DOI: 10.22055/ivj.2025.500817.2760

بررسی مولکولی و هماتولوژیک آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* در بزهای بومی و نجدی اهواز

حسین حمیدی نجات[۱]، علی‌عباس نیکوند[۲*]، مریم عباس‌زاده[۳]، سیده میثاق جلالی[۲] و سمیه بهرامی[۱]

[۱] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] دانش آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی،دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۳/۱۷

چکیده

آناپلاسما جزء میکروارگانیسم‌های داخل سلولی اجباری است که گلبول‌های قرمز پستانداران به ویژه نشخوارکنندگان را آلوده می‌کند. نظر به نقش با اهمیت *آناپلاسما مارژیناله* در ایجاد آناپلاسموز در گاو، مطالعات متعددی در راستای ردیابی این پاتوژن در دیگر گونه‌های دامی انجام شده است، اما از وضعیت آلودگی و بیماریزایی آن در بز نجدی اطلاعی در دست نیست. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی مولکولی و هماتولوژی آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* در بزهای نژاد نجدی و بومی در شهرستان اهواز انجام شد. در این بررسی، از ۱۵۰رأس بز به ظاهر سالم (۷۶ رأس نجدی و ۷۴ رأس بومی) از ۶ گله در حومه شهر اهواز خون‌گیری انجام شد و آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* با روش‌های هماتولوژی و PCR بررسی شد. در گسترش میکروسکوپی خون، اجرام شبه آناپلاسمایی به ترتیب در ۲۲/۴ درصد و ۲۹/۷ درصد بزهای نجدی و بومی تشخیص داده شد. آزمایش PCR خون کامل نیز آلودگی را در ۲۷/۶ درصد بزهای نجدی و ۳۲/۸ درصد بزهای بومی آشکار کرد. بین مقادیر شاخص‌های هماتولوژی در دو گروه آلوده و غیرآلوده بر اساس هر دو روش تشخیصی، تفاوت آماری معنی‌داری وجود نداشت. در ۶ گله مورد مطالعه، پرورش و چرای همزمان بزهای نجدی با دیگر گونه‌های دامی مشاهده شد. با توجه به عدم تفاوت معنی‌دار شاخص‌های هماتولوژیک در بزهای آلوده و غیرآلوده، به نظر می‌رسد که بزهای مبتلا به عنوان مخزنی برای *آناپلاسما مارژیناله* مطرح باشند. آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* در بزهای مورد مطالعه ممکن است متأثر از پرورش همزمان گونه‌های مختلف دامی باشد.

کلمات کلیدی: *آناپلاسما مارژیناله*، بز نجدی، پرورش چندگونه‌ای، گسترش خونی، PCR

مقدمه

آناپلاسماها ارگانیسم‌های باکتریایی داخل سلولی اجباری هستند که توانسته‌اند سلامت انسان، دام‌های اهلی و حیوانات خانگی را تحت تأثیر قرار دهند (Cabezas-Cruz et al, 2019; Palora et al, 2005). گونه‌های این جنس شامل *آناپلاسما مارژیناله*، *آناپلاسما سنتراله*، *آناپلاسما اویس*، *آناپلاسما پلاتیس*، *آناپلاسما بویس* و *آناپلاسما فاگوسیتوفیلوم* در نشخوارکننده بیماری آناپلاسموز را ایجاد می‌کنند. گونه *اویس* عامل بیماری

* نویسنده مسئول: علی‌عباس نیکوند، استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: a.nikvand@acu.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/).

