مقاله کامل

دوره هفدهم ـ شماره ۴ ـ زمستان ۱۴۰۰

DOI: 10.22055/IVJ.2020.209168.2201
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.4.3.0

تشخیص ملکولی و شیوع *بابزیا بوویس* در گاوهای شهرستان شهرضا، جنوب استان اصفهان

محمدمهدی جریده‌دار[۱]، وحید نعمان[۲*]، یاسر پیرعلی[۳] و حمیدرضاعزیزی[۴]

[۱] دانش آموخته کارشناسی ارشد، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[۲] دانشیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

[۳] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

[۴] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۹/۳ پذیرش: ۱۳۹۹/۲/۱۰

چکیده

هدف از این مطالعه تعیین گونه‌های بابزیا در گاوهای شهرستان شهرضا، در جنوب استان اصفهان بود. در مجموع تعداد ۲۵۳ نمونه خون از طریق ورید وداج گاوهای به ظاهر سالم به طور تصادفی اخذ شد. در ابتدا DNA استخراجی از نمونه‌های خونی با جفت آغازگری که قطعه حدود ۴۰۰ جفت بازی از ژن 18S rRNA جنس *بابزیا* را تکثیر می‌کرد، تکثیر شد. تمامی نمونه‌های مثبت گاوی با nested-PCR semi اختصاصی از نظر وجود *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* بررسی شدند و آلودگی نمونه‌های گاوی از نظر *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* به ترتیب صفر و ۶۵/۲ درصد تشخیص داده شد. آزمون مربع کای جهت مقایسه میزان شیوع نسبت به فصل سال، نوع دامداری، بهداشت دامداری، ناقلین بندپا، استفاده از سرسوزن مجزا، سن دام و تولید شیر انجام شد. در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاو بین دو فصل نمونه‌گیری شده و حضور ناقلین اخلاف معنی‌داری مشاهده شد. در آنالیز لجستیک تک متغیره فصل، بهداشت دامداری و ناقلین بندپا به عنوان عوامل خطر مهم برای ابتلا به *بابزیا بوویس* مشخص شدند. در مدل لجستیک چند متغیره تنها فصل به عنوان مهم‌ترین عامل در ابتلا به *بابزیا بوویس* معرفی شد. در مقایسه با آزمون ملکولی، حساسیت و ویژگی آزمون میکروسکوپی به ترتیب ۵۹/۳۹ و ۱۰۰ درصد تعیین گردید. محاسبه ضریب کاپا بین آزمون ملکولی و میکروسکوپی بابزیا (۵۰ فیلد) نشان‌دهنده سطح متوسط توافق دو آزمون بود (Kappa= 0.504). این مطالعه اولین مطالعه تشخیص ملکولی گونه‌های *بابزیا* در گاوهای منطقه جنوب اصفهان است. 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.

کلمات کلیدی: استان اصفهان، ایران، گونه‌های *بابزیا*، گاو، تشخیص ملکولی

مقدمه

بابزیوزیس یکی از بیماری‌های منتقله از کنه است که جمعیت دامی جهان را مورد تهدید قرار می‌دهد. عامل بابزیوزیس تک‌یاخته داخل سلولی اجباری از جنس بابزیا است. از نظر تاکسونومی *بابزیا* در شاخه اپی کمپلکسا (Apicomplexa)، رده اسپوروزوآ (Sporozoea)، راسته پیروپلاسمیدا (Piroplasmida) و خانواده بابزیده قرار

*نویسنده مسئول : وحید نعمان، دانشیار موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

E-mail: v.noaman@areeo.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).

می‌گیرد (Dantas-Torres et al. 2017). بابزیوزیس که توسط گونه‌های متفاوت تک‌یاخته جنس *بابزیا* ایجاد می‌شود در گروه وسیعی از مهره‌داران به خصوص نشخوارکنندگان اعم از اهلی و وحشی، تک سمی‌ها، سگ‌سانان، گربه‌سانان، جوندگان، پرندگان و حتی انسان در بسیاری از نقاط دنیا گسترش دارد (Romero-Salas et al. 2016; Schnittger et al. 2012). گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* از گونه‌های شناخته‌شده بابزیای گاوی در دنیا می‌باشند که بیماری حاصل از این دو گونه در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند آمریکای مرکزی و جنوبی، شمال و جنوب آفریقا، استرالیا و جنوب اروپا و مناطق خاورمیانه دیده می‌شود (Yusuf, 2017).

مشاهده‌ی میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا، متداول‌ترین روش در تشخیص بابزیوزیس به فرم حاد است، اما به دلیل حساسیت پایین این روش در مواردی که تعداد کمی از گلبول‌های قرمز آلوده باشند، استفاده از آن در مطالعات همه‌گیرشناسی محدود شده است. علاوه بر این علائم بالینی بابزیوزیس بدون هموگلوبینوری به تیلریوزیس مشابه است و تفریق اشکال گرد و کوچک *بابزیا* با اشکال پیرو پلاسمایی تیلریا در گسترش خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا نیاز به مهارت و تجربه آزمایشگر دارد (OIE 2013).

