مطالعه مقطعی آلودگی به *بارتونلا هنسله* در سگ‌های شهرستان اهواز به روش PCR

کتایون اسکویی‌زاده[۱]، بهمن مصلی‌نژاد[۲*]، مسعودرضا صیفی‌آبادشاپوری[۳] و خدیجه ثنایی[۴]

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۲/۶

خلاصه

گونه‌های بارتونلا، به عنوان یک عامل بیماری‌زای باکتریایی مهم، در دامپزشکی و پزشکی در حال افزایش هستند. هدف از انجام این مطالعه، تعیین شیوع *بارتونلا هنسله* در نمونه‌های خون، بزاق و ناخن سگ‌های اهلی در منطقه اهواز، جنوب غرب ایران بود. مطالعه، جهت تعیین عفونت ناشی از *بارتونلا هنسله*، روی ۱۰۰ قلاده سگ خانگی که در اهواز زندگی می‌کردند انجام گرفت. نمونه‌های خون، بزاق و ناخن (۳۰۰ نمونه)، از سگ‌های مورد مطالعه و برای یک دوره ۱ ساله جمع‌آوری گردید. نمونه‌ها از لحاظ حضور اجرام *بارتونلا هنسله* و به روش PCR (واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز) مورد بررسی قرار گرفتند. در این بررسی، *بارتونلا هنسله* از نمونه‌های خون، بزاق و ناخن سگ‌های مورد مطالعه جدا نگردید. در جداسازی DNA *بارتونلا هنسله* توسط PCR، از پرایمرهای Bart321s و Bart983as استفاده گردید. این تحقیق، اولین مطالعه درباره شیوع عفونت ناشی از *بارتونلا هنسله*، در جمعیت سگ‌های ایران می‌باشد. عدم وجود آلودگی در سگ‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که آنها احتمالاً نقشی در انتقال عفونت ندارند، با این وجود، مطالعه‌ای دیگر روی یک جمعیت بزرگ‌تر از سگ‌ها توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: *بارتونلا هنسله*، بیماری خراش گربه، سگ، ایران

مقدمه

بیماری خراش گربه[۱]، یکی از شایع‌ترین بیماری‌های تشخیص داده شده ناشی از عفونت بارتونلایی در انسان است که عمدتاً از طریق گربه به انسان منتقل می‌گردد. عامل این بیماری باکتری *بارتونلا هنسله*[۲] می‌باشد (Kusumanto et al. 1997, Mandell et al. 2005). علایم این بیماری در انسان اختصاصی نیست و با وجود شیوع نسبتاً بالا، در تشخیص تفریقی بیماری‌های مختلف مورد توجه قرار نمی‌گیرد (Kusumanto et al. 1997). Wear و همکاران در سال ۱۹۸۳، یک باکتری گرم منفی را در نمونه‌های بیوپسی از غدد لنفاوی بیماران مبتلا به خراش گربه توسط رنگ‌آمیزی گرم[۳] و رنگ‌آمیزی وارتین – استاری نقره‌ای[۴] تشخیص دادند. در طی دهه ۱۹۹۰ میلادی، دو گروه به صورت جداگانه یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل را همراه با تب، لنفادنوپاتی و تماس با

[۱] استادیار گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور (PNU)، تهران

[۲*] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail:bmosallanejad@scu.ac.ir (نویسنده مسئول)

[۳] استاد گروه علوم پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۴] دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

1- CSD (Cat Scratch Disease)
2- *Bartonella henselae*
3- Gram staining
4- Warthin-Starry silver