بالینی در گوسفند و بز، گونه *بویس و مارژیناله* عامل بیماری در گاو، گاومیش و نشخوارکنندگان وحشی می‌باشند (Constable et al, 2017). آلودگی و بیماری بالینی خفیف گاو به *آناپلاسما سنترالە* که ارتباط نزدیکی با *آناپلاسما مارژیناله* دارد، نیز در قاره آفریقا رخ می‌دهد (Kocan et al, 2010). آناپلاسموز از بیماری‌های مهم دام‌های اهلی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان است که اساساً توسط گزش کنه منتقل می‌شود؛ اگر چه انواع دیگری از انتقال از طریق نیش مگس‌ها، انتقال خون، پلاک‌کوبی گوش، اخته کردن و سرسوزن آلوده چند بار مصرف نیز گزارش شده است (Bekker et al, 2003; Uilenberge, 1997). مطالعه پراکنش کنه‌ها در استان خوزستان نشان داده است که گونه‌های *ریپی‌سفالوس* و *هیالوما* عمده ترین کنه-های سخت آلوده کننده دام‌ها هستند (Pazhoom et al, 2023). بیماریزایی آناپلاسماها بدین گونه است که پس از گزش کنه، باکتری از طریق آندوسیتوز به داخل گلبول‌های قرمز نفوذ کرده و در آن جا تکثیر می‌کند؛ سپس از طریق اگزوسیتوز خارج شده و دیگر گلبول‌های قرمز را درگیر می‌کند. گلبول‌های قرمز آلوده از طریق سیستم ریتکولواندوتلیال، به خصوص طحال حذف می‌شوند. این امر سبب ایجاد آنمی در دام بیمار می‌شود. دام‌های بیمار بهبود یافته عمدتاً ناقل بوده و گاهی تا آخر عمر مخزن باقی می‌مانند (Constable et al, 2017). شکل حاد بیماری با کاهش وزن، تب و رنگ پریدگی مخاط، زردی و کاهش تولید شیر مشخص می‌شود و گاهی با مرگ همراه می‌شود (Kocan et al, 2003). از بین گونه‌های شناخته شده آناپلاسما، نوع *مارژیناله* بیشترین بیماریزایی را داشته و مسبب ضررهای اقتصادی وسیعی در گاو و گاومیش در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است (Constable et al, 2017). آلودگی به این پاتوژن در دیگر گونه‌ها نیز دیده شده است. آلودگی تحت بالینی بز به *آناپلاسما مارژیناله* به روش تشخیص مولکولی PCR در برزیل گزارش شده است (da Silva et al, 2018). آلودگی همزمان گوسفندان به *آناپلاسما اویس* و *مارژیناله* در شهرستان اهواز به ثبت رسیده است (Jalali et al, 2013). ابتلای تحت بالینی گاومیش‌های رودخانه‌ای خوزستان به *آناپلاسما مارژیناله* و نقش احتمالی این میزبان به عنوان مخزن برای بیماری بالینی در گاو مطرح شده است (Nikvand et al, 2020). در این زمینه، گوسفند نیز به عنوان یک مخزن طبیعی برای *آناپلاسما مارژیناله* شناخته شده است (Yousefi et al, 2017). نظر به تفاوت‌هایی در پرورش بزهای نجدی در مقایسه با بزهای بومی از قبیل نگهداری در قالب گله‌های کوچک، پرورش خانگی آن‌ها و نیز پرورش سنتی محصور در کنار دیگر گونه‌های دامی در استان خوزستان، مطالعه حاضر با هدف بررسی آلودگی بزهای نژاد نجدی و بومی به *آناپلاسما مارژیناله* با روش‌های میکروسکوپی گسترش خونی و PCR انجام گرفت.

مواد و روش کار

بررسی حاضر در قالب یک مطالعه مقطعی بر روی ۷۶ رأس بز نژاد نجدی و ۷۴ رأس بز نژاد بومی از پنج منطقه جغرافیایی مرکز، شمال، جنوب، شرق و غرب شهر اهواز در سال ۱۴۰۱ که قبلا برای بررسی آلودگی به *آناپلاسما اویس* مورد مطالعه قرار گرفته بودند (Abbas Zadeh et al, 2024)، نجام گرفت. بزهای مورد مطالعه از ۶ گله بز به صورت تصادفی ساده از هر دو جنس انتخاب شدند. از ۷۶ رأس بز نژاد نجدی، ۸ رأس نر و ۶۸ رأس ماده و از ۷۴ رأس بز نژاد بومی، ۵۵ رأس ماده و ۱۹ رأس نر بودند. همه بزهای مورد بررسی در مطالعه حاضر، به ظاهر سالم و فاقد علائم بالینی بودند. میانگین سن بزهای نژاد نجدی ۱/۳±۲/۵ سال و میانگین سن بزهای نژاد بومی ۱/۱±۱/۸۲ سال تعیین گردید. پس از ثبت متغیرهای مستقلی مانند سن، جنس و پروش همزمان با گونه‌های دیگر، از هر رأس بز یک نمونه خون به میزان ۵ میلی‌لیتر از ورید وداج با سرنگ یکبار مصرف گرفته شد و پس از تقسیم در دو لوله حاوی ضد انعقاد (EDTA)، جهت انجام آزمایش‌های هماتولوژی و مولکولی به آزمایشگاه‌های کلینیکال پاتولوژی و انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز منتقل گردید.

آزمایش‌های هماتولوژی در همان روز نمونه‌گیری، حداکثر به فاصله ۲ ساعت پس از خونگیری انجام شدند. از هر نمونه خون حاوی EDTA دو گسترش نازک خونی تهیه شد. گسترش‌های خونی به مدت ۳۰ ثانیه با متانول تثبیت شده و پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا به مدت ۱۵ دقیقه، تعداد ۲۰ میدان میکروسکوپی از نظر وجود گنجیدگی‌های آناپلاسمایی با بزرگنمایی ۱۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش‌های هماتولوژی بر روی نمونه‌های خون شامل شمارش کلی و تفریقی گلبول‌های سفید (Differential Count)، غلظت هموگلوبین(Hb)، درصد هماتوکریت و شمارش گلبول‌های قرمز توسط دستگاه شمارشگر سلولی (BC2800, Mindray, China) انجام شد. شمارش تفریقی گلبول‌های سفید بر روی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا توسط میکروسکوپ نوری صورت گرفت.

از هر نمونه‌ی خون ارسالی به آزمایشگاه انگل‌شناسی، ۲ میلی‌لیتر خون جدا و جهت استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. استخراج DNA از نمونه‌های خون با استفاده از کیت استخراج DNA سیناکلون (ایران) مطابق دستورالعمل شرکت سازنده صورت پذیرفت. نمونه‌های DNA استخراج شده تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایش PCR توسط دستگاه ترموسایکلر مدل TC-96/G/H(b)C (China) انجام گرفت. برای این منظور، یک زوج پرایمر الیگونوکلئوتیدی بر اساس سکانس ژن msp4 *آناپلاسما مارژیناله* مشابه با روش Torina و همکاران (۲۰۰۸) مورد استفاده قرار گرفت. توالی زوج پرایمر در Table 1 مشاهده می‌شود.