آزمون‌های سرولوژی متفاوتی در مطالعات همه‌گیرشناسی بابزیوزیس در کشورهای مختلف استفاده شده‌اند در اکثر این روش‌ها واکنش متقاطع گونه‌های *بابزیا* قابل تفریق نیست و علاوه بر این، نتایج منفی و مثبت کاذب نیز عموماً در این آزمون‌ها مشاهده می‌شود. از طرفی روش‌های سرمی در شناسایی دام‌های آلوده در فاز اولیه عفونت و عفونت‌های مزمن در دام‌های حامل با تعداد پایین انگل در خون محدودیت دارند (Chaudhry et al, 2010). شناسایی دام‌های حامل *بابزیا* اهمیت خاصی در کنترل و پیشگیری بیماری دارد زیرا این دام‌ها به عنوان مخزن، در انتقال آلودگی به دام‌های حساس بسیار اهمیت دارند. تحقیقات اخیر، حساسیت و ویژگی بالاتر روش‌های ملکولی را در شناسایی انگل‌های خونی نسبت به روش‌های سرولوژیکی و میکروسکوپی نشان داده‌اند. روش‌های مولکولی همچون واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) علاوه بر تشخیص دقیق گونه‌ها تمایز گونه‌ای را نیز امکان‌پذیر ساخته‌اند. واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در تشخیص آلودگی به گونه‌های *بابزیا*، ۱۰۰ برابر حساس‌تر از تشخیص میکروسکوپیک است (Nayel et al, 2012). حساسیت و ویژگی بالای واکنش زنجیره‌ای پلیمراز سبب شده است که این روش برای تأیید نتایج حاصل از آزمون‌های تشخیصی دیگر و تأیید سلامت حیوان برای صادرات، به کار برده شود (Bloch et al, 2013). مطالعات انجام شده در خصوص شناسایی انگل *بابزیا* و بابزیوزیس در ایران عمدتاً معطوف به نشخوارکنندگان کوچک بوده است و در اکثر این بررسی‌ها شناسایی انگل بر اساس مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده انجام‌شده است. در بررسی‌های انجام شده در ۱۰ سال اخیر انگل *بابزیا* در گاوهای استان‌های کردستان، چهارمحال و بختیاری، آذربایجان غربی و اصفهان با روش‌های ملکولی و میکروسکوپی شناسایی‌شده است (Motavalli-Haghi et al, 2017).

از آن جا که در سال‌های گذشته موارد متعددی از انگل *بابزیا* در گسترش‌های خونی تهیه شده از گاوهای مشکوک به انگل‌های خونی توسط آزمایشگاه‌های دامپزشکی شهرستان شهرضا در استان اصفهان گزارش شده بود لذا این تحقیق با هدف مطالعه‌ی ملکولی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در جمعیت گاوهای سنتی و نیمه‌صنعتی شهرستان شهرضا واقع در جنوب استان اصفهان و مقایسه دو روش ملکولی و مشاهده میکروسکوپی در شناسایی انگل *بابزیا* در جمعیت مورد نظر انجام گرفت.

مواد و روش کار

مطالعه به صورت مقطعی بر روی ۲۵۳ گاو در گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و سنتی جنوب استان اصفهان (شهرستان شهرضا) در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت (Figure

1). نمونه‌گیری به صورت تصادفی از ۵۰ گاوداری سنتی و نیمه‌صنعتی انجام و از هر دامداری حداقل از پنج گاو نمونه‌برداری انجام شد. از هر گاو یک گسترش خونی از ورید گوش و دو میلی‌لیتر خون از ورید وداج در لوله‌ی حاوی ماده‌ی ضد انعقاد و همچنین پرسشنامه‌ای برای هر نمونه اخذ شد و نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه انگل‌شناسی و بیولوژی ملکولی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان تحویل شدند.

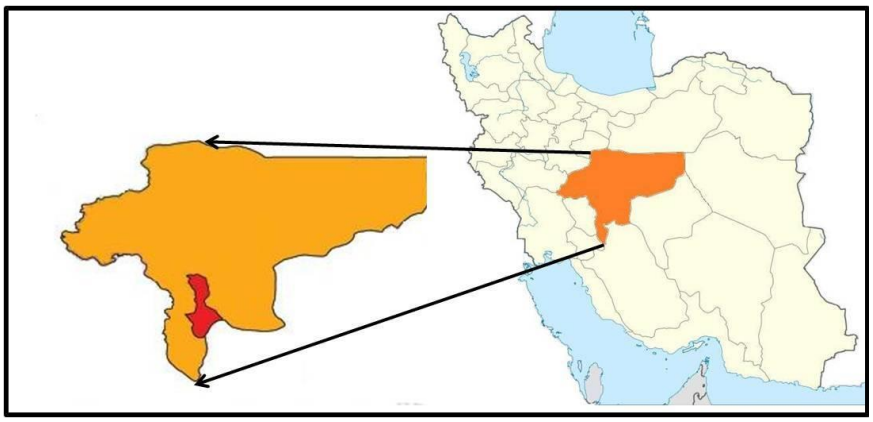

Figure 1. Geographical location of Isfahan province in Iran and sampling site in south of Isfahan province (Source: https://fa.wikipedia.org/wiki/Isfahan-Province)

در هر مراجعه به دامداری‌های از پیش تعیین شده، گاوها به طور تصادفی انتخاب و در هر مورد بازدید و نمونه‌گیری اطلاعاتی شامل نام دامدار، روستا/ منطقه، تعداد دام، کد دام، سابقه بیماری در گله، فصل (سرد، گرم)، نوع دامداری از نظر مدیریت (به دامداری‌هایی که اصول علمی به طور نسبی در ساخت و ساز ساختمان‌ها و تأسیسات آن‌ها اعمال شده و دارای ماشین‌آلات و تجهیزات در حد رفع نیازهای اساسی خود می‌باشند دامداری نیمه‌صنعتی و به دامداری‌هایی که بدون اصول علم دام‌پروری در داخل و حاشیه روستا احداث گردیده‌اند دامداری سنتی گویند) بر اساس مستندات مدیریت امور دام شهرستان شهرضا (نیمه‌صنعتی، سنتی)، سطح بهداشتی دامداری (شامل بهداشت جایگاه، بهداشت شیردوشی و پستان، بهداشت زایشگاه و زایمان، بهداشت گوساله دانی، بهداشت انبار علوفه، بهداشت آب، انجام برنامه‌های کنترل و پیشگیری از بیماری‌های عفونی و انگلی) بر اساس مستندات و ضوابط شبکه دامپزشکی شهرضا (خوب، پایین، معمولی)، ناقلین بندپا در دامداری (مگس‌های گزنده، کنه) بر اساس مشاهده و گفته دامدار، تعویض سرسوزن در هر تزریق (خیر، بله) بر اساس گفته دامدار، سن دام (۱ تا ۵ سال، بیش از ۵ سال) بر اساس گفته دامدار، وضعیت تولید شیر بر اساس گفته دامدار (بالا: ۲۰ تا ۳۰ کیلوگرم در روز، پایین: کمتر از ۱۰ کیلوگرم در روز، معمولی: بین ۱۰ تا ۲۰ کیلوگرم در روز) در فرم مربوطه ثبت و شماره فرم بر روی کلیه لوله‌ها و گسترش‌ها درج می‌شد. نژاد دام‌های نمونه‌گیری شده دو رگ و جنس همگی ماده بود و بر اساس گفته دامداران در کلیه دامداری‌ها سم‌پاشی علیه بندپایان انجام می‌شد.