گربه (مثل بیماری خراش گربه) تشخیص دادند که *رکالمیا هنسله*[1] نامیده شد و سپس مجدداً با نام *بارتونلا هنسله* طبقه‌بندی گردید (Mediannikov et al. 2011). *بارتونلا هنسله* می‌تواند در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف، به ویژه کسانی که به ویروس ایدز مبتلا هستند بیماری‌های خطرناکی نظیر *باسیلاری آنژیوماتوزیس*[2]، *باسیلاری پلیوزیس*[3]، باکتریمی و اندوکاردیت[4] ایجاد کند (Beerlage et al. 2012, Greene 2007). جداسازی *بارتونلا هنسله* از گربه‌های اهلی در نقاط مختلف جهان از جمله شمال امریکا، اروپا، ژاپن، استرالیا، فیلیپین، تایلند و اندونزی گزارش شده است (Chomel et al. 1999, Greene 2007, Marstonand et al. 1999, Maruyama et al. 1996, Maruyama et al. 2001). در مطالعه‌ای که توسط اسکویی‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰ روی گربه‌های تهران صورت گرفت، نشان داده شد که میزان شیوع در جمعیت گربه‌ها با سن و نحوه زندگی گربه (خانگی یا ولگرد بودن) ارتباط دارد. میزان شیوع بیماری در گربه‌ها و مقایسه آن با حضور بیماری در صاحبان آنها نشان داد که تماس با گربه‌ها به عنوان یک فاکتور خطر، جهت ابتلاء به *بارتونلا هنسله* مطرح می‌باشد. در ایالات متحده امریکا، موارد ابتلاء سالانه بیماری خراش گربه به ۲۵۰۰۰ مورد می‌رسد. شیوع این بیماری در شمال امریکا ۲۸ درصد و در ژاپن ۶ تا ۲۲ درصد گزارش شده است (Greene 2007). گزارشاتی نیز در ارتباط با انتقال بارتونلا توسط سگ‌ها وجود دارد. گونه‌های مختلفی از بارتونلا (*بارتونلا هنسله*، *بارتونلا وینسونی تحت گونه برخوفی*، *بارتونلا کلره‌آ* و *بارتونلا بویس*) از سگ‌های اهلی جدا شده است (Pacrez and et al. 2011). در مطالعات دیگری که در آمریکا و اسپانیا انجام شد، *بارتونلا هنسله* را از سگ‌های اهلی جدا کردند (Pacrez et al. 2011, Tabar et al. 2011). مطالعه حاضر، اولین بررسی در مورد شیوع این بیماری در سگ‌های اهلی ایران است. بر اساس بررسی‌های به عمل آمده در این تحقیق، تاکنون در ایران هیچ موردی از بیماری خراش گربه به طور مستند در مجامع و مجلات علمی در جمعیت سگ‌ها گزارش نشده است. در هر صورت، موارد گزیدگی و خراشیدگی‌های ناشی از حیوانات، یک مساله شایع در ایران می‌باشد و گزارش‌های متعدد واکسیناسیون بر علیه هاری، متعاقب گزش حیوانات (سگ و گربه)، گواهی بر این موضوع می‌باشد. با توجه به شباهت بسیار زیاد علایم بیماری خراش گربه با بیماری‌های مهمی همچون سل و سایر عفونت‌های مایکوباکتریایی، تولارمی، طاعون، بروسلوز، سیفیلیس، اسپوروتریکوز، هیستوپلاسموز، توکسوپلاسموز، لنفوما و سایر نئوپلاسم‌ها، آدنیت‌های باکتریایی، حتی ایدز و انتشار جهانی این بیماری‌ها (Greene 2007)، لازم است که در مورد تعداد حاملین، میزان خطر سگ در انتقال بیماری، روش‌های کاهش جمعیت سگ‌های حامل، محل زندگی، منطقه جغرافیایی، شرایط آب و هوایی و سن در فراوانی آلودگی در بین سگ‌های ایران، مطالعات تکمیلی بیشتری انجام پذیرد. هدف از انجام مطالعه حاضر، بررسی فراوانی آلودگی سگ‌های شهرستان اهواز، به باکتری *بارتونلا هنسله* و به روش PCR بود.

مواد و روش کار

در این مطالعه از ۱۰۰ قلاده سگ خانگی، نمونه‌گیری (به صورت مقطعی) صورت گرفت و از تمامی سگ‌ها، نمونه‌های مجزا از خون، بزاق و ناخن تهیه شد (در مجموع ۳۰۰ نمونه). در این بررسی، اگر حیوانی بیماری عفونی یا درمان آنتی‌بیوتیکی تا یک ماه قبل از نمونه‌گیری داشت، از مطالعه حذف می‌شد. در معاینات بالینی دقیقی

1- Rochalemia henselae
2- Bacillary Angiomatosis
3- Bacillary Pliosis
4- Endocarditis

که صورت گرفت، در هیچ یک از سگ‌ها، آلودگی به انگل‌های خارجی به ویژه کک دیده نشد. سگ‌های مورد مطالعه از نژادهای مختلف تریر (۳۶ درصد)، ژرمن شفرد (۱۷ درصد)، دوبرمن پینچر (۱۲ درصد)، مخلوط نژادهای بزرگ (۲۶ درصد)، اشپیتز (۲ درصد)، پکینز (۵ درصد)، باکسر (۱ درصد) و گریت دین (۱ درصد) بودند. از ۵۲ قلاده سگ نر و ۴۸ قلاده سگ ماده نمونه‌گیری صورت گرفت که ۱۵ مورد از این سگ‌ها زیر ۱ سال، ۵۴ مورد بین ۱ تا ۳ سال و ۳۱ مورد بالای ۳ سال بودند. مشخصات سگ‌های مورد مطالعه در جدول ۱ آمده است.