Table 1: Primer sequences used for the multiplying of *A. marginale* in Najdi and native goats

Primer	Sequence
Forward (Ana F)	5/_CTGAAGGGGGAGTAATGGG_3/
Reverse (Ana R)	5/_GGTAATAGCTGCCAGAGATTCC_3/

واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر انجام گرفت؛ به گونه‌ای که هر واکنش حاوی مواد زیر بود. ۱۲/۵ میکرولیتر PCR Master Mix (SinaClon) حاوی ۲ میلی‌مول منیزیم کلراید، ۱/۵ میکرولیتر از هر پرایمر F و R، ۴ میکرولیتر از سوسپانسیون DNA استخراج شده به عنوان الگو در واکنش PCR و در آخر با آب مقطر دو بار تقطیر حجم هر واکنش به ۲۵ میکرولیتر رسید. اندازه محصول PCR مورد انتظار برای زوج پرایمر *آناپلاسما مارژیناله* حدود ۳۴۴ bp بود.

بررسی انتشار داده‌ها با استفاده از آزمون Kolmogorov-Smirnov نشان داد که داده‌های میزان هموگلوبین، هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز، تعداد گلبول‌های سفید و تعداد لنفوسیت‌ها از انتشار یکسانی برخوردار بودند. داده‌های تعداد نوتروفیل‌ها و ائوزینوفیل‌ها انتشار یکسانی نداشتند. برای بررسی تفاوت میانگین مقادیر شاخص‌های هماتولوژی مورد مطالعه با انتشار یکسان در دو گروه آلوده و غیرآلوده در هر دو نژاد از آزمون T مستقل استفاده شد. همچنین برای بررسی تفاوت میانگین مقادیر داده‌های هماتولوژی با انتشار غیریکسان در گروه‌های مذکور از آزمون U-Mann Whiteny استفاده شد. به منظور بررسی ارتباط بین نژاد و آلودگی از آزمون مربع کای (Chi-square) استفاده شد. آزمون‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS 21 انجام شد.

نتایج

نتایج گسترش میکروسکوپی خون

نظر به لخته شدن خون تعداد ۱۰ رأس از بزهای بومی و عدم امکان آنالیز فاکتورهای هماتولوژیک، از مطالعه حذف شدند. بنابراین از بین ۶۴ رأس بز بومی مورد بررسی، ۱۹ (۲۹/۷ درصد) رأس در گسترش میکروسکوپی آلوده به اجرام شبه آناپلاسمایی بودند. همچنین در گسترش میکروسکوپی خون ۷۶ رأس بز نژاد نجدی مورد مطالعه، تعداد ۱۷ رأس (۲۲/۴ درصد) واجد اجرام شبه آناپلاسمایی تشخیص داده شد (Figure 1). به طور کلی، از بین ۱۴۰ نمونه خون مورد بررسی از هر دو نژاد بومی و نجدی، تعداد ۳۶ مورد (۲۵/۷ درصد) آلوده به اجرام شبه آناپلاسمایی تشخیص داده شدند.

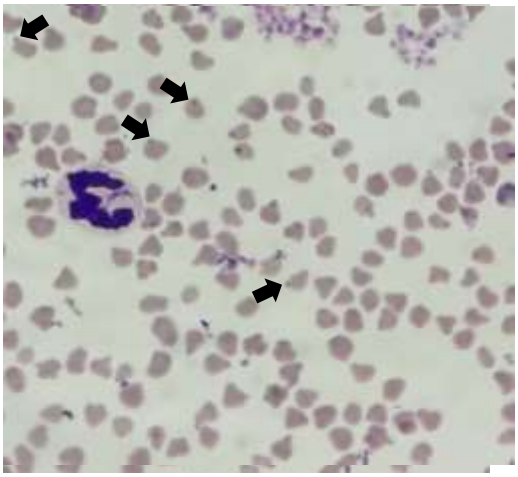

Figure 1: Najdi goat erythrocyte infected with *Anaplasma*-like inclusion bodies (arrows) in blood smear stained with Giemsa.

نتایج آزمایش PCR

به طور کلی از بین ۱۴۰ رأس بز بومی و نجدی مورد مطالعه، تعداد ۴۲ رأس (۳۰ درصد) در آزمایش PCR آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* را نشان دادند؛ به گونه‌ای که از ۷۶ رأس بز نژاد نجدی، تعداد ۲۱ رأس (۲۷/۶ درصد) و از ۶۴ رأس بز نژاد بومی، تعداد ۲۱ رأس (۳۲/۸ درصد) آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بودند. محصول PCR *آناپلاسما مارژیناله* به اندازه مورد انتظار با باند مشخص ۳۴۴ bp بود (Figure 2). بررسی‌های آماری با استفاده از آزمون مربع کای نشان داد که بین میزان آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* (بر اساس نتایج PCR) و نژاد ارتباط آماری معنی‌داری یافت نشد (P>۰/۰۵).