ابتدا گسترش‌های خونی از پیش تهیه شده با متانول ثابت و به مدت ۲۰ دقیقه بارنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شدند. جهت شناسایی گونه‌های *بابزیا* گلبول‌های قرمز ۵۰ فیلد میکروسکوپی از بخش‌های نازک گسترش‌های خونی با عدسی شیئی ۱۰۰ مورد جست‌وجو قرار گرفت (OIE 2013).

استخراج DNA به منظور به دست آوردن ماده ژنتیکی برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام می‌شود. در این تحقیق از کیت استخراج DNA از خون و بافت شرکت MBST (ایران) و طبق دستورالعمل سازنده استخراج DNA انجام گرفت. جهت تعیین میزان و خلوص DNA استخراجی، چگالی نوری محصول مورد نظر با استفاده از

اسپکتروفتومتر و با طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت، علاوه بر این DNA استخراجی بر روی ژل آگارز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (Noaman, 2014).

در این تحقیق برای شناسایی جنس بابزیا از دو آغازگر رو به جلو ThBab1 (5' CACAGGGAGGTAGTGACAAG 3') و معکوس ThBab2 (5' CTAAGAATTTCACCTCTGACAG 3') از ژن 18S rRNA که قطعه‌ای در حدود ۴۳۰-۴۰۰ جفت باز را تکثیر می‌کردند استفاده شد (Shayan and Rahbari, 2005). در واکنش زنجیره‌ی پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. در این واکنش برای تکثیر اختصاصی *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* به ترتیب از دو آغازگر روبه‌جلو bigemina(F) (5`CGTTTTTTCCCTTTTGTTGG3`) و bovis (F) (5`CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG 3`) استفاده شد که محصول هر یک از این آغازگرهای اختصاصی با آغازگر معکوس ThBab2 برای *بابزیا بایجمینا* ۲۰۹ جفت باز و برای *بابزیا بوویس* ۱۳۲ جفت باز بود (Georges et al, 2001; Gubbels et al, 1999). کلیه‌ی واکنش‌ها در میکروتیوب‌های ۲۰۰ میکرو لیتری و در حجم ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر انجام شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X10)، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیوم (50mM) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (10mM) با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر رو به جلو (20µM) با غلظت نهایی ۰/۴ میکرو مولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر معکوس (20µM) با غلظت نهایی ۰/۴ میکرو مولار، ۰/۱۲۵ میکرولیتر آنزیم DNA پلیمراز(Taq (5U/ µL با غلظت نهایی ۰/۶۲۵ واحد در ۲۵ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNA الگو مخصوص هر نمونه و ۱۹/۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر (دو بار تقطیر استریل). پس از ترکیب مواد مورد نیاز میکروتیوب‌ها به ترموسایکلر (بیو راد تی-۱۰۰، ساخت آمریکا) در ۳۵ چرخه با برنامه‌ی دمایی زیر منتقل شد: انکوباسیون در دمای ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، مرحله دناتوره شدن دو رشته‌ی DNA در دمای ۹۴ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله اتصال DNA در دمای ۵۶ درجه‌ی سانتی‌گراد (دمای اتصال در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بایجمینا* ۵۳ و *بابزیا بوویس* ۵۸ درجه‌ی سانتی‌گراد بود) به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله‌ی طویل شدن در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله طویل شدن نهایی در دمای ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر محصولات PCR روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز شد. در مرحله‌ی آخر برای مشاهده‌ی باندها در سطح ژل، ژل به مدت ۲۰ دقیقه در ظرف حاوی اتیدیوم بروماید قرار داده شد و پس از شست و شوی با آب مقطر برای نمایان شدن باندها و عکس‌برداری در دستگاه تابنده‌ی اشعه فرابنفش (ژل داک) قرار گرفت.

نتایج به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش هجدهم تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای محاسبه‌ی فراوانی داده‌ها و برای پی بردن به این که کدام یک از فراوانی‌ها با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری دارند، از آزمون مربع کای ($\chi 2$) استفاده شد. علاوه بر این برای بررسی عوامل خطر از آنالیزهای رگرسیون لجستیک تک متغیره و چند متغیره استفاده شد. برای شناسایی مهم‌ترین عوامل تأثیرگذار بر شیوع *بابزیا بوویس* اقدام به آنالیز رگرسیون لجستیک تک متغیره گردید. سپس، عواملی را که به طور نسبی ($P<0.2$) بر شیوع *بابزیا بوویس* مؤثر بودند را مشخص نموده و به منظور حذف متغیرهای احتمالی مخدوش‌کننده، آن‌ها را به طور هم‌زمان در یک مدل رگرسیون لجستیک چندمتغیره وارد نموده و به حذف مخدوش‌کننده‌های معنی‌دار قبلی مبادرت شد. $\alpha=0.05$ مبنای قضاوت آماری در نظر گرفته شد. علاوه بر این حساسیت و ویژگی آزمون میکروسکوپی نسبت به آزمون ملکولی محاسبه شد و ضریب کاپا در خصوص تطابق دو آزمون محاسبه گردید.

