

## مقایسه روش‌های متداول در تشخیص تک‌یاخته‌های خونی نشخوارکنندگان منطقه سیستان، ایران

رضا نبوی\*

دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان، ایران.

دریافت مقاله: ۵ دی ۱۴۰۱، بازنگری: ۱۶ دی ۱۴۰۱، پذیرش نهایی: ۱۸ دی ۱۴۰۱

### چکیده

تیلریوزیز و آناپلاسموزیز در جمعیت نشخوارکنندگان بومی منطقه سیستان بسیار شایع می‌باشند. بابزیوزیز گاوان اگرچه با شیوعی بسیار کمتر ولی در منطقه قابل رؤیت است. همچنین بیماری سورا با عاملیت *تریپانازوما اونسی* جمعیت قابل توجهی از شترهای منطقه را رنج می‌دهد. مطالعه حاضر با هدف بررسی و مقایسه روش‌های متداول در تشخیص این اجرام عفونی با تکیه بر روش‌های بالینی، رنگ‌آمیزی گیمسا و تکنیک‌های مولکولی طراحی و در طول یک بازه زمانی ۵ ساله (۱۳۹۷-۱۳۹۲) انجام پذیرفته است. نمونه خون تعداد ۶۳۶ راس گاو، ۸۰ راس گوسفند و ۲۱۳ نفر شتر با هدف ردیابی اجرام عفونی ذکر شده با استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا و همچنین انواع تکنیک‌های مولکولی مورد بررسی قرار گرفتند. همچنین تشخیص درمانگاهی این بیماری‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاضر نشانگر این است که روش‌های تشخیصی مولکولی به‌طور معناداری از حساسیت و ویژگی بیشتری نسبت به سایر روش‌ها بهره‌مند هستند ولی این موضوع بیانگر ارجحیت آنها در تشخیص نیست بلکه هر کدام از روش‌های تشخیصی مطالعه شده دارای مزایا و معایب خاص خود هستند که کاربرد هر روش بر اساس نوع انگل، نوع میزبان و شرایط حاکم بر منطقه سیستان به‌طور مفصل مورد بحث قرار گرفته است.

واژه‌های کلیدی: تیلریا، بابزیا، آناپلازما، گیمسا، مولکولی

## مقدمه

منطقه سیستان یکی از مناطق مهم در پرورش و نگهداری نشخوارکنندگان اهلی در شرق فلات ایران می‌باشد. جمعیت قابل توجهی از گاوهای نژادهای هلشتاین و سیستانی، شتر تک‌کوهانه و نژادهای مختلف گوسفند و بز به‌صورت سنتی در بافت روستایی این منطقه در حال پرورش هستند. اقلیم سیستان گرم و خشک به همراه بادهای ۱۲۰ روزه در انتهای فصل بهار و تابستان می‌باشد. آب و هوای گرم همراه با پرورش سنتی نشخوارکنندگان در منطقه باعث گردیده که انواع کنه‌های ناقل تک‌یاخته‌های خونی از جمله کنه‌های سخت هیالوما، ریپی سفالوس، هموفیزالیس و درماسنتور با شیوع بالایی میزبانان مهره‌دار خود را مورد هجوم قرار دهند (۱). با آغاز ماه اسفند تا انتهای تابستان تیلریوزیز بالینی گاو (تیلریا آنولاتا) و گوسفندان (تیلریا لستوکوردی) در منطقه جولان می‌دهد. به‌طوری که می‌توان این بیماری را شایع‌ترین بیماری عفونی این دام‌ها در ماه‌های ذکرشده محسوب نمود (۲، ۳). در طول سال‌های حضور خود در منطقه سیستان متوجه گردیدم که آنپلاسموزیز ناشی از آنپلازما مارژیناله از شکل بدون علامت تا آنپلاسموزیز بسیار حاد و شدید در جمعیت نشخوارکنندگان منطقه دیده می‌شود (۴). همچنین موارد نادر و با شیوع اندک تب تگزاس گاو ناشی از *بابزیا بایجمینا* (در حال انتشار) نیز مشاهده شده است. از قدیم‌الایام بیماری سورا با عاملیت *تریپانازوما اوانسی* را به‌عنوان یکی از بیماری‌های مهم شتر در جنوب شرق ایران معرفی می‌کردند (۵). در کنار این موارد حضور احتمالی گونه‌های کم‌اهمیت‌تر اجرام ذکرشده را نیز می‌توان در نظر گرفت. از آنجایی که جمعیت روستایی منطقه سیستان از شرایط اقتصادی نسبتاً ضعیفی برخوردار هستند و درمان اصولی و به موقع بیماری‌های دامی