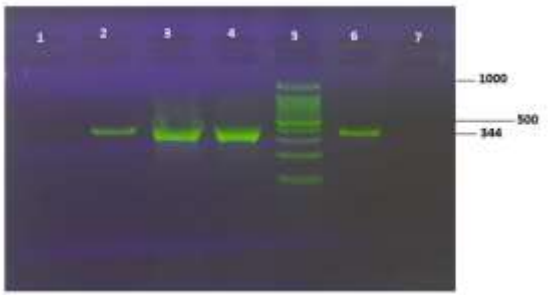

Figure 2: Agarose gel electrophoresis of the amplified product of a fragment of *Anaplasma* msp4 gene by PCR method using *A. marginale* specific primer. Column 1: negative sample; Columns 2 to 4: positive samples of *A. marginale*; Column 5: bp100 marker (Cinagen, Iran); Column 6: positive control sample; Column 7: negative control sample.

بررسی رابطه بین نتایج PCR خون با نتایج گسترش میکروسکوپی

از بین ۴۲ رأس بز از هر دو نژاد که در آزمایش PCR آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* تشخیص داده شدند، تعداد ۱۹ مورد در گسترش میکروسکوپی اجرام شبه آناپلاسمایی داشتند. همچنین از بین ۹۸ رأس که در آزمایش PCR منفی بودند در گسترش میکروسکوپی ۱۷ رأس اجسام شبه آناپلاسمایی مشاهده شد. بررسی‌های آماری با استفاده از آزمون مربع کای و Continuity correction ارتباط معنی-داری بین دو روش تشخیصی را نشان نداد (P>۰/۰۵).

میزان ضریب توافق کاپا (Kappa) برای دو روش PCR و گسترش میکروسکوپی نیز ۲۹/۱ درصد تعیین گردید که ضریب توافق ضعیفی را نشان می‌دهد.

مقایسه مقادیر شاخص‌های هماتولوژی بزهای سالم و آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بر اساس نتایج PCR

قابل توجه آن که از ۲۱ رأس بز نجدی تعداد ۸ رأس تنها به *آناپلاسما مارژیناله* و تعداد ۱۳ رأس همزمان به *آناپلاسما اویس* و *مارژیناله* آلوده بودند. نتایج آلودگی به *آناپلاسما اویس* در این نمونه‌ها قبلا توسط محققین حاضر گزارش شده است (Abbas Zadeh et al, 2024). بنابراین جهت حذف اثر مخدوشگر آلودگی به *آناپلاسما اویس* بر مقایسه داده‌های هماتولوژی، مقایسه داده‌های ۸ رأس بز نجدی که تنها به آناپلاسما *مارژیناله* آلوده بودند با ۲۰ رأس که در آزمایش PCR و نیز گسترش میکروسکوپی غیرآلوده تشخیص داده شدند، در Table 2 آمده است. بررسی‌های آماری با استفاده از آزمون T مستقل نشان داد که بین مقادیر هماتولوژی بزهای نجدی آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* با مقادیر هماتولوژیک بزهای نجدی غیرآلوده تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

از ۲۴ رأس بز بومی که به *آناپلاسما مارژیناله* آلوده بودند، تعداد ۹ رأس همزمان به *آناپلاسما اویس* آلوده بودند؛ نتایج مربوط به آلودگی به *آناپلاسما اویس* در یک مطالعه اخیر گزارش شده است (Abbas Zadeh et al,

2024). بنابراین به منظور حذف اثر مخدوشگر آلودگی به *آناپلاسما اویس*، مقایسه داده‌های هماتولوژی ۱۵ رأس بز بومی آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* با ۲۶ رأس که در آزمایش PCR و نیز گسترش میکروسکوپی غیر آلوده تشخیص داده شدند، در Table 3 آمده است. لازم به ذکر است که بررسی‌های آماری با استفاده از آزمون T مستقل نشان داد که بین مقادیر هماتولوژی بزهای بومی آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* با مقادیر هماتولوژیک بزهای بومی غیرآلوده تفاوت آماری معنی‌داری وجود ندارد (P>۰/۰۵).

Table 2: Comparison of mean values (± SD) of hematologic indices in non-infected and infected Najdi goats with *A. marginale* based on PCR results

Index	Hb (g/dl)	PCV (%)	RBC (10^6/µl)	WBC (10^3/µl)	Neutrophil (10^3/µl)	Lymphocyte (10^3/µl)	Eosinophil (10^3/µl)
Non-infected	7.9 ± 1.3	20.1 ± 1.3	14.9 ± 2.2	14.9 ± 5.3	4.6 ± 3.9	7.1 ± 5.0	0.2 ± 0.07
Infected	7/0 ± 1.1	18.5 ± 2.3	13.3 ± 2.4	16.6 ± 6.2	7.9 ± 4.6	8.6 ± 2.8	0.04 ± 0.04
P Value	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05

Table 3: Comparison of mean values (± SD) of hematologic indices in non-infected and infected native goats with *A. marginale* based on PCR results

Index	Hb (g/dl)	PCV (%)	RBC (10^6/µl)	WBC (10^3/µl)	Neutrophil (10^3/µl)	Lymphocyte (10^3/µl)	Eosinophil (10^3/µl)
Non-infected	8.8 ± 1.1	21.4 ± 2.6	16.1 ± 1.7	18.0 ± 5.1	5.8 ± 3.4	11.2 ± 3.8	0.31 ± 0.3
Infected	8.4 ± 0.8	20.3 ± 2.9	16.0 ± 1.2	15.7 ± 5.2	4.3 ± 2.6	10.8 ± 4.3	0.33 ± 0.3
P Value	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05	P>0.05

به طور کلی، اگر چه اختلاف آماری معنی‌داری بین میانگین داده‌های مربوط به شاخص‌های گلبول‌های قرمز دو گروه آلوده و غیرآلوده در هر دو نژاد یافت نشد، اما میانگین مقادیر مربوطه در گروه‌های آلوده پایین‌تر از گروه غیرآلوده بود.