نتایج

در مجموع از ۲۵۳ گسترش خونی بررسی شده با میکروسکوپ نوری ۹۸ (۳۸/۷ درصد) نمونه از نظر حضور اجسام بابزیا شکل مثبت تشخیص داده شدند (Figure 2). در واکنش زنجیره پلیمراز و زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بوویس* ۱۶۵ نمونه (۶۵/۲ درصد) از ۲۵۳ نمونه مورد آزمایش باند مورد نظر را تشکیل دادند (Figures 3 & 4). در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بایجمینا* در هیچ از نمونه‌ها تکثیری انجام نشد و کلیه نمونه‌ها از نظر *بابزیا بایجمینا* منفی تلقی شدند (Figure 5). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاو بین فصول مختلف نمونه‌گیری شده (سرد، گرم) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین فراوانی مربوط به فصل گرم سال بود ($\chi2$= 29.56, P= 0.0001). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاو بین حضور ناقلین (کنه، مگس گزنده) اختلاف معنی‌داری مشاهده شد و بیشترین فراوانی به ترتیب مربوط به دامداری‌هایی بود که کنه در آن‌ها حضور داشت ($\chi2$= 6.45, P= 0.01). در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاو از نظر نوع دامداری از نظر مدیریت، سطح بهداشتی دامداری، تعویض سرسوزن در هر تزریق، سن دام و وضعیت تولید شیر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در آنالیز رگرسیون لجستیک تک متغیره نسبت شانس ابتلا به *بابزیا بوویس* در گاو در فصل گرم سال نسبت به فصل سرد سال ۴/۷۷ به دست آمد (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۸/۳۹-۲/۷۲). نسبت شانس ابتلا به *بابزیا بوویس* در گاوهای گاوداری‌های که سطح بهداشتی پایین داشتن نسبت به گاوهای گاوداری‌هایی که سطح بهداشتی خوب داشتند ۱/۸۴ به دست آمد (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۳/۳۹-۱). نسبت شانس ابتلا به *بابزیا بوویس* در گاوهای گاوداری‌های که در آن‌ها کنه وجود داشت نسبت به گاوهای گاوداری‌هایی که در آن‌ها مگس‌های گزنده وجود داشت ۳/۳۹ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۹/۱۳-۱/۲۶) به دست آمد (Table 1). در مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره، پس از حذف اثر متغیرهای مخدوش‌کننده فصل به عنوان مؤثرترین عامل در ابتلا به *بابزیا بوویس* در گاوها شناسایی شد و مشاهده می‌گردد که پس از تعدیل برای اثر متغیرهای دیگر نسبت شانس ابتلا به *بابزیا بوویس* در گاو در فصل گرم سال نسبت به فصل سرد سال به ۵/۵۳ (فاصله اطمینان ۹۵ درصد: ۱۰/۹۸-۲/۷۹) تغییر یافت (Table 2).

بر اساس Table 3 در مقایسه آزمون میکروسکوپی با آزمون ملکولی، حساسیت و ویژگی آزمون میکروسکوپی به ترتیب ۵۹/۳۹ و ۱۰۰ درصد تعیین گردید. محاسبه ضریب کاپا بین آزمون ملکولی و میکروسکوپی بابزیا (۵۰ فیلد) نشان‌دهنده سطح متوسط توافق دو آزمون بود (Kappa= 0.504).

Figure 2. Babesia like structure in one of the erythrocytes (arrow) (Giemsa staining, ×1000)

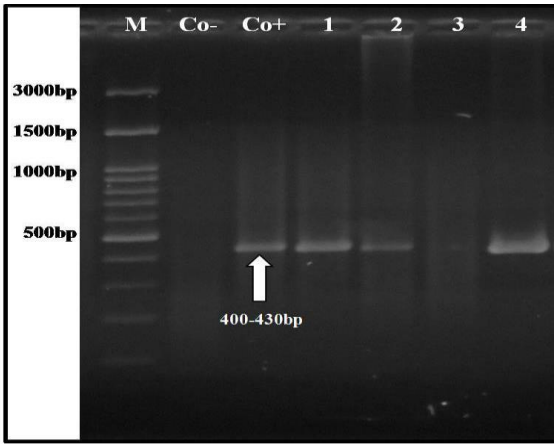

Figure 3. Amplification of DNA with ThBab1(F)/ ThBab2(R) resulting in PCR product of 300-400bp (lane 1, 2 and 4). Co+ and Co- are positive and negative controls, respectively. M= Marker 100bp.

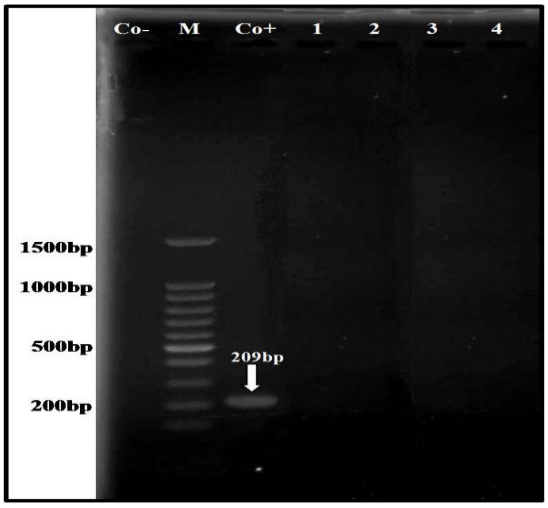

Figure 5. Specific semi-nested PCR for *B. bigemina*. The expected size was 209 bp. No amplification was observed for samples (lanes 1 to 4), demonstrating that the samples had no *B. bigemina* genomic DNA.
Co+ and Co- are positive and negative controls, respectively. M= Marker 100 bp.

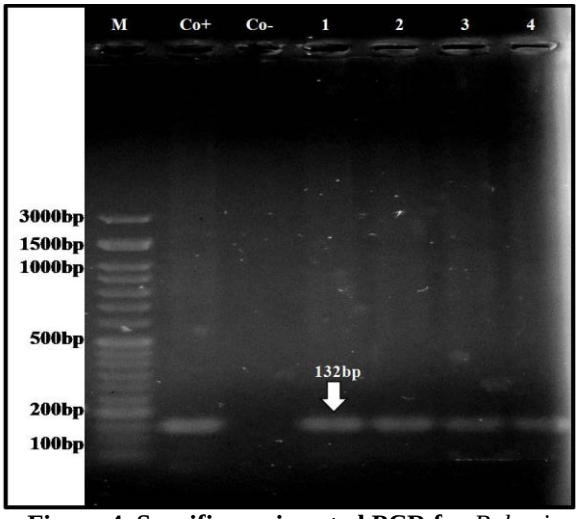

Figure 4. Specific semi-nested PCR for *B. bovis*. The expected size (132 bp) is indicated (lanes 1 to 4). Co+ and Co- are positive and negative controls, respectively. M= Marker 50 bp.