کمک شایانی به کاهش هزینه‌های مصرفی این افراد خواهد کرد، لذا تشخیص دقیق و صحیح بیماری‌های ذکرشده بسیار حایز اهمیت است. باید به این نکته توجه نمود که درمان بیماری‌های مورد بحث در این مقاله متفاوت بوده و هزینه قابل توجهی را به دامدار تحمیل می‌کند و همین موضوع اهمیت آزمایشگاه را در تشخیص دقیق این بیماری‌ها دو چندان می‌کند. مطالعه حاضر با هدف مقایسه و تحلیل روش‌های متداول در تشخیص اجرام عفونی ذکرشده با تکیه بر روش‌های بالینی، رنگ‌آمیزی گیمسا و تکنیک‌های مولکولی، در طول یک بازه زمانی ۵ ساله (۱۳۹۷-۱۳۹۲) انجام شده است.

## مواد و روش‌ها

**تیلریوزیز گرمسیری:** در سال ۱۳۹۲، تعداد ۱۶۰ نمونه خون وریدی از گاوهای بدون علامت بالینی جهت شناسایی حاملین بدون علامت *تیلریا آنولاتا*، اخذ شد. تمامی نمونه‌ها پس از رنگ‌آمیزی گیمسا و بررسی میکروسکوپی با استفاده از روش PCR معمولی و با استفاده از پرایمرهای اختصاصی N516، N517 مورد ارزیابی قرار گرفتند (۶).

**تیلریوزیز و بابزیوزیز گوسفندی:** در سال ۱۳۹۳، به جهت ارزیابی میزان شیوع تک‌یاخته‌های خونی جنس *تیلریا* و *بابزیا* در گوسفندان منطقه سیستان تعداد ۸۰ نمونه خون وریدی مورد آزمایش قرار گرفت. تمامی نمونه‌ها با رنگ‌آمیزی گیمسا و ارزیابی مولکولی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیرکننده قطعه 18S rRNA مورد بررسی قرار گرفتند (۷).

**سورا:** در سال ۱۳۹۴، مطالعه مولکولی به جهت برآورد میزان شیوع *تریپانازوما اوانسی* در شترهای شهرستان زابل انجام شد. تعداد ۱۱۵ نمونه با استفاده از آزمون PCR و روش مشاهده میکروسکوپی مورد بررسی قرار گرفتند (۸).

آماری  $P < 0.001$  معنادار است.

نتایج مولکولی مطالعه بعدی در سال ۱۳۹۳ بیانگر شیوع آلودگی گوسفندان منطقه سیستان با تیلریا در ۶۶/۲۵ درصد موارد و بازیرا در ۳/۷۵ درصد موارد بود. مطالعه میکروسکوپی نمونه‌های بررسی شده تنها در ۱۰ درصد موارد آلودگی با این اجرام خونی را تأیید کرد. لازم به ذکر است تشخیص میکروسکوپی *بازیرا* / *اویس* به‌عنوان بازیرای کوچک گوسفند از *تیلریا* / *لستوکوردی* بسیار مشکل بوده و در بسیاری موارد مقدر نیست. نتایج این مطالعه بیانگر اختلاف زیاد حساسیت روش تشخیص مولکولی و میکروسکوپی در تشخیص تیلریا و بازیرای گوسفند است  $P < 0.001$ .

نتایج مطالعه سال ۱۳۹۴ در خصوص اپیدمیولوژی سورا نشان داد که از تعداد ۱۱۵ نمونه خون شتر آزمایش شده با روش PCR، ۶/۱۹ درصد آنها آلوده به *تریپانازوما* / *اوانسی* بودند. مشاهده میکروسکوپی با رنگ‌آمیزی گیمسا قادر به تشخیص هیچ‌گونه آلودگی در این نمونه‌ها نبود.