در همه گله‌های مورد مطالعه پرورش همزمان بزهای نجدی و بومی با دیگر گونه‌های دامی از جمله اسب، گاو و گوسفند مشاهد شد.

بحث

آناپلاسما ماژیناله یک ارگانیسم داخل اریتروسیتی منتقله از کنه می‌باشد که میزبان‌های خاص خود را که اغلب نشخوارکنندگان هستند، آلوده می‌کند (Kocan et al, 2010). اگر چه *آناپلاسما مارژیناله* عامل اختصاصی بیماری بالینی آناپلاسموز در گاو شناخته شده است، مطالعات مختلف آلودگی دیگر گونه‌های دامی از جمله گاومیش، بز، گوسفند و شتر به آن را گزارش کرده‌اند (Elhaig et al, 2014; Da Silva et al, 2013; Yousefi et al, 2017). نظر به گزارش‌های موجود از ابتلای گونه‌های مختلف دامی به *آناپلاسما مارژیناله* و مطرح بودن نقش مخزنی آن‌ها برای ابتلای گاو از یک سو (Nikvand et al, 2020) و پرورش مرسوم همزمان این نژاد با دیگر گونه‌های دامی در استان خوزستان از سوی دیگر، بررسی مولکولی آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* در بزهای نژاد نجدی و بومی در شهرستان اهواز اهمیت می‌یابد.

نتایج مطالعه حاضر روی ۱۴۰ رأس بز نژاد نجدی و بومی با استفاده از روش PCR نشان داد که ۲۷/۶ درصد بزهای نژاد نجدی و ۳۲/۸ درصد بزهای نژاد بومی آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بودند. به طور کلی، از بین ۱۴۰ رأس بز نژاد بومی و نجدی، ۳۰ درصد آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بودند.

در مطالعه‌ای مشابه‌ای که توسط Jalali و همکاران (۲۰۱۶) با بهره‌گیری از آزمایش PCR-RFLP روی ۱۰۴ نمونه خون بز در منطقه اهواز صورت گرفت، ۶۵/۴ درصد

آلودگی به *آناپلاسما اویس* گزارش شده است، درحالی که آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* بررسی نشده است. در Botswana آفریقای جنوبی در بررسی که به منظور آناپلاسموز با استفاده از روش PCR روی ۱۰۰ رأس بز از ۱۰ گله در مناطق روستایی انجام شد، در حالی که ۷۶ درصد آلوده به *آناپلاسما اویس* بودند، هیچ یک آلوده به *مارژیناله* نبودند (Berthelsson et al, 2020). یک مطالعه اخیر که در برزیل انجام شد، میزان آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* با روش مولکولی PCR در ۴۰۳ رأس بز را ۲/۷ درصد گزارش کردند (da Silva et al, 2018). همچنین Yousefi و همکاران (۲۰۱۷) نشان دادند در حالی که ۳۴/۷ درصد از ۱۶۴ رأس بز مراتع مرتفع استان همدان آلوده به *آناپلاسما اویس* بودند، هیچ یک آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* نبودند (Yousefi et al, 2017). نتایج میزان آلودگی به *آناپلاسما مارژیناله* در بز در تحقیقات ذکر شده (۰ درصد، ۲/۷ درصد، ۰ درصد)، نه تنها با نتیجه مطالعه حاضر، بلکه با همدیگر متفاوت بودند؛ این مسأله ممکن است به فاکتورهایی از جمله تفاوت آب و هوایی (کوهستانی مرتفع در مقابل نیمه گرمسیری) اختلاف در حجم نمونه‌ها (۱۰۴، ۴۰۳، ۱۰۰ و ۱۶۴رأس در مقابل ۱۵۰ رأس در مطالعه حاضر)، تفاوت احتمالی در اقدامات کنترلی انگل‌های خارجی (Rahman et al, 2022) و تفاوت در پرورش و چرای همزمان با دیگر گونه‌ها از جمله گاو (da Silva et al, 2018) منتسب باشد. در خصوص اهمیت پرورش همزمان چندگونه‌ای، da Silva و همکاران در سال ۲۰۱۸ نشان داده‌اند که از ۳۰۴ رأس بزی که چرای همزمان با گاو و گوسفند داشته‌اند، ۱۱ رأس آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بودند در حالی که از ۹۹ رأس که تنها نگهداری می‌شدند، هیچ یک آلوده نبودند. چند مطالعه اخیر نیز به اهمیت چرای چندگونه‌ای در تسهیل انتقال *آناپلاسما مارژیناله* بین گاو و گاومیش (Sliva et al, 2014) و گاو و بز (Barbosa et al, 2021) تأکید داشته‌اند. بر اساس تجربه نویسندگان، در استان خوزستان، نگهداری و چرای گونه‌های مختلف دامی با همدیگر، به تکرار، توسط محققین این مطالعه مشاهده شده است؛ این مسأله می‌تواند تسهیل‌گر انتقال بین‌گونه‌ای پاتوژن‌های مختلف باشد. این ویژگی به طور خاص، در مورد نگهداری همزمان بزهای نژاد نجدی در گله‌های کوچک خانگی با دیگر گونه‌های دامی در این مطالعه به روشنی مشاهده شد.