Table 1: Univariate analysis of risk factors associated with the prevalence of *B. bovis* in cattle of Shahreza city in the south region of Isfahan province by molecular method

Risk factors	Category	Total	Positive		P- value	OR	95% CI for OR	
			Count	%			Lower	Upper
Cattle	All	253	165	65.2	-	-	-	-
Season	Cold	120	57	47.5	-	Ref	-	-
	Warm	133	108	81.2	0.000*	4.77	2.72	8.39
Farmtype	Semi-Industrial	97	61	62.9	-	Ref	-	-
	Traditional	156	104	66.7	0.540	1.18	0.69	2.00
Hygiene	Good	77	43	55.8	-	Ref	-	-
	Low	110	77	70.0	0.048*	1.84	1.00	3.39
	Normal	66	45	68.2	0.132	1.69	0.85	3.36
Vectors	Biting-Fly	220	137	62.3	-	Ref	-	-
	Tick	33	28	84.8	0.016*	3.39	1.26	9.13
Use disposable needle	No	7	4	57.1	-	Ref	-	-
	Yes	246	161	65.4	0.651	1.42	0.31	6.49
Age	1-5Years	189	123	65.1	-	Ref	-	-
	5Years<	64	42	65.6	0.937	1.02	0.56	1.86
Milkyield	High	83	53	63.9	-	Ref	-	-
	Low	51	34	66.7	0.741	1.13	0.54	2.36
	Normal	119	78	65.5	0.804	1.08	0.60	1.93

Ref: Reference value, OR: Odd ratio, CI: Confidence interval
*P < 0.05 was considered significant

Table 2: Multivariate analysis of risk factors associated with *B. bovis* in cattle of Shahreza city in the south region of Isfahan province by molecular method

Risk factors	Category	Coefficients	Standarderror	Wald	P-value	OR	95% CI for OR	
							Lower	Upper
Season	Cold					Ref		
	Warm	1.711	0.350	23.922	0.000*	5.532	2.79	10.98
Hygiene	Good					Ref		
	Low	-0.429	0.379	1.280	0.258	0.651	.31	1.37
	Normal	-0.541	0.430	1.584	0.208	0.582	.25	1.35
Vectors	Biting-Fly					Ref		
	Tick	0.685	0.575	1.421	0.233	1.983	0.64	6.12

Ref: Reference value, OR: Odd ratio, CI: Confidence interval
*P < 0.05 was considered significant

Table 3: Comparison between microscopy vs molecular examination

Molecular \ Microscopy (50 fields)	Negative	Positive	Total
Negative	88	0	88
Positive	67	98	165
Total	155	98	253

بحث

بابزیوزیس یکی از بیماری‌های انگلی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است که از راه کنه به گاو انتقال می‌یابد. در ایران اکثر مطالعات در مورد بابزیوزیس گوسفندی انجام‌شده است و مطالعات درباره بابزیوزیس گاوی اندک است (Noaman et al, 2005). علاقه محققین به پژوهش در خصوص بابزیوزیس گوسفند در مقایسه با بابزیوزیس گاوی شاید به این خاطر است که گزارش‌ها و تظاهرات بالینی بابزیوزیس در گوسفند بیشتر از گاو بوده است (Kalani et al, 2012). در ایران آخرین گزارش بالینی مستند ناشی از *بابزیا بوویس* در گاوهای رشت در سال ۱۹۷۷ میلادی بوده است که منجر به تلف شدن ۲۲ گاو در یک گاوداری صنعتی شده بود (Hashemi-Fesharaki and Amjad, 1977).

در مطالعه‌ی حاضر ۳۸/۷ درصد گسترش‌های خونی موردبررسی با میکروسکوپ نوری از نظر حضور اجسام بابزیایی شکل، مثبت تشخیص داده شدند. در بررسی گسترش‌های خونی گاوهای استان‌های مختلف ایران مقادیر کمتری در مقایسه با این تحقیق به ثبت رسیده است به طوری که در مازندران ۱۹/۳ درصد، در آذربایجان غربی ۴/۲ درصد و در کردستان ۲/۱ درصد گسترش‌های خونی آلوده به *بابزیا* بوده‌اند (Ziapour et al, 2011; Fakhar et al, 2012; Rajabi et al, 2017). به طور کلی در یک مقاله مروری و متا آنالیز که حاصل مقالات منتشر شده در خصوص *بابزیا* از سال ۱۹۹۸ تا ۲۰۱۵ بود در مجموع درصد شیوع *بابزیا* در گاوهای ایران ۵/۳ درصد گزارش شده است (Motavalli-Haghi et al, 2017) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی ندارد و بسیار کمتر است. اگر چه در اکثر مقالات جمع‌آوری شده در این مقاله مروری نیز از روش میکروسکوپی برای تشخیص بابزیا در گسترش‌های خونی استفاده شده بود ولی به تعداد فیلدهای میکروسکوپی مورد مطالعه اشاره نشده است. با توجه به این که تشخیص به روش میکروسکوپی استاندارد نیست و به تبحر آزمایشگر

و تعداد فیلدهای مشاهده شد در یک گسترش بستگی دارد لذا با تغییر این عوامل میزان حساسیت این آزمون تغییر خواهد کرد (Hussain et al, 2017). در مطالعه‌ی حاضر افزایش تعداد فیلدهای میکروسکوپی مورد مطالعه در گسترش‌های خونی مورد بررسی در بالا بردن حساسیت آزمون میکروسکوپی (تشخیص بیشتر انگل در گسترش‌های خونی) بسیار مؤثر بوده است (Noaman and Shayan, 2010; Nayel et al, 2012). در مطالعه‌ای که در کشور ترکیه بر روی ۱۹۱ نمونه خون گاو توسط روش میکروسکوپی انجام گرفت ۸/۹ درصد گاوها به گونه‌های *بابزیا* آلوده بودند (Sevgili et al, 2010). در کشور عراق در بررسی میکروسکوپی ۹۷ نمونه خون گاو، شیوع *بابزیا* ۸/۸ درصد گزارش شد (Ibrahim et al, 2012). تحقیقات انجام شده در کشورهای همسایه نیز شیوع نسبتاً پایین *بابزیا* در مقایسه با مطالعه‌ی حاضر را گزارش کرده‌اند. از آن جا که میزان شیوع بیماری در هر منطقه با سابقه بیماری در آن منطقه ارتباط مستقیمی دارد (Yusuf, 2017) لذا بالا بودن میزان شیوع در این بررسی را می‌توان به سابقه این بیماری در این منطقه نسبت داد به طوری که در سوابق آزمایشگاه‌های دامپزشکی شهرستان شهرضا گزارش‌های زیادی از تشخیص این انگل در گسترش‌های خونی تهیه شده از گاوهای این شهرستان به چشم می‌خورد.