مطالعه سال ۱۳۹۵، به دنبال یافتن بازیرا باجمینا عامل ایجادکننده بیماری تب تگزاس گاو و طراحی و انجام شد. با اینکه تعداد قابل توجهی نمونه خون از گاوهای مراجعه‌کننده به کلینیک‌های منطقه اخذ شد (۲۴۶ عدد)، بررسی میکروسکوپی نتوانست حضور این آلودگی را نشان دهد. اگرچه در سال‌های بعد در یک مطالعه موردی توانستیم حضور این انگل را در منطقه اثبات نماییم. نتایج این مطالعه نشان داد که نحوه مواجهه و ارزیابی بازیوز گاو با تیلریوز و آناپلاسموز در منطقه سیستان بسیار متفاوت است.

مطالعه انجام شده در سال ۱۳۹۷، حاکی از این بود که از تعداد ۱۰۰ نفر شتر آزمایش شده در مطالعه میکروسکوپی ۲۶ درصد موارد شواهدی دال بر آلودگی با آناپلازما را داشتند. در حالی که

تب تگزاس گاو: در سال ۱۳۹۵، از تعداد ۲۴۶ راس گاو مراجعه‌کننده به کلینیک‌های منطقه سیستان به‌صورت تصادفی گسترش خون تهیه شد. هدف از انجام این مطالعه بررسی میکروسکوپی این نمونه‌ها به جهت یافتن تک‌یاخته بازیرا بوده است (۹).

**آناپلاسموز در شتر:** در سال ۱۳۹۷، تعداد ۱۰۰ نفر شتر تک‌کوهانه در شهرستان‌های زابل و زاهدان به‌صورت تصادفی انتخاب شدند. از این حیوانات نمونه خون محیطی جهت بررسی میکروسکوپی (با استفاده از گیمسا) و همچنین نمونه خون وریدی جهت ارزیابی مولکولی گونه‌های مختلف آناپلازما با استفاده از روش Nested PCR اخذ شد (۱۰).

**آناپلاسموز در گاو:** در سال ۱۳۹۷، مطالعه‌ای جامع به جهت شناسایی گونه‌های آناپلازما در جمعیت گاوهای منطقه سیستان انجام شد. در این مطالعه تعداد ۸۰ نمونه خون از گاوهای دارای علایم بالینی و ۱۵۰ نمونه از موارد بدون علامت اخذ شد. بررسی میکروسکوپی (رنگ‌آمیزی گیمسا) و ارزیابی گسترده مولکولی با استفاده از پرایمرهای اختصاصی متنوع در راستای تعیین گونه‌های آناپلازما در منطقه انجام پذیرفت (۴).

حدود اطمینان ۹۵ درصد برای شیوع آلودگی در تحقیقات مختلف از روش توزیع دو جمله‌ای محاسبه شد.

## نتایج

نتایج مولکولی مطالعه سال ۱۳۹۲ نشان داد که میزان شیوع تیلریا / *آنولاتا* در گاوهای بدون علامت منطقه سیستان ۲۷/۵ درصد (نژاد سیستانی) و ۴۷/۵ درصد (نژاد هلشتاین) می‌باشد. در حالی که ارزیابی میکروسکوپی آلودگی به این انگل را تنها در ۶/۲۵ درصد موارد نشان داد. این تفاوت از نظر

آزمون Nested PCR انجام شده آلودگی با *آنپلازما* کملی و *آنپلازما پلاتیس* را در ۳۹ درصد موارد اثبات نمود. نتایج این مطالعه نشان داد که تشخیص گونه *آنپلازما* در این حیوانات با روش میکروسکوپی بسیار مشکل بوده و استفاده از روش‌های مولکولی بسیار کارآمدتر است.

مطالعه شماره ۶ در سال ۱۳۹۷ با هدف ارزیابی جامع آلودگی با *آنپلازما* در جمعیت گاوهای منطقه سیستان انجام شد. بررسی میکروسکوپی میزان شیوع *آنپلازما مارجیناله* را در این جمعیت

۳۲/۶ درصد برآورد نمود. در حالی که روش Nested PCR، *آنپلازما مارجیناله* را در ۷۲/۱۷ درصد موارد و *آنپلازما پلاتیس* را در ۶۶/۵۲ درصد موارد رهگیری کرد. نتایج این مطالعه بیانگر این موضوع بود که *آنپلازما* در اغلب موارد همراه با تظاهرات بالینی نیست. به طوری که در تعداد ۸۰ رأس گاو دارای علائم درمانگاهی ۳۱/۲۵ درصد آلوده به *آنپلازما مارجیناله* بودند در حالی که میزان آلودگی در ۱۵۰ رأس گاو بدون علائم بالینی ۹۴ درصد بود.