جدول ۱: مشخصات ۱۰۰ قلاده سگ خانگی مورد مطالعه در شهرستان اهواز در طول سال‌های ۹۰-۱۳۸۸

شاخص		تعداد سگ‌ها
جنس	نر	۵۸
	ماده	۴۲
سن	زیر ۱ سال	۱۵
	۱ تا ۳ سال	۵۴
	بالای ۳ سال	۳۱
فصل	فصل گرم	۵۰
	فصل سرد	۵۰
نشانه‌های بالینی	دارای نشانه	۰
	فاقد نشانه	۱۰۰

از هر یک از سگ‌های مورد مطالعه، ۲ میلی‌لیتر خون از ورید سفالیک و با رعایت شرایط ضد عفونی، در لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد (EDTA)، جهت انجام مراحل آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز جمع‌آوری گردید. برای تهیه نمونه بزاق از سواب‌های استریل استفاده شد و سواب‌ها به محیط انتقالی استوارت منتقل شدند (Mandell et al. 2005, Sander et al. 1997). برای تهیه نمونه ناخن، مقداری از ناخن کوتاه شده و قطعاتی از آنها در محیط انتقال قرار داده شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری (Genomic DNA Extraction Kit) متعلق به شرکت Bioneer کره جنوبی و بر اساس دستورالعمل آن انجام گرفت. جهت انجام PCR روی نمونه‌های استخراج شده، از پرایمرهای طراحی شده زیر استفاده شد:

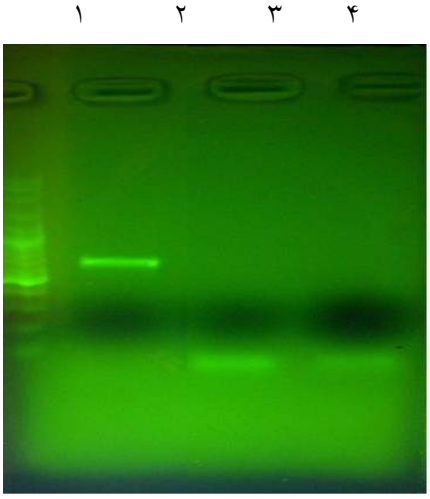
Bart321s: AGATGATGATCCCAAGCCTTCTGG
Bart983as: TGTTCTTACAACAATGATGATG

این پرایمرها برای تکثیر ناحیه‌ای از ژنوم بارتونلا در بین ژن‌های RNA ریبوزومی 16s و 23s، در گونه‌های مختلف این باکتری طراحی شده‌اند، اما طول محصول PCR برای هر گونه باکتری متفاوت می‌باشد. طول محصول PCR *بارتونلا هنسله* با استفاده از این پرایمرها ۶۸۴ زوج نوکلئوتید می‌باشد (Maggi and Breitschwerdt 2005). واکنش PCR در حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر و به شرح زیر انجام شد: ۵ میکرولیتر از هر نمونه DNA استخراج شده، ۵ میکرولیتر بافر 10xPCR، ۳ میکرولیتر $MgCl_2$ ۵۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر مخلوط dNTP ۱۰ میلی‌مولار، ۱ میکرولیتر (۳۰ پیکومول) از هر یک از پرایمرهای 321s و 983as ، ۰/۶ میکرولیتر (۳ واحد) آنزیم DNA پلی‌مراز Taq و ۳۳/۴ میکرولیتر آب مقطر استریل، در یک میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتری PCR مخلوط شدند. به منظور مشخص نمودن صحت پروتوکل PCR و پرایمرهای مورد استفاده جهت تشخیص باکتری *بارتونلا هنسله*، در ابتدا آزمایش PCR با کنترل منفی و کنترل مثبت انجام گرفت. از آب دوبار تقطیر غیر یونیزه استریل به عنوان کنترل منفی و از سوش استاندارد *بارتونلا هنسله* (strain87-66 ATCC49793) تهیه شده از گروه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران به عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در ادامه آزمایش از پروتوکل قابل قبول در تشخیص باکتری *بارتونلا هنسله* بر اساس روش Anderson و Sander برای سایر نمونه‌ها استفاده گردید (Anderson et al. 1994, Sander et al. 1997). از آنجا که با یک زوج پرایمر (Bart321s و Bart983as) می‌توان گونه‌های مختلف از بارتونلا را شناسایی کرد و این روش به کرات در آزمایشگاه‌ها استفاده شده و به خوبی جواب داده‌اند، از روش فوق استفاده گردید. لازم