در این تحقیق حساسیت آزمون میکروسکوپی (مشاهده ۵۰ فیلد میکروسکوپی) در مقایسه با آزمون ملکولی در تشخیص *بابزیا* ۵۹/۳۹ درصد محاسبه گردید. در تحقیقی دیگر حساسیت آزمون میکروسکوپی (مشاهده ۵۰ فیلد میکروسکوپی) در مقایسه با آزمون ملکولی در تشخیص تیلریا ۵۷ درصد محاسبه شده بود (Noaman, 2014) که نتایج این تحقیق با تحقیق حاضر همخوانی دارد و نشان‌دهنده‌ی حساسیت پایین آزمون میکروسکوپی نسبت به آزمون ملکولی می‌باشد.

در واکنش زنجیره پلیمراز و زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بوویس*، ۶۵/۲ درصد از نمونه‌ها مثبت ارزیابی شدند. تنها در یک تحقیق در استان آذربایجان غربی گونه‌های بابزیا در گاو با روش ملکولی شناسایی‌شده‌اند که فراوانی نسبی *بابزیا بوویس* در این تحقیق ۰/۶۷ درصد گزارش شد که میزان شیوع در مقایسه با تحقیق حاضر بسیار پایین‌تر است (Rajabi et al, 2017) علاوه بر تفاوت‌های اکولوژیکی و ناقلین در مناطق مختلف که در میزان شیوع بیماری مؤثر است (Yusuf, 2017) یکی از دلایل وجود موارد مثبت بالای *بابزیا بوویس* در این تحقیق را می‌توان استفاده از روش واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای دانست که حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به واکنش زنجیره پلیمراز دارد (Nayel et al, 2012). در تحقیقات ملکولی دیگر انجام شده در ایران به شناسایی جنس بابزیا در گاو بسنده شده است و فراوانی این جنس در چهارمحال و بختیاری ۷ درصد و اصفهان ۴ درصد گزارش‌شده است (Khamesipour et al, 2015) ولی در بررسی‌های ملکولی انجام شده در شهرهای تنکابن، رامسر، تربت‌جام، یزد و اصفهان این جنس شناسایی نشده است (Cheshti et al, 2013; Noaman, 2013).

در منطقه آسیا فراوانی نسبی *بابزیا بوویس* در پاکستان ۱۸ درصد، سوریه ۱۵/۴۶ درصد تایلند ۳۸/۹ درصد پنجاب هند ۳۰/۳۹ درصد و چین ۹/۳ درصد گزارش شده است که نسبت به میزان گزارش شده در این تحقیق کمتر است (Chaudhry, 2010; Terkawi, 2012; Simking, 2014; Bhat, 2015; Niu, 2015).

در تحقیق حاضر هیچ نمونه‌ای از نظر *بابزیا بایجمینا* مثبت نبود. در استان آذربایجان غربی فراوانی نسبی *بابزیا بایجمینا* در گاوهای این استان ۸/۲ درصد گزارش شده است در تحقیق مذکور کنه *ریپی سفالوس آنولاتوس* به عنوان ناقل این انگل در استان آذربایجان غربی معرفی شده است (Rajabi et al, 2017)، با توجه به عدم وجود گزارشی در خصوص حضور این گونه کنه در استان اصفهان (Noaman et al, 2017) عدم تشخیص *بابزیا بایجمینا* در نمونه‌های مورد آزمایش را می‌توان به عدم وجود کنه ناقل انگل در این منطقه نسبت داد. شیوع *بابزیا بایجمینا* در کشورهای پاکستان ۱۱ درصد، سوریه ۹/۱۸ درصد تایلند

۵/۳ درصد ترکیه ۹ درصد و چین ۲۰/۷ درصد گزارش شده است که نشانه‌ی گسترش این گونه در این کشورها می‌باشد (Chaudhry 2010; Terkawi, 2012; Simking, 2014; Aktas and Ozubek, 2015; Niu 2015). تفاوت مشخص در شیوع گونه‌های بابزیا در مناطق و کشورهای متفاوت ناشی از تنوع گسترش گونه‌های ناقل بابزیا، تفاوت اکولوژیکی، نوع آب و هوا، مدیریت گاوداری، مقاومت کنه‌ها به سموم، زمان نمونه‌گیری، جمعیت تحت مطالعه و حساسیت و ویژگی آزمون‌های انتخابی دارد (OIE 2008).

در این مطالعه فصل سال به عنوان عامل خطر ابتلای گاوها به *بابزیا بوویس* شناخته شد. در مطالعه‌ی انجام شده در اصفهان نشان داده شده است که در اواسط بهار حضور کنه بر روی بدن گاوها افزایش می‌یابد و در تابستان به اوج خود می‌رسد و در پاییز از تراکم حضور کنه بر روی بدن دام کاسته می‌شود؛ بنابراین با توجه به انتقال *بابزیا بوویس* از طریق کنه ارتباط فراوانی عامل بیماری با فصل فعالیت کنه در استان دور از ذهن نیست (Noaman et al, 2017). نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام شده در هند که شیوع *بابزیا بوویس* با فصل گرم سال در ارتباط بود مطابقت دارد (Maharana et al, 2016).