جدول ۱- مقایسه نتایج به دست آمده در مطالعات میکروسکوپی و مولکولی در نشخوارکنندگان منطقه سیستان در طول سال‌های ۹۷-۱۳۹۲

شماره مطالعه	سال انجام مطالعه	انگل خونی مورد بررسی	تعداد و نوع حیوان مورد بررسی	آلودگی در روش میکروسکوپی		آلودگی در روش مولکولی	
				تعداد (درصد)	حدود اطمینان ۹۵٪	تعداد (درصد)	حدود اطمینان ۹۵٪
۱	۱۳۹۲	تیلریا آنولانا	۱۶۰ رأس گاو	۱۰ (۶/۲۵)	۳٪ - ۱۱/۲٪	۶۰ (۳۷/۵)	۳۰٪ - ۴۵/۵٪
۲	۱۳۹۳	تیلریا ویاویزا	۸۰ رأس گوسفند و بز	۸ (۱۰)	۴/۴٪ - ۱۸/۸٪	۵۶ (۷۰)	۵۸/۷٪ - ۷۹/۷٪
۳	۱۳۹۴	تریپانازوما اوانسی	۱۱۵ رأس شتر	۰ (۰)	۰٪ - ۳/۳٪	۷ (۶/۳)	۲/۵٪ - ۱۲/۱٪
۴	۱۳۹۵	بابزیا باجمینا	۲۴۶ رأس گاو	۰ (۰)	۰٪ - ۱/۵٪	*	*
۵	۱۳۹۷	آنپلازما	۱۰۰ رأس شتر	۲۶ (۲۶)	۱۷/۷٪ - ۳۵/۷٪	۳۹ (۳۹)	۲۹/۴٪ - ۴۹/۳٪
۶	۱۳۹۷	<i>آنپلازما مارجیناله</i>	۲۳۰ رأس گاو	۷۵ (۳۲/۶)	۲۶/۶٪ - ۳۹/۱٪	۱۶۶ (۷۲/۱۷)	۶۵/۹٪ - ۷۷/۹٪
		<i>آنپلازما پلاتیس</i>		۰ (۰)	۰٪ - ۱/۶٪	۱۵۳ (۶۶/۵۲)	۶۰/۱٪ - ۷۲/۶٪

\*: آزمایش مربوطه انجام نشده است.

## بحث و نتیجه‌گیری

مهم‌ترین و اساسی‌ترین وظیفه دامپزشکان طب داخلی دام‌های بزرگ تشخیص و درمان بیماری‌های دامی یک منطقه جغرافیایی و ارائه راهکارهای کنترل و پیشگیری در خصوص بیماری‌های شایع و مهم منطقه می‌باشد. اطلاع از اپیدمیولوژی بیماری‌های مهم یک ناحیه جغرافیایی، مقوله‌ای بسیار مهم در تشخیص محسوب می‌شود. همچنین استفاده از روش‌های متنوع و متعدد آزمایشگاهی ابزاری مهم در تشخیص این بیماری‌ها بوده و لزوم استفاده از پاراکلینیک برای هر دامپزشک حاذق و مجرب محسوب است. برای استفاده از این روش‌ها باید به امکانات آزمایشگاهی، نحوه نمونه‌گیری،

شرایط دسترسی به آزمایشگاه و همچنین وضعیت اقتصادی حاکم بر منطقه توجه نمود. به‌عنوان مثال اگر در یک منطقه جغرافیایی خاص امکان استفاده از تکنیک‌های پیچیده مولکولی و ایمونولوژیک میسر نباشد باید از روش‌های ساده، ارزان و در دسترس بهره برد.