به ذکر است، هر بار که نمونه‌ها را (در حدود ۱۵-۱۰ مورد)، از لحاظ PCR بررسی می‌کردیم، کنترل‌های مثبت و منفی، جهت اطمینان تکرار می‌گردید. در نمونه‌های کنترل منفی پس از انجام PCR نباید باندی دیده می‌شد. جهت تفکیک فراورده‌های حاصل از تکثیر PCR، از ژل آگارز ۲ درصد در بافر TAE (1X) استفاده شد. همچنین از DNA ladder 100 bp به عنوان مارکر استاندارد و از رنگ اتیدیوم بروماید استفاده گردید. در پایان از ژل الکتروفورز و در زیر نور UV متصل به رایانه، عکس‌برداری شده و نتیجه آزمایش قرائت گردید.

نتایج

در این مطالعه از ۳۰۰ نمونه‌ای که از خون، ناخن و بزاق متعلق به ۱۰۰ قلاده سگ (۵۲ قلاده نر و ۴۸ قلاده ماده) تهیه شده بود، هیچ موردی از نظر ابتلاء به باکتری *بارتونلا هنسله*، مشاهده نگردید. در واقع هیچکدام از نمونه‌های جمع‌آوری شده در این تحقیق که با استفاده از پرایمرهای طراحی توسط Maggi و Breitschwerdt انجام شدند، منجر به تولید قطعه مورد انتظار (با طول موج ۶۸۴ زوج نوکلئوتید) نگردید. نتایج نشان داد که کیفیت DNA استخراج شده از نمونه‌های خون در ژل آگارز و نیز آزمایش PCR با استفاده از پرایمرهای اختصاصی ژن کدکننده RNA ریبوزومی 18S، از قابلیت لازم برخوردار بودند. بدین منظور نمونه‌ها با استفاده از پرایمرهای عمومی ژن تولید کننده ریبوزومی، چندین بار مورد بررسی قرار گرفته و صحت استخراج DNA (متعلق به شرکت Bioneer آمریکا) مورد تایید قرار گرفت. نتایج به دست آمده از این تحقیق، اولین گزارش بررسی بارتونلا هنسله در سگ، از کشور ایران را بیان می‌کند. ۱۵ درصد از سگ‌های مورد مطالعه زیر ۱ سال، ۵۴ درصد بین ۳-۱ سال و ۳۱ درصد بالای ۳ سال بودند. علائم بالینی (درجه حرارت، ضربان قلب و تعداد تنفس) در تمامی سگ‌های مورد مطالعه، در محدوده طبیعی قرار داشتند و هیچ‌گونه آلودگی به انگل‌های خارجی در آنها یافت نشد. نتایج آزمایش PCR، جهت تشخیص باکتری مورد نظر در سگ‌های مورد مطالعه در تصویر ۱ آمده است. در این تصویر، الکتروفورز محصول آزمایشات PCR بر روی یک نمونه جمع‌آوری شده، همراه با کنترل‌های مثبت (سوش استاندارد بارتونلا هنسله: strain 87 – 66ATCC49793) و منفی (آب مقطر) نشان داده شده است. جهت مشاهده باندهای تفکیک شده، با تابش اشعه UV بر روی ژل، باند DNA مشاهده و از نظر صحت طول قطعه مورد بررسی قرار گرفتند.



تصویر ۱: آزمایش PCR جهت تشخیص باکتری بارتونلا هنسله، از سگ‌های مورد مطالعه (۱: مارکر، ۲: کنترل مثبت (خود باکتری)، ۳ و ۴: نمونه‌های منفی).