در این تحقیق فراوانی گونه *بابزیا بوویس* در گاو با حضور کنه در دامداری ارتباط داشت. نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام‌شده در اتیوپی، پاکستان، تایلند و برزیل که فراوانی *بابزیا* با حضور کنه در ارتباط بود مطابقت دارد (Abdela et al, 2018; Farooqi et al, 2017; Jirapattharasate, 2016; Amorim, 2014).

نتیجه‌ی کلی این تحقیق نشان می‌دهد که اگر چه تظاهرات بالینی ناشی از *بابزیا بوویس* در منطقه‌ی جنوبی اصفهان (شهرضا) مشاهده نشده است ولی میزان شیوع *بابزیا بوویس* نسبت به یافته‌های دیگر استان‌ها و برخی از کشورهای اطراف ایران بالا است و فصل سال به عنوان عامل خطر در این فراوانی مؤثر است که در آینده باید در خصوص شناسایی کنه‌های ناقل این انگل مطالعات جامعی انجام شود. علاوه بر این نتایج این تحقیق نشان داد که آزمون ملکولی نه تنها قابلیت تفریق گونه‌های *بابزیا* را دارد بلکه حساسیت آزمون ملکولی تقریباً دو برابر آزمون میکروسکوپی می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی اصفهان که ما را در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر و تشکر انجام می‌شود.

تعارض منافع

بدین وسیله نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچگونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

قسمتی از منابع مالی این پژوهش در قالب پایان نامه از محل اعتبار پژوهانه سال ۱۳۹۷ دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد و قسمتی از محل اعتبارات پروژه ملی با شماره ۰-۳۸-۱۸-۰۲۶-۹۵۰۱۶۸ انجام شده است که بدین وسیله از معاونت پژوهشی موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی قدردانی و تشکر می‌گردد.

منابع

Abdela, N., Ibrahim, N. and Begna, F. (2018). Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern Ethiopia. Acta Tropica, 177: 9-18.

Aktas, M. and Ozubek, S. (2015). Molecular and parasitological survey of bovine piroplasms in the Black Sea region, including the first report of babesiosis associated with *Babesia divergens* in Turkey. Journal of Medical Entomology, 52(6): 1344-1350.

Amorim, L.S., Wenceslau, A.A., Carvalho, F.S., Carneiro, P.L.S. and Albuquerque, G.R. (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.

Bhat, S.A., Singh, H., Singh, N.K. and Rath, S.S. (2015). Molecular detection of *Babesia bigemina* infection in apparently healthy cattle of central plain zone of Punjab. Journal of Parasitic Diseases, 39(4): 649-653.

Bloch, E.M, Lee, T.H., Krause, P.J., Telford, S.R., Montalvo, L. and Chafets, D. (2013). Development of a real-time polymerase chain reaction assay for sensitive detection and quantitation of *Babesia microti* infection. Transfusion, 53: 2299-2306.

Chaudhry, Z., Suleman, M., Younus, M. and Aslim, A. (2010). Molecular detection of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in crossbred carrier cattle through PCR. Pakistan Journal of Zoology, 42: 201-204.

Cheshti, B., Razmi, G.R. and Naghibi, A. (2013). A Comparative Study on Haemoprotozoa Infection in Apparently Healthy Cattle in Different Geographical Areas of Iran Using PCR Method. Journal of Veterinary Microbiology, 9(2):139-145

Dantas-Torres, F., Alves, L.C. and Uilenberg, G. (2017). Babesiosis. In Arthropod Borne Diseases. 2nd ed. Springer, Cham, Pp: 347-354.

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

Farooqi, S.H., Ijaz, M., Rashid, M.I., Aqib, A.I., Ahmad, Z., Saleem, M.H. and Khan, A. (2017). Molecular epidemiology of *Babesia bovis* in bovine of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. Pakistan Veterinary Journal, 37: 275-80.

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(4): 273-286.

Gubbels, J.M., De Vos, A.P., Van der Weide, M., Viseras, J., Schouls, L.M., De Vries, E. and Jongejan, F. (1999). Simultaneous detection of bovine theileria and babesia species by reverse line blot hybridization. Journal of Clinical Microbiology, 37(6): 1782-1789.

Hashemi-Fesharaki, R. and Amjad, A.R. (1977). An outbreak of Babesia bovis infection in cattle and its control. Archives of Razi Institute, 29(1): 83-86.

Hasheminasab, S.S., Moradi, P. and Wright, I. (2018). A four year epidemiological and chemotherapy survey of babesiosis and theileriosis, and tick vectors in sheep, cattle and goats in Dehgolan, Iran. Annals of Parasitology, 64(1): 43-48.

Hussain, S., Ashraf, K., Anwar, N., Jamal, M.A., Naeem, H., Ahmad, N. and Rahman A.U. (2017). Diagnosis of *babesia bovis* infection in indigenous and crossbred cattlewith comparison between conventional and molecular diagnostic techniques. Journal of Information of Molecular Biology, 5(1): 1-6.

Ibrahim, O., Taha, Z. and Jassim, S. (2012). Prevalence of *Babesia bovis* in cattle in Tikreet city and its surroundings with hematological study. Tikrit Journal of Pure Science, 17: 32-34.

Jirapattharasate, C., Moumouni, P.F.A., Cao, S., Iguchi, A., Liu, M., Wang, G. and Ratanakorn, P. (2016). Molecular epidemiology of bovine *Babesia spp*. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. Parasitology International, 65(1): 62-69.

Kalani, H., Fakhar, M. and Pagheh, A. (2012). An overview on present situation babesiosis and theileriosis and their distribution of ticks in Iran. Iranian Journal of Medical Microbiology, 5(4):59-71. (In Persian)

Khamesipour, F., Doosti, A., Koohi, A., Chehelgerdi, M., Mokhtari-Farsani, A. and Chengula, A. A. (2015). Determination of the presence of *Babesia* DNA in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. Archive of Biology Science of Belgrade, 63(1): 83-90.

Maharana, B. R., Kumar, B., Prasad, A., Patbandha, T.K., Sudhakar, N.R., Joseph, J.P. and Patel, B.R. (2016). Prevalence and assessment of risk factors for haemoprotozoan infections in cattle and buffaloes of South-West Gujarat, India. Indian Journal of Animal Research, 50(5):733-739.