نظر به نقش با اهمیت *آناپلاسما مارژیناله* در ایجاد بیماری آناپلاسموز در گاو، مطالعات متعددی در راستای جست‌وجوی این پاتوژن در دیگر گونه‌های دامی و شناسایی مخازن طبیعی آن انجام شده است (Nikvand et al, 2020; da Silva et al, 2013; Jalali et al, 2013; Debeila, 2012). در این راستا، دیگر محققین آلودگی شتر به این عامل بیماریزا را نیز گزارش کرده‌اند (Mahmoud et al, 2023; Omer et al, 2022). در این زمینه، Yousefi و همکاران نیز به نقش گوسفند به عنوان مخزن طبیعی برای *آناپلاسما مارژیناله* اشاره داشته‌اند (Yousefi et al, 2017). بر اساس مطالعه حاضر، بزهای نژاد نجدی همانند بزهای بومی می‌توان به عنوان حاملی طبیعی برای بقای *آناپلاسما مارژیناله* و احتمال انتقال آن به گاو مورد توجه قرار گیرد. بنابراین، در خصوص ارتباط بین گونه *آناپلاسما مارژیناله* در بزهای منطقه (اهواز) با گونه آلوده کننده و بیماریزای آن در گاوهای منطقه انجام مطالعات مولکولی مربوطه، ضروری به نظر می‌رسد.

در خصوص ارتباط نتایج گسترش میکروسکوپی و نتایج PCR، ضریب توافق کاپای ضعیفی (۲۹/۱ درصد) مشاهده شد؛ ضریب توافق‌های تقریبا مشابه و ضعیفی بین نتایج دو روش میکروسکوپی گسترش خونی و PCR در تشخیص آناپلاسموز روی گاومیش‌ها و گاوهای ناقل به ترتیب توسط Nikvand و همکاران در سال ۲۰۲۰ (۲۲ درصد) و Noamam و Shayan در سال ۲۰۱۰ (۲۹ درصد) گزارش شده است. دو دلیل احتمالی می‌تواند برای توافق ضعیف نتایج PCR و گسترش خونی برشمرد؛ اول آن که عفونت همزمان با دیگر آناپلاسماها از جمله *اویس* یک یافته رایج در بز است که به دنبال آلودگی دام به گونه‌های مختلف کنه با توانایی بالا در حمل پاتوژن‌های متعدد رخ می‌دهد (Renneker et al, 2013). دوم چون که عفونت به

آناپلاسما مارژیناله در بز اغلب تحت بالینی است، بنابراین انتظار می‌رود که میزان پارازایتمی به مقداری کم‌تر از حد قابل تشخیص (در حدود 10^6 اریتروسیت آلوده در هر میلی‌لیتر) توسط بررسی میکروسکوپی کاهش یابد (Singh et al, 2012).

مقایسه میانگین مقادیر هموگلوبین، هماتوکریت و تعداد گلبول‌های قرمز در بزهای نجدی و بومی آلوده و غیرآلوده به *آناپلاسما مارژیناله* بر اساس روش PCR خون، تفاوت آماری معنی‌داری را نشان نداد. با این وجود، میانگین مقادیر مربوطه در گروه‌های آلوده پایین‌تر از گروه غیرآلوده بود. به هر حال شاخص‌های تعداد گلبول‌های قرمز و مقدار هموگلوبین در بزهای آلوده و غیرآلوده بومی و نیز تعداد گلبول‌های قرمز در بزهای نجدی آلوده و غیرآلوده در مقایسه با مقادیر طبیعی (Constable et al, 2017) در محدوده طبیعی قرار داشت. با توجه به این که همه بزهای مورد بررسی در مطالعه حاضر، به ظاهر سالم و فاقد علائم بالینی بودند؛ بنابراین، آلودگی‌های مشخص شده در این بررسی به نظر می‌رسد که مربوط به یک عفونت پایدار و مزمن باشد. در تصدیق نتایج حاضر، Tavares-Marques و همکاران در سال ۲۰۱۰ در ونزوئلا بیان داشتند که بزهای آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* فاقد آنمی، تب و دیگر نشانه‌های بالینی آناپلاسموز بودند (Tavares-Marques et al, 2010). به هر حال، با توجه به سلامت بالینی و عدم تفاوت معنی‌دار شاخص‌های هماتولوژی بزهای آلوده و غیرآلوده، به نظر می‌رسد که *آناپلاسما مارژیناله* برای بزهای نجدی و بومی بیماریزایی نداشته باشد.

به طور کلی نتایج این مطالعه نشان داد که وجود آلودگی قابل توجه بزهای نژاد نجدی و بومی در این منطقه به *آناپلاسما مارژیناله* ممکن است متأثر از پرورش همزمان گونه‌های مختلف دامی بوده و نقش اپیدمیولوژیک بز برای *آناپلاسما مارژیناله* و آناپلاسموز در گاو را مطرح می‌کند. این استنباط به وسیله عدم تفاوت معنی‌داری که بین مقادیر هماتولوژی دام‌های سالم و آلوده به *آناپلاسما مارژیناله* مشاهده شد نیز حمایت می‌شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از حمایت مالی معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه شهید چمران اهواز تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

بدین‌وسیله نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

تمامی منابع مالی این تحقیق در قالب پژوهانه (SCU.VC1401.30378) اساتید راهنما و مشاور تأمین شده است.