بحث

در حال حاضر باکتری *بارتونلا هنسله*، به عنوان عامل اصلی بیماری خراش گربه و *باسیلاری آنژیوماتوزیس* در جهان شناخته شده است و طیف نشانه‌های بالینی آن، در حال گسترش است. گربه‌ها عمدتا، به عنوان مخزن *بارتونلا* مطرح می‌باشند (Dehio 2003). در مطالعه حاضر، میزان آلودگی به *بارتونلا هنسله*، در جمعیت سگ‌های اهلی صفر درصد تعیین شد. عدم آلودگی بزاق و ناخن به باکتری *بارتونلا هنسله*، می‌تواند احتمالاً دال بر نبودن *بارتونلا هنسله* به عنوان فلور طبیعی در این نواحی

باشد که این موضوع در بررسی دیگری که در آلمان صورت گرفت، عنوان شده بود (Sander et al. 1997). در این بررسی، عدم آلودگی خون سگ‌های اهلی به باکتری *بارتونلا هنسله* نیز مشخص گردید که می‌توان دلائل احتمالی را این‌گونه توجیه کرد: از آنجا که تمام سگ‌های مورد مطالعه، از بین جمعیت سالم (غیر عفونی) انتخاب شده بودند، همگی عاری از آلودگی به انگل‌های خارجی (به ویژه کک‌ها) بوده و تماس نزدیک با یکدیگر نداشته‌اند، لذا تمام نمونه‌ها منفی شده‌اند. ضمن اینکه سگ‌ها مشابه گربه‌ها، مخزن اصلی برای *بارتونلا هنسله* محسوب نمی‌شوند. اگرچه سگ‌ها در تمام سنین، نژادها و جنس‌های مختلف حساس‌اند، اما سگ‌ها در مناطق روستایی و نژادهای گله (به دلیل در معرض قرار گرفتن به کک‌ها، کنه‌ها و دیگر انگل‌های خارجی)، بیشتر در معرض خطر می‌باشند. بنابراین با توجه به تحقیق حاضر روی جمعیت سگ‌های خانگی، عدم وجود آلودگی تا حدود زیادی قابل توجیه است. تا کنون گونه‌های مختلفی از بارتونلا (*بارتونلا هنسله*، *بارتونلا وینسونی تحت گونه برخوفی*، *بارتونلا کلره‌آ*، *بارتونلا بویس*) از سگ‌های اهلی جدا شده است (Pacrez et al. 2011). *بارتونلا کلاریدگیه* در نمونه‌های کک سگ و گربه در کشور فرانسه، گونه غالب بوده است، در حالی که در کشور آلمان، *بارتونلا هنسله* بیشتر جدا گردید (Just et al. 2008). در گزارش Kim و همکاران در سال ۲۰۰۹ از کشور کره، *بارتونلا هنسله* از ۱۶/۶ درصد نمونه‌های خون سگ‌های خانگی، ۱۸/۵ درصد از بزاق و ۲۹/۶ درصد از ناخن سگ‌ها جدا شد. یک مطالعه در آمریکا روی ۶۶۳ قلاده سگ، نشان داد که ۶۱ مورد از آنها آلوده بودند که ۳۰ مورد *بارتونلا هنسله*، ۱۷ مورد *بارتونلا برخوفی*، ۷ مورد *بارتونلا کلره*، ۲ مورد *بارتونلا ولنس* و ۲ مورد نیز *بارتونلا بویس* بودند (Pacrez et al. 2011). در تحقیق دیگر در آمریکا، گونه‌های بارتونلا از بافت قلب ۹ قلاده سگ که اندوکاردیت داشتند، جدا گردید (Fenimore et al. 2011). در سال ۲۰۱۱ در ایتالیا، *بارتونلا هنسله* از یک قلاده سگ نژاد پومرانین ۳ ساله که پیوگرانولوماتوز عمومی داشت، جدا گردید (Tabar et al. 2011). شیوع بارتونلوز در جمعیت سگ‌های شهری و روستایی ترکیه نشان داد که از ۸۵۵ سگ مورد مطالعه، ۵۶ تا از آنها آلوده بودند، یعنی شیوع در این منطقه ۶/۶ درصد بوده است (Celebi et al. 2010). یک تحقیق دیگر در فرانسه از ۶۴ قلاده سگ و به روش PCR نشان داد که در هیچ کدام از سگ‌ها این عامل باکتریایی وجود ندارد (Mediannikov et al. 2011). شیوع عفونت ناشی از بارتونلوز در ۳۵۰ قلاده سگ اهلی در تایلند نشان داد که تنها در یکی از سگ‌ها *بارتونلا کلاریدگیه* جدا گردید (Inoue et al. 2009). بنابراین نتایج تحقیق حاضر، با نتایج Mediannikov و همکاران در سال ۲۰۱۱ در فرانسه، که تمام نمونه‌ها منفی بودند هم‌خوانی دارد و با نتایج Inoue و همکاران در سال ۲۰۰۹ در کشور تایلند، که تنها ۱ نمونه مثبت بود، بسیار نزدیک است. عدم آلودگی به بارتونلا در این مناطق با وضعیت بهداشتی سگ‌ها مرتبط می‌باشد. در تحقیق Mokhtar و Tay در سال ۲۰۱۱ روی ۲۰۹ کک (*کتنوسفالیدس کنیس*) سگ‌های خانگی در مالزی و به روش PCR نشان داده شد که DNA *بارتونلا هنسله* و *بارتونلا کلاریدگیه* در ۴۰ تا از کک‌ها (۱۹/۱ درصد) حضور داشتند. حضور همزمان ۲ گونه بارتونلا در ۱۰ مورد از کک‌ها (۴/۸ درصد) مشخص گردید. تحققیق آنها نشان داد که کک‌ها یک منبع بالقوه از بیماری خراش گربه در مالزی می‌باشد. بسیاری از محققین، شیوع سرمی بالا و آلودگی به باکتری *بارتونلا هنسله* را بدون علائم بالینی، در بین جمعیت گربه‌ها که به طور طبیعی مبتلا شده‌اند، گزارش کرده‌اند (Bergmans et al. 1997, Childs et al. 1994, Chomel et al. 1995, Chomel et al. 1999, Greene 2007, Jameson et al. 1995, Ueno et al. 1995). تعیین تیتر آنتی‌بادی در ایالات متحده و غرب کانادا از ۳۳ منطقه جغرافیایی، نشان داد که شیوع بارتونلوز، با افزایش درجه حرارت هوا و بارش سالانه ارتباط دارد. ضمناً، بیشترین تعداد ناقلین