Motavalli-Haghi, M., Etemadifar, F., Fakhar, M., Teshnizi, S.H., Soosaraei, M., Shokri, A., Hajihasani, A. and Mashhadi, H. (2017) Status of babesiosis among domestic herbivores in Iran: a systematic review and meta-analysis. Parasitology Research, 116:1101–1109.

Nayel, M., El-Dakhly, K.M., Aboulaila, M., Elsify, A., Hassan, H., Ibrahim, E., Salama, A. and Yanai, T. (2012) The use of different diagnostic tools for Babesia and Theileria parasites in cattle inMenofia, Egypt. Parasitology Research, 111(3):1019–1024.

Niu, Q., Liu, Z., Yu, P., Yang, J., Abdallah, M.O., Guan, G. and Yin, H. (2015). Genetic characterization and molecular survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia ovata* in cattle, dairy cattle and yaks in China. Parasites and Vectors, 8 (1): 1-13.

Noaman, V. (2013). A molecular study on *Theileria* and *Babesia* in cattle from Isfahan province, Central Iran. Journal of Parasitic Diseases, 37(2): 208-210.

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

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(1): 15-21.

Noaman, V., Jahangirnejad, A.A. and Nabinejad, A.R. (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. (In Persian)

Noaman, V. and Shayan, P. (2010). Comparison of Microscopy and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. Iranian Journal of Microbiology, 2(2): 89-94.

OIE (2013). Bovine Babesiosis: Aetiology Epidemiology Diagnosis Prevention and Control References.

Rajabi, S., Esmaeilnejad, B. and Tavassoli, M. (2017). A molecular study on Babesia spp. in cattle and ticks in West-Azerbaijan province, Iran. Veterinary Research Forum, 8(4): 299-306.

Romero-Salas, D., Mira, A., Mosqueda, J., García-Vázquez, Z., Hidalgo-Ruiz, M., Vela, N.A.O. and Schnittger, L. (2016). Molecular and serological detection of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. Veterinary Parasitology, 217: 101-107.

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

Sevgili, M., Cakmak, A., Atlas, M.G. and Ergun, G. (2010). Prevalence of *Theileria annulata* and *Babesia bigemina* in cattle in the vicinity of Sanliurfa. Journal of Animal andVeterinary Advances, 9:292-296.

Silva, M., Henriques, G., Sanchez, C., Marques, P., Suarez, C. and 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.

Simking, P., Yatbantoong, N., Saetiew, N., Saengow, S., Yodsri, W., Chaiyarat, R. and Jittapalapong, S. (2014). Prevalence and risk factors of *Babesia* infections in cattle trespassing natural forest areas in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. Journal of Tropical Medicine and Parasitology, 37(1): 10-9.

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

Terkawi, M.A., Alhasan, H., Huyen, N.X., Sabagh, A., Awier, K., Cao, S. and Kalb-Allouz, A.K. (2012). Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from central region of Syria. Veterinary Parasitology, 187(1): 307-311.

World Organization for Animal Health [OIE] (2008). Manual of Diagnostic Tests and Vaccines. Bovine babesiosis. http://www.oie.int/eng/normes/mmanual/2008/pdf/2.04.0 (online)

Yusuf, J.J. (2017). Review on bovine babesiosis and its economical importance. Journal of Veterinary Medicine and Research, 4(5): 1090.

Ziapour, S.P., Esfandiari, B. and Youssefi, M. R. (2008). Study of the prevalence of babesiosis in domesticated animal with suspected Signs in Mazandaran province, North of Iran, puring. Journal of Animal and veterinary Advance, 10(6): 712-714.

Received: 24.11.2019
Accepted: 29.04.2020

Vol. 17, No. 4, Winter, 2022 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2020.209168.2201
DOR: 20.1001.1.17356873.1400.17.4.3.0

Molecular detection and prevalence of *Babesia bovis* in cattle of Shahreza city, the south region of Isfahan province, Iran

Mohammad-Mehdi Jaridehdar[1], Vahid Noaman[2*], Yaser Pirali[3] and Hamid-Reza Azizi[4]

[1] MSc Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[2] Associate Professor, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
[3] Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[4] Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Accepted:29.04.2020 Received: 24.11.2019

Abstract

This study aimed to determie the variety of Babesia species among cattle of shahreza city in the south part of Isfahan Province. A total of 253 blood samples were collected via the jugular vein from healthy cattle, randomly. The extracted DNA from blood cells was amplified by Babesia-all primers, which amplify an approximately 400bp DNA fragment from the region of the 18S rRNA gene from various members of the genus Babesia. All cattle positive samples were further analysed for the presence of *B. bigemina* and *B. bovis* by specific semi-nested PCR. *B. bigemina* and *B. bovis* were identified by specific semi-nested PCR in 0% and 65.2% of cattle blood samples, respectively. Chi-square tests were used to compare molecular prevalence values relative to Season, Farm, Type, Hygiene, Vectors, Use a disposable needle, Age, and Milk Yield. Among these factors, seasons and vectors were found to have significantly different in the prevalence. The significant major risk factors of *B. bovis* in cattle were identified as season, hygiene, and vectors by the univariate analysis. Moreover, multivariable logistic regression analysis revealed a statistically significant association of the prevalence of *B. bovis* with the season. The examination of 50 microscopic fields showed 59.39% sensitivity and 100% specificity compared to molecular examination. The Kappa coefficient between molecular and microscopy (50 fields) techniques indicated a moderate level of agreement (Kappa= 0.504). This study is the first molecular detection of Babesia species from cattle in the south of Isfahan Province, Iran. Further researches are needed to determine the vectors, vector-host interactions and genotypic variants that may affect the presence and distribution of Babesia species in Iran.

Key words: Iran, Isfahan Province, *Babesia* species, Cattle, Molecular detection

[*] **Corresponding Author**: Vahid Noaman, Associate Professor, Department of Animal Parasitic Disease, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
E-mail: v.noaman@areeo.ac.ir

© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/).