بیماری‌های عفونی منتقله از طریق بندپایان به‌عنوان مهم‌ترین و شایع‌ترین بیماری‌های نشخوارکنندگان در منطقه سیستان محسوب می‌شوند. جهت تشخیص تیلریوز، بابزیوز، *آنپلازما* و تریپانازومیاز می‌توان از علائم درمانگاهی، مشاهده میکروسکوپی (استفاده از رنگ‌آمیزی گیمسا) و همچنین تکنیک‌های متنوع

مولکولی بهره‌مند شد (۱۱). نتایج مطالعه حاضر بیانگر این موضوع است که برای تشخیص همه بیماری‌های انگلی ذکر شده نمی‌توان از یک برنامه تشخیصی یکسان استفاده نمود و کاربرد هر کدام از تکنیک‌های آزمایشگاهی نامبرده بر اساس نوع انگل و میزبان متفاوت است. در ادامه به بحث پیرامون این موضوع خواهیم پرداخت.

#### کاربرد علایم درمانگاهی در تشخیص:

برخی موارد علایم بالینی واضح و برجسته بوده و دامپزشک را به سمت تشخیص قطعی سوق می‌دهند. به‌عنوان مثال در خصوص تیلریوز گرمسیری و همچنین تب تگزاس گاوان علایم درمانگاهی در تشخیص موارد حاد بیماری بسیار کمک‌کننده هستند (۱۲). اغلب دامپزشکان متبحر منطقه سیستان با مشاهده تورم عقده‌های لنفاوی، بی‌رنگی مخاطات و تب بالا به تیلریوز مشکوک خواهند شد (۶). تب بالا و هموگلوبینوری در کنار زردی مخاطات چشم در تشخیص تب تگزاس با عاملیت *بازیلا بایجینا* بسیار کمک‌کننده است (مشاهدات بالینی تب تگزاس در سیستان، در حال انتشار). این در حالیست که در موارد مزمن بیماری‌های ذکر شده و همچنین آناپلاسموز نشخوارکنندگان علایم بالینی ممکن است مبهم بوده و دامپزشک را در تشخیص گمراه کنند (۴). بیماری سورا در شتر نیز با لاغری پیشرفته، کم‌خونی و تب همراه است که در بسیاری از بیماری‌ها دیده می‌شود و جهت تشخیص قطعی آن حتماً نیاز به تأیید آزمایشگاه است (۸). تیلریوز و بازیوز نشخوارکنندگان کوچک تظاهرات بالینی مشابه ارائه می‌کنند که بیشتر شامل تب، درجاتی از کم‌خونی و علایم تنفسی است لذا توصیه می‌شود در این دام‌ها نیز از روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص استفاده شود (۷، ۱۴).

#### مشاهده میکروسکوپی با رنگ‌آمیزی

**گیمسا:** از زمانی که ویکتور بابز دانشمند رومانیایی و آرنولد تیلر سوئدی بازیلا و تیلریا را کشف نمودند بیش از یک قرن می‌گذرد در طول این سال‌های متمادی مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خونی با رنگ‌آمیزی گیمسا به‌عنوان ساده‌ترین و در دسترس‌ترین روش تشخیص آزمایشگاهی به کار رفته است (۱۵). از مزایای این روش می‌توان به ارزان بودن آن و عدم نیاز به امکانات پیشرفته آزمایشگاهی اشاره نمود. همچنین در این روش می‌توان شدت آلودگی به اجرام انگلی را مشخص کرد که یک امکان بسیار مفید و کاربردی در تحلیل بیماری محسوب می‌شود (۱۱). سرعت بالای جوابدهی این تکنیک نیز بسیار جذاب است. دامپزشک به راحتی می‌تواند قبل از آغاز درمان به جواب آزمایش دسترسی پیدا کند. از معایب این روش می‌توان به پایین بودن حساسیت آن اشاره نمود. این مسأله در نتایج مطالعه حاضر کاملاً ملموس است (جدول ۱). در بسیاری از آلودگی‌های انگلی تعداد جرم موجود در گسترش خون پایین بوده و کاملاً محتمل است که از دید آزمایشگر مخفی بمانند. به‌عنوان مثال در تیلریوز مزمن یا آلودگی به بازیلا ممکن است تعداد اجرام بیماری‌زا کم بوده و جواب منفی کاذب ارائه شود (۶). همچنین در قرائت اسلایدهای میکروسکوپی رنگ شده تجربه بالای فرد آزمایشگر مورد نیاز است. به کرات شاهد این امر بوده‌ایم که آزمایشگاه‌های تشخیصی رسوبات رنگ گیمسا، اجسام هاول ژولی یا سایر اشکال غیر مرتبط را به جای اجرام انگلی گزارش نموده‌اند. با این حال با توجه به میزان شیوع بالا و تنوع گسترده اجرام انگلی خونی در منطقه سیستان استفاده از این روش را قبل از درمان توصیه می‌کنیم. تیلریوز گرمسیری و تب تگزاس در گاوان خصوصاً در مراحل حاد به راحتی با این تکنیک قابل شناسایی هستند. تشخیص