بندپا، در چنین مناطق گرم و مرطوبی حضور داشتند (Greene 2007). عدم آلودگی و منفی بودن تمام نمونه‌ها در مطالعه حاضر، می‌تواند حاکی از عدم تماس نزدیک و یا طولانی مدت سگ‌های مورد مطالعه با یکدیگر باشد. در مطالعه حاضر به دلیل کوتاه بودن دوره نمونه‌گیری و همچنین نبودن نمونه‌های مثبت، امکان بررسی اثرات شرایط آب و هوایی، بر میزان شیوع باکتریمی *بارتونلا هنسله* وجود نداشت. اسکویی‌زاده و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان دادند که شیوع سرمی عفونت ناشی از *بارتونلا هنسله*، در گربه‌های بالای ۶ ماه بیشتر است و بالاترین سنی که تیتر سرمی در آن مشخص گردید، ۱/۵ سالگی بود. در مطالعه حاضر که روی سگ‌های خانگی شهرستان اهواز صورت گرفت، به این دلیل این جمعیت انتخاب شد که سگ‌های خانگی بیشترین میزان تماس را با صاحبان خود دارند و از این لحاظ همواره نگرانی‌هایی برای صاحب حیوان وجود دارد، بنابراین به نظر می‌رسد بررسی‌های دیگر در جمعیت سگ‌های روستایی و گله، سگ‌های بیمار (تب‌دار و عفونی) و نیز در جمعیت‌های بزرگتر و دیگر مناطق لازم باشد. با وجود اهمیت اندکی که عفونت ناشی از *بارتونلا هنسله* در سگ و گربه‌ها دارد، حذف فارماکولوژیک باکتریمی بارتونلا، برای نگهداری از این حیوانات در منزل افرادی که ضعف سیستم ایمنی دارند، اهمیت زیادی دارد. به علت اینکه در اثر درمان رایج بارتونلوز، امکان ایجاد مقاومت دارویی وجود دارد، توصیه می‌شود تنها زمانی به درمان دارویی اقدام شود که صاحبان آنها، نقص سیستم ایمنی داشته باشند (Greene 2007). روش‌های پیشگیرانه، بر اساس رعایت مسائل بهداشتی مؤثر است. در واقع می‌بایست دست‌ها بعد از تماس با حیوانات، زخم‌ها و خراش‌های ناشی از گزش، به خوبی شستشو داده شوند. هرگز نبایستی به حیوان اجازه داد تا زخم باز را لیس بزند. ضمن اینکه کنترل کک‌ها و دیگر انگل‌های خارجی مهم است. علاوه بر این توصیه می‌شود کشت خون و روش‌های سرولوژی، در حیواناتی که صاحبان آنها دچار نقص سیستم ایمنی هستند صورت گیرد. از آن‌جا که هیچ گونه مطالعه‌ای بر روی بارتونلوز در سگ‌ها در ایران (به جز بررسی حاضر) وجود ندارد، تحقیق بیشتر در جمعیت‌های بزرگ‌تر و در معرض خطر (به ویژه آلوده به انگل‌های خارجی) توصیه می‌گردد، تا نقش این باکتری بیشتر مشخص گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله، مراتب تقدیر و تشکر خود را از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز، جهت تامین هزینه پایان نامه دانشجویی در قالب پژوهانه ابراز می‌دارند.

