. (٢٠١٣). Molecular surveillance of Theileria ovis, Theileria lestoquardi and Theileria annulata infection in sheep and ixodid ticks in Iran. The Onderstepoort Journal of Veterinary Research ٨٠ (١): ٦٣٥-٦٤٠.

١٩. Renneker S. Abdo J. Bakheit MA. Kullman B. Beyer D. Ahmed J. Seitzer U. (٢٠١٣). Coinfection of sheep with *Anaplasma*, *Theileria* and *Babesia* species in the Kurdistan region, Iraq. Transbounding and Emerging Diseases. ٦٠(٢): ١١٣-١١٨.

٢٠. Schnittger LH. Yin B. Qi MJ. Gobbels D. Beyer S. Niemann FJ. Ahmed JS. (٢٠٠٤). Simultaneous detection and differentiation of *Theileria* and *Babesia* parasites infecting small ruminants by reverse line blotting. Parasitology Research. ٩٢: ١٨٩-١٩٦.

٢١. Shayan P. Rahbari S. (٢٠٠٥). Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. And *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. Parasitology Research. ٩٧: ٢٨١-٢٨٦.

٢٢. Smith B.P.Van Metre D.C. Pusterla N. (٢٠٢٠). Large animal internal medicine. ٦th ed. United States: Elsevier. ١٢٩, ١١٦٨-١١٦٩.

٢٣. Tageldin M H. Zakia A M. Nagwa Z G. El Sawi S A S. (١٩٩٢). An outbreak of theileriosis in sheep in Sudan. Tropical Animal Health Production ٢٤: ١٥-١٦.

٢٤. Tumwebaze M A. Byamukama B. Tayebwa D S. Byaruhanga J. Angwe M K. Galon E M. Liu M. Lee S-H. Ringo A E. Moumouni P F A. Li J. Li Y. Ji Sh. Vudriko P. and Xuan X.(٢٠٢٠). First Molecular Detection of *Babesia ovis, Theileria* spp.,*Anaplasma* spp., and *Ehrlichia ruminantium* in Goats from Western Uganda. Pathogens. ٩(٨٩٥): ١-١٧.

٢٥. Ullah R. Shams S. Khan MA. Ayaz S. Ul Akbar N. Ud Din Q. Khan A. Leon R. Zeb J. (٢٠٢١). Epidemiology aand molecular characterization of Theileria annulata in cattle from central Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. PLOS ONE. ١٠(١٣٧١): ١-١٧.

Study the impairments in clinical and microscopic diagnosis of theileriosis among small ruminant population in Kurdistan province

Seifi H.[1] Moravedji M.[2] Esmaeili S.[3] Mostafavi E[4]*

1.Graduated of veterinary medicine, ,Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2.Department of Clinical Sciences , Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
3. Department of microbiology and biostatics, Pasteur Institute of Iran, Tehran , Iran
4. Department of epidemiology and biostatics, Pasteur Institute of Iran, Tehran , Iran
Corresponding Author,s E.Mail : moravedji@iausdj.ac.ir

(***Received:*** *Aug. 2021* ***Accepted:*** *Nov. 2021* **)**

Abstract

Background and purpose: Theileriosis is one of prevalent diseases among small ruminant population in Kurdistan province which is encountered serious problems both clinical and microscopic. The disease imposes heavy damages to the livestock industry. The aim of the study is to compare the clinical and microscopic features in sheep and goats infested with ticks, evaluation of microscopic method to identify Theileriosis and finally identification of technical impairments and finding confident approaches for diminished diagnostic errors in both methods. Material and methods: in this study, after recording the clinical findings of 250 tick infested small ruminants (230 sheep and 20 goats), blood and lymphatic smears were taken. Results: the results have shown that Piroplasms and Koch blue bodies were presented in 229 blood samples and in 238 lymphatic smears respectively. Statistical analyses declared that there was a meaningful correlation between blood and lymphatic smears and also between clinical findings such as: heart rate, conjunctiva discoloration and temperature variation with both blood and lymphatic smears. Conclusion: coordination of clinical and laboratory findings have confirmed that the main problem in clinical diagnosis of theileriosis in Kurdistan province was the involvement of animals with none-acute form of the disease (for i.e. *T. ovis*) in most population of small ruminants. Thus investigation of parasite both in blood smears and in lymphatic smears could lead to diminish laboratory errors.

***Keywords*:** Theileriosis, Sheep, Goat, Piroplasms, Koch