گران بودن وسایل و مواد مصرفی، حضور نیروی متخصص با علم و تجربه کافی و طولانی بودن زمان جوابدهی اشاره نمود. همچنین معمولاً این روش‌ها از نوع آزمون‌های کیفی بوده و شدت آلودگی را بیان نمی‌کنند. در راستای تشخیص تیلریوزیز گرمسیری و تب تگزاس گاوان و همچنین آناپلاسموزیز حاد نیازی به استفاده از این روش‌های پیچیده و پرهزینه نیست (۴، ۶). ولی در تشخیص قطعی بیماری سورا، تشخیص موارد مزمن و پنهان آلودگی به تیلریا، بابزیا و آناپلازما، تشخیص تفریقی تیلریا و بابزیای گوسفندی و همچنین تشخیص گونه‌های متنوع و کم‌اهمیت‌تر اجرام ذکرشده، استفاده از تکنیک‌های مولکولی بسیار کارآمد است (۴، ۱۴). در حال حاضر استفاده از این روش‌ها در منطقه سیستم محدود به تحقیقات بوده و کاربرد تجاری - تشخیصی ندارند. با توجه به شرایط حاکم بر منطقه و حجم بالای دام‌های آلوده به انواع اجرام انگلی خونی پیشنهاد می‌شود دامپزشکان بخش خصوصی و همچنین شبکه‌های دامپزشکی منطقه سیستم از امکانات کافی و نیروی متخصص موجود در مراکز دانشگاهی شهرستان زابل در راستای بهره‌مندی از تشخیص بهتر و در نهایت کنترل علمی و صحیح بیماری‌های موجود استفاده کنند.

میکروسکوپیک تیلریا لستوکوردی و بابزیا اویس در گوسفندان با استفاده از این روش بسیار مشکل بوده و اجرام به هم شبیه هستند (۷، ۱۴). آناپلاسموزیز ناشی از آناپلازما مارژیناله با این روش قابل تشخیص است ولی به هیچ عنوان استفاده از این روش را به دلیل دشواری در تشخیص برای یافتن سایر گونه‌های آناپلازما مانند سنتراله، پلاتیس و فاگوسایتوفیلوم توصیه نمی‌کنیم (۴). تریپانازوما اوانسی در گسترش خون شتر، با توجه به شکل منحصر به فردی که دارد، با هیچ جرم دیگری اشتباه نمی‌شود. ولی به دلیل تعداد بسیار پایین انگل در موارد مزمن بیماری تقریباً با رنگ‌آمیزی گیمسا قابل رهگیری نیست (۸).

**کاربرد روش‌های تشخیص مولکولی:** با توجه به وجود مراکز دانشگاهی در منطقه سیستم استفاده از انواع تکنیک‌های مولکولی در تشخیص آلودگی‌های انگلی میسر است. از مزایای این روش‌ها می‌توان به حساسیت بسیار بالای آنها اشاره نمود. همچنین در تمامی مواردی که در روش رنگ‌آمیزی گیمسا امکان بررسی وجود ندارد، این روش‌ها گره‌گشا بوده، می‌توانند انواع گونه‌ها و سویه‌های انگلی را با دقت بسیار بالایی رصد کنند (۱۵)، ولی معایب و ایراداتی نیز به همراه دارند که استفاده از آنها را بسیار محدود می‌کند از جمله می‌توان به

## References

- 1- Ganjali M, Dabirzadeh M, Sargolzaie M. Species diversity and distribution of ticks (Acari: Ixodidae) in Zabol county, eastern Iran. *Journal of Arthropod Borne Disease*. 2014; 8(2): 219-223. [In Persian]
- 2- Soosaraei M, Haghi MM, Etemadifar F, Fakhar M, Teshnizi SH, Hezarjaribi HZ, et al. Status of theileriosis among herbivores in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Veterinary World*. 2018; 11(3): 332-341. [In Persian]
- 3- Zarei F, Ganjali M, Nabavi R. Identification of *Theileria* species in sheep and vector ticks

using PCR method in Zabol, eastern Iran. *Journal of Arthropod Borne Disease*. 2019; 13(1): 76-82. [In Persian]

4- Fathi A. Molecular detection of anaplasma species in cattle of Sistan region. DVM Thesis. University of Zabol, Iran. 2018. [In Persian]

5- Sazmand A, Joachim A. Parasitic diseases of camels in Iran (1931-2017) - a literature review. *Parasite*. 2017; 24: 21.