منابع

اسکویی‌زاده کتایون، محزونیه محمدرضا، ضیایی بیژن، زهرایی‌صالحی تقی و اشرافی‌تمایی ایرج (۱۳۹۰). جداسازی و شناسایی باکتری *بارتونلا هنسله* از گربه‌های اهلی شهرکرد. مجله دامپزشکی ایران، ۷ (۱)، صفحات ۱۲-۵.

Anderson B., Sims K., Regnery R.L., Robinson I., Schmidt M.J., Goral S., et al. (1994). Detection of *Rochalemia henselae* DNA in specimens from cat scratch disease patients by PCR. Journal of Clinical Microbiology, 32(4): 942-948.

Beerlage C., Varanat M., Linder K., Maggi R.G., Cooley J., Kempf V.A., et al. (2012). *Bartonella vinsonii subsp. Berkhoffii* and *Bartonella henselae* as potential causes of proliferative vascular diseases in animals. Medical Microbiology and Immunology, 201(3): 319-326.

Bergmans A.M.C., Jong C.M.A., Amerongen G., Schot C.S. and Schouls L.M. (1997). Prevalence of *Bartonella species* in domestic

Microbiology, 35 (9): 2256-2261.

Celebi B., Taylan Ozkan A., Kilic S., Akca A., Koenhemsi L., Pasa S., et al. (2010). Seroprevalence of *Bartonella vinsonii subsp. Berkhoffii* in urban and rural dogs in Turkey. The Journal of Veterinary Medical Science, 72(11): 1491-94.

Childs J.E., Rooney J.A., Cooper J.L., Olsen J.G. and Regnery R.L. (1994). Epidemiologic observation on infection with *Rochalimaea species* among cats living in Baltimor. Journal of the American Veterinary Medical Association, 204 (11): 1775-78.

Chomel B.B., Abbotte R.C., Kasten R.W., Floyd-Hawkins K.A., Kass P.H., Glaser C.A., et al. (1995). *Bartonella henselae* prevalence in domestic cats in California: risk factors and association between bacteremia and antibody titers. Journal of Clinical Microbiology, 33 (9): 2445-50.

Chomel B.B., Carlos E.T., Kasten R.W., Yamamoto K., Chang C., Carlos R.S., et al. (1999). *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* infection in domestic cats from the Philippines. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 60(4): 593-597.

Dehio C. (2003). Recent progress in understanding Bartonella-induced vascular proliferation. Current Opinion in Microbiology, 6 (1): 61-65.

Fenimore A., Varanat M., Maggi R., Schultheiss P., Breitschwerdt E. and Lappin M.R. (2011). *Bartonella spp.* DNA in cardiac tissues from dogs in Colorado and Wyoming. Journal of Veterinary Internal Medicine, 25(3): 613-616.

Greene C.E. (2007). Infectious diseases of the dog and cat. 3rd.ed., Philadelphia, W.B. Saunders Co, pp: 337-343.

Inoue K., Maruyama S., Kabeya H., Kawanami K., Yanai K., Jitchum S., et al. (2009). Prevalence of Bartonella infection in cats and dogs in a metropolitan area, Thailand. Epidemiology and Infection, 137 (11): 1568-73.

Jameson P., Greene C., Regnery R., Dryden M., Marks A., Brown J., et al. (1995). Prevalence of *Bartonella enselae* antibodies in pet cats throughout regions of North America. The Journal of Infectious Disease, 172 (4): 1145-49.

Just F.T., Gilles J., Pradel I., Pfalzer S., Lengauer H., Hellmann K., et al. (2008). Molecular evidence for *Bartonella spp.* In cat and dog fleas from Germany and France. Zoonoses and Public Health, 55(8-10): 514-520.

Kim Y.S., Seo K.W., Lee J.H., Choi E.W., Lee H.W., Hwang C.Y., et al. (2009). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in cats and dogs in Korea. Journal of Veterinary Science, 10 (1): 85-87.

Kusumanto Y.H., Veenhoven R.H. and Schellekens J.F.P. (1997). Two patients with atypical manifestation of cat scratch disease. Netherlands-Tijdschrift-Voor-Geneeskunde, 141 (8): 385-387.