منابع

Abbas Zadeh, M., Hamidinejat, H., Nikvand, A.A., Jalali, S.M. & Bahrami, S., 2024. Molecular and haematological investigations on Anaplasma ovis infection in goats in Ahvaz, Iran: Insights into infection rate, haemolytic effect and breed influences. *Veterinary Medicine and Science, 10*(2), e1404.

Barbosa, I. C., Andre, M. R., do Amaral, R. B., Valente, J. D., Vasconcelos, P. C., Oliveira, C. J., Jusi, M. M. G., Machado, R. Z., Vieira, T.S., Ueti, M. W. & Vieira, R. F. (2021). Anaplasma marginale in goats from a multispecies grazing system in northeastern Brazil. *Ticks and tick-borne diseases*, 12(1), 101592.

Bekker, C.P., De Vos, S., Taoufik, A., Sparagano, O. A. & Jongejan, F. (2002). Simultaneous detection of Anaplasma and Ehrlichia species in ruminants and detection of Ehrlichiaruminantiumin Amblyommavariegatum ticks by reverse line blot hybridization. *Veterinary Microbiology*, 89, 223-238.

Berthelsson, J., Ramabu, S. S., Lysholma, S., Aspan, A. & Wensman, J. J. (2020). *Anaplasma ovis* infection in goat flocks around Gaborone, Botswana. *Comparative Clinical Pathology*, 29, 167-172.

Cabezas-Cruz, A., Gallois, M., Fontugne, M., Allain, E., Denoual, M., Moutailler, S., Devillers, E., Zientara, S., Memmi, M., Chauvin, A., Agoulon, A., Vayssier-taussat, M. & Chartier, C. (2019). Epidemiology and genetic diversity of *Anaplasma ovis* in goats in Corsica, France. *Parasites and Vectors*, 12(3), 1-11.

Constable, P. D., Hinchcliff, K.W., Done, S. H., & Grunberg, W. (2017). A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs, and goats. 11th ed. New York: Saunders Ltd., Pp: 2217–2218.

da Silva, A. S., Lopes, L. S., Diaz, J. D. S., Tonin, A. A., Stefani, L. M. & Araujo, D. N. (2013). Lice outbreak in buffaloes: evidence of *Anaplasma marginale* transmission by sucking lice *Haematopinus tuberculatus*. *The Journal of parasitology*, 99, 546–547.

da Siva, N. B., Taus, N. S., Johnson, W. C., Mira, A., Schnittger, L., Valente, J. D. M., Vidotto, O., Masterson, H. E., Vieira, T. S. W. J., Ueti, M. W. & Vieira, R. F. C. (2018). First report of *Anaplasma marginale* infection in goats, Brazil. *PLOS One*, 18(3), e0202140.

Debeila, E. M. (2012). Occurrence of Anaplasma and Ehrlichia species in African buffalo (Syncerus caffer) in Kruger National Park and Hluhluwe-iMfolozi Park in South Africa. Submitted in partial fulfillment of the requirements of the Master of Science degree in the Department of Veterinary Tropical Diseases, Faculty of Veterinary Science, University of Pretoria.

Elhaig, M. M., AlFaleh F. A. & Wahdan A. (2014). Molecular epidemiology and associated risk factors of Anaplasma marginale in camels and possible co-infections. *Microbial Pathogenesis*, 193, 106753.

Jalali, S.M., Khaki, Z., Kazemi, B., Bandehpour, M., Rahbari, S., Razi Jalali, M. & Yasini, S. P. (2013). Molecular detection and identification of Anaplasma species in sheep from Ahvaz, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Research*, 14, 50-56.

Jalali, S. M., Bahrami, S., Rasooli, A. & Hasanvand, S. (2016). Evaluation of oxidant/antioxidant status, trace mineral levels, and erythrocyte osmotic fragility in goats naturally infected with *Anaplasma ovis*. *Tropical Animal Health and Production*, *48*(6), 1175-1181.

Kocan, K. M., de la Fuente, J., Guglielmone, A. A. & Melendez, R. D. (2003). Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews*, 16(4), 698-712.

Kocan, K. M., de la Fuente, j., Blouin, E. F., Coetzee, J. F. & Ewing, S. A. (2010). The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary parasitology*, 167, 95–107

Li, H., Zheng, Y. C., Ma, L., Jia, N., Jiang, B. G., Jiang, R. R., Huo, Q. B., Wang, Y. W., Liu, H. B., Chu, Y. L. & Song, Y. D., 2015. Human infection with a novel tick-borne Anaplasma species in China: a surveillance study. *The Lancet Infectious Diseases*, 15(6), 663-670.

Mahmoud H. Y., Ali A. O. & Tanaka T. (2023). Molecular detection and characterization of *Anaplasma marginale* infecting cattle, buffalo, and camel populations in southern Egypt. *Frontiers in Veterinary Science*, 10, 1169323.