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

(*Bos taurus indicus*) cattle breeds by polymerase chain reaction in Sistan region, Iran. *Journal of Parasitic Disease*. 2016; 40(4): 1184-1188. [In Persian]

**7- Sharifi N, Ganjali M, Nabavi R, Saadati D.** A study on prevalence and identification of ovine *Theileria* and *Babesia* infection in Zabol using PCR method. *Journal of Parasitic Disease*. 2016; 40(4): 1535-1539. [In Persian]

**8- Zangoie F, Ganjali M, Keighobadi M, Nabavi R.** Molecular detection of *Trypanosoma evansi* based on ITS1 rDNA gene in *Camelus dromedarius* in Sistan Region, Iran. *Tropical Biomedicine*. 2018; 35(4): 1140-1147. [In Persian]

**9- Nouri-Sadegh M.** Study of the prevalence of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in native cattle with anemia in veterinary clinics of Sistan zone. MS Thesis. University of Zabol, Iran. 2016. [In Persian]

**10- Zeinali R.** Molecular study of *Anaplasma* species in camels of Zahedan, Saravan -Iran. MS Thesis. University of Zabol, Iran. 2018. [In Persian]

**11- Lempereur L, Beck R, Fonseca I, Marques C, Duarte A, Santos M, et al.** Guide-

lines for the detection of *Babesia* and *Theileria* parasites. *Vector Borne and Zoonotic Disease*. 2017; 17(1): 51-65.

**12- Esteve-Gasent MD, Rodríguez-Vivas RI, Medina RF, Ellis D, Schwartz A, Cortés Garcia B, et al.** Research on integrated management for Cattle fever ticks and bovine babesiosis in the United States and Mexico: current status and opportunities for binational coordination. *Pathogens*. 2020; 9(11): 871.

**13- Ma Q, Liu J, Li Z, Xiang Q, Wang J, Liu A, et al.** Clinical and pathological studies on cattle experimentally infected with *Theileria annulata* in China. *Pathogens*. 2020; 9(9): 727.

**14- Jalali SM, Jolodar A, Rasooli A, Darabifard A.** Detection of *Theileria lestoquardi* cross infection in cattle with clinical theileriosis in Iran. *Acta Parasitologica*. 2016; 61(4): 756-761. [In Persian]

**15- Khattak RM, Rabib M, Khan Z, Ishaq M, Hameed H, Taqddus A, et al.** A comparison of two different techniques for the detection of blood parasite, *Theileria annulata*, in cattle from two districts in Khyber Pukhtoon Khwa Province (Pakistan). *Parasite*. 2012; 19(1): 91-5.

## Comparison of Common Available Methods in Identification of Ruminant's Blood Protozoa, Sistan Region of Iran

Reza Nabavi

116

Associate professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, Iran.

Receive: December 26, 2022; Revise: January 6, 2023; Accept: January 8, 2023

### Summary

---

Theileriosis and Anaplasmosis are very prevalent in native ruminants of Sistan region of Iran. Bovine babesiosis could be found with fewer prevalence. Also, *Trypanosoma evansi* induce the *Surra* disease in the camels of the region. The objective of present study is study and comparison of common available methods in identification of such infective organisms including clinical appearance, giemsa staining and molecular techniques (2013-2018). The blood specimens of 636 cattle, 80 sheep and 213 camels have been investigated with giemsa staining and molecular methods. Also, the clinical features were evaluated. The current results indicated that molecular PCR amplification is a more sensitive tool as compared to smear scanning for the detection of blood protozoa. However, it doesn't mean that molecular techniques could be considered more preferable. The advantages and disadvantages of each identification method is discussed comprehensively based on the type of the parasites, hosts and economical condition in the area.

**Key words:** *Theileria*, *Babesia*, *Anaplasma*, *Giemsa*, *Molecular*