Maggi R.G. and Breitschwerdt E.B. (2005). Potential limitations of the 16S-23S rRNA intergenic region for molecular detection of *Bartonella* species. Journal of Clinical Microbiology, 43(3): 1171-76.

Mandell G.L., Bennett J.E. and Dolin R. (2005). Principles and practice of infectious diseases. 6th.ed. Philadelphia: Elsevier, Churchill Livingstone, pp: 2733-48.

Marston E.L., Finkel B., Regnery R.L., Winoto I.L., Graham R.R., Wingnal S., et al. (1999). Prevalence of *Bartonella henselae* and *Bartonella clarridgeiae* in an urban Indonesia cat population. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 6 (1): 41-44.

Maruyama S., Nogami S., Inoue I., Namba S., Asanome K. and Katsube Y. (1996). Isolation of *Bartonella henselae* from domestic cats in Japan. The Journal of Veterinary Medical Science, 58 (1): 81-83.

Maruyama S., Sakai T., Morita Y., Tanaka S., Kabeya H., Boonmar S., et al. (2001). Prevalence of *Bartonella species* an 16s rRNA gene types of *Bartonella henselae* from domestic cats in Thailand. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 65(6): 783-787.

Mediannikov O., Davoust B., Cabre O., Rolain J.M. and Raoult D. (2011). Bartonellae in animals and vectors in New Caledonia. Comparetive Immunology, Microbiology and Infectious Disease, 34(6): 497-501.

Mokhtar A.S. and Tay S.T. (2011). Molecular detection of Rickettsia felis, Bartonella henselae, and B. clarridgeiae in fleas from domestic dogs and cats in Malaysia. The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene, 85(5): 931-933.

Pacrez C., Maggi R.G., Diniz P.P. and Breitschwerdt E.B. (2011). Molecular and serological diagnosis of Bartonella infection in 61 dogs from the United States. Journal of Veterinary Internal Medicine, 25(4): 805-810.

Sander A., Buhler C., Pelz K., Cramm E.V. and Bredt W. (1997). Detection and identification of two *Bartonella henselae* variants in domestic

cats in Germany. Journal of Clinical Microbiology, 35 (3): 584-587.

Tabar M.D., Maggi R.G., Altet L., Vilafranca M., Francino O. and Roura X. (2011). Gammopathy in a Spanish dog infected with *Bartonella henselae*. The Journal of Small Animal Practice, 52 (4): 209-212.

Ueno H., Muramatus Y., Chomel B.B., Hohdattus T., Koyama H. and Morita C. (1995). Seroepidemiologic survey of *Bartonella henselae* in domestic cats in Japan. Journal of Microbiology Immunolology, 39 (5): 339-341.

Wear D.J., Margileth A.M., Hadfield T.L., Fischer G.W., Schlaged C.H. and King F.M. (1983). Cat scratch disease: a bacterial infection. Science, 221 (4618): 1403-1405.

A cross sectional study on *Bartonella henselae* infection in dogs in Ahvaz district by PCR

Oskouizadeh K.[1], Mosallanejad B.[2], Seyfiabad Shapouri M.R.[3] and Sanaie Kh.[4]

Received: 11.06.2012 Accepted: 24.02.2013

Abstract

Bartonella species are being recognized an increasingly important bacterial pathogens in veterinary and humane medicine. The objective of the present study was to determine the prevalence of *Bartonella henselae* in blood, saliva and nail of dogs in Ahvaz district, Southwest of Iran. It was studied the prevalence of *Bartonella henselae* infection in 100 domestic dogs living in Ahvaz. Blood, saliva and nail samples (300 samples) were collected from studied dogs for one year period. They were analyzed for the presence of *Bartonella henselae* by polymerase chain reaction (PCR) method. In this study, *Bartonella henselae* was not detected in blood, saliva and nail specimens of the studied dogs. DNA of *Bartonella henselae* was amplified by PCR, using two primers, Bart983as and Bart321s. This survey is the first study on the prevalence of *Bartonella henselae* infection in dog's populations from Iran. Absence of the infection in the studied dogs shows that they have not relatively role in transmission of infection. Nevertheless, it is proposed another study on a larger population of dogs.

Key words: *Bartonella henselae*, Cat-scratch disease, Dog, Iran

1- Assistant Professor, Department of Agriculture Sciences, University of Payame-noor (PNU), Tehran, Iran
2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
3- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran
4- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Iran