Nikvand, A. A., Besati, E. H., Gharibi, D. & Jalali, S. M. (2020). Molecular and hematologic survey on Anaplasma marginale infection in slaughtered water buffaloes (Bubalus bubalis) in ahvaz city, Iran. *Journal of Veterinary Research*, 75(2), 192-199.

Noaman, V. & 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.

Omer, E., Elfehid, M., Alwazan, A., Alouffi, A. S., Alshammari, F. A., Eldesoukey, I. & Sultan, K. (2022). Molecular detection of *Anaplasma marginale* in Arabian camels (Camelus dromedarius) in Riyadh, Saudi Arabia. *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 21(2), 73-76.

Parola, P., Davoust, B. & Raoult, D. (2005). Tick- and flea-borne rickettsial emerging zoonoses. *Veterinary Research*, 36, 469-492.

Pazhoom, F., Hamidinejat, H., Haji Hajikolaei, M.R. & Jolodar, A. (2023). Distribution of hard ticks and electron microscopy study of Rhipicephalus species in Khuzestan and Mazandaran provinces. *Iranian Veterinary Journal*, *19*(2), 21-31.

Rahman, M., Faruque, M. R., Rahman, M. M. & Chowdhury, M. Y. E. (2022). Epidemiology and molecular detection of *Anaplasma spp.* in goats from Chattogram district, Bangladesh. *Veterinary Medicine and Science*, 8(3), 1240-1249.

Renneker, S., Abdo, J., Salih, D. E. A., Karagenç, T., Bilgiç, H., Torina, A., Oliva, A. G., Campos, J., Kullmann, B., Ahmed, J. & Seitzer, U. (2013). Can *Anaplasma ovis* in small ruminants be neglected any longer? *Transboundary and Emerging Diseases*, 60, 105–112.

Silva, J. B., Cabezas-Cruz, A., Fonseca, A. H., Barbosa, J. D. & de la Fuente, J. (2014).

Infection of water buffalo in Rio de Janeiro Brazil with *Anaplasma marginale* strains also reported in cattle. *Veterinary Parasitology*, 205, 730-734.

Singh, H., Jyoti-Haque, M., Singh, N. K. & Rath, S. S. (2012). Molecular detection of *Anaplasma marginale* infection in carrier cattle. *Ticks and Tick-borne Diseases*, 3, 55-58.

Tavares-Marques, L. M., Núñez, C., Rey-Valeirón, C. & Reyna-Bello, A. (2010). Serological evidence of Anaplasma spp. in small ruminants from Venezuela using recombinant MSP5 in immunoenzymatic assay. *Revista Científica*, 20(5), 506-511.

Torina, A., Alongi, A., Naranjo, V., Scimeca, S., Nicosia, S., Di Marco, V., Caracappa, S., Kocan, K. M. & de la Fuente, J. (2008). Characterization of Anaplasma infections in Sicily, Italy. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1149(1), 90-93.

Uilenberge, G. (1997). General review of tick-borne diseases of sheep and goats worldwide. *Parasitologia*, 39, 161-165.

Yousefi, A., Rahbari, S., Shayan, P., Sadeghi-Dehkordi, Z. & Bahonar, A. (2017). Molecular detection of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* in sheep and goat in west highland pasture of Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 7(5), 455-459.

Received: 19.01.2025
Accepted: 07.06.2025

Vol. 21, No. 2, Summer, 2025 **Short Paper**
DOI: 10.22055/ivj.2025.500817.2760

Molecular and hematological investigation on *Anaplasma marginale* infection in Najdi and native goats in Ahvaz

Hossein Hamidinejat[1], Ali Abbas Nikvand[2*], Maryam Abbas Zadeh[3], Seyedeh Missagh Jalali[2] and Somayeh Bahrami[1]

[1] Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] MscGraduated from Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 19.01.2025 Accepted: 07.06.2025

Abstract

Anaplasma is one of the obligate intracellular microorganisms that infect erythrocyte of mammals, especially ruminants. Considering the important role of *Anaplasma marginale* (*A. marginale*) for anaplasmosis in cattle, several studies have shown infection with this pathogen in other livestock species, but there is no information about its infection status and pathogenicity in Najdi goats. Therefore, the present study aimed to investigate the molecular and hematological factors of *A. marginale* infection in Najdi and native goats in Ahvaz city. To do it, blood samples were collected from 150 apparently healthy (76 Najdi and 74 native) goats from 6 herds in suburb of Ahvaz city, and infection with *A. marginale* was investigated by hematological and PCR methods. In the blood smear microscopy examination anaplasma-like intra-erythrocyte inclusion bodies were diagnosed in 22.4% and 29.7% of Najdi and native goats, respectively. The whole blood PCR also revealed *A. marginale* infection in 27.6% and 32.4% of Najdi and native goats, respectively. There was no statistically significant difference between the values of hematological indices in the infected and non-infected goats. Multispecies husbandry and grazing were observed in all studied goat herds. Considering the lack of significant difference in the hematological parameters in the infected and non-infected goats, it seems that infected goats are important as a reservoir for *A. marginale*. The infection with *A. marginale* in the studied goats may be affected by the simultaneous rearing of different livestock species.

Key words: *A. marginale*, Najdi goat, Multispecies husbandry, PCR, Smear microscopy

[*] **Corresponding Author**: Ali Abbas Nikvand, Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: a.nikvand@acu.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/).