

مروری بر آناپلاسموزیس و وضعیت شیوع آناپلازما مارجیناله در گاوهای ایران و جهان

• وحید نعمان

بخش تحقیقات دامپزشکی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی

و منابع طبیعی استان اصفهان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴-۰۶-۱۳۹۵ تاریخ پذیرش: ۱۱-۰۸-۱۳۹۵

Email: vnoaman@gmail.com



چکیده

آناپلاسموزیس بیماری است که از طریق کنه منتقل می‌شود و عامل مسبب آن گونه‌های مختلف آناپلازما می‌باشند. آناپلازما مارجیناله با اهمیت‌ترین گونه از نظر دامپزشکی در خانواده آناپلاسماتاسه‌ها می‌باشد. بیماری از شایع‌ترین انگل‌های خونی گاو است و در مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و اغلب مناطق معتدل جهان همه‌گیر می‌باشد. تهاجم و تکثیر آناپلازما مارجیناله در گلبول‌های قرمز گاو باعث کم‌خونی، از دست دادن وزن و سقط و در فرم حاد در برخی موارد باعث مرگ حیوان می‌شود. آناپلازما مارجیناله بصورت بیولوژیکی از طریق کنه و با انتقال خون آلوده توسط گزش مگس‌های خونخوار یا وسایل آلوده بصورت مکانیکی منتقل می‌شود. در برخی از مناطق انتقال آناپلازما مارجیناله از طریق جفت نیز به اپیدمیولوژی آناپلاسموزیس گاوی کمک می‌کند. بر اساس مطالعات اخیر انجام شده در ایران در حدود یک چهارم گاوهای مورد مطالعه از نظر آناپلازما مارجیناله مثبت ارزیابی شده‌اند. علی‌رغم اهمیت جهانی، در ایران هنوز در تشخیص و درمان، این بیماری نادیده گرفته می‌شود. بعلت ضعف در تشخیص و گزارش بیماری، اطلاعات پایشی در خصوص این بیماری در ایران محدود می‌باشد. این مقاله با توجه خاص به شیوع بیماری در ایران و جهان، مطالب علمی در خصوص آناپلاسموزیس را مرور کرده است تا به دامپزشکان در تفریق، تشخیص و درمان بیماری کمک نماید.

کلمات کلیدی: آناپلاسموزیس، آناپلازما مارجیناله، گاو، کنه

• Veterinary Researches & Biological Products No 116 pp: 2-15

A review of anaplasmosis and the prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle in Iran and the world

By: Noaman, V., Veterinary Research Department, Isfahan Agriculture and Natural resources Research and Education Center, AREEO, Isfahan, Iran.

Email: vnoaman@gmail.com

Received: 2016-09-04 Accepted: 2016-11-01

Anaplasmosis is a tick-borne disease caused by the *Anaplasma* spp.. *A. marginale* is the most important species of veterinary in the family Anaplasmataceae. The disease is the most prevalent of bovine hemoparasite infections and is endemic in tropical, subtropical and certain temperate areas of the world. Invasion and multiplication of *A. marginale* in erythrocytes of cattle may result in anemia, weight loss, abortion, and sometimes death during acute infections. *A. marginale* is transmitted biologically by ticks and mechanically by blood-contaminated mouthparts of biting flies or fomites. Transplacental transmission of *A. marginale* may contribute to the epidemiology of bovine anaplasmosis in some regions. According to the recent studies in Iran, approximately a quarter of the examined cattle have been positive for *A. marginale*. In spite of the global importance, in Iran the disease is still often overlooked in diagnosis and treatment. There is little surveillance information about this disease in Iran due to poor recognition and report. This paper reviews the literature on anaplasmosis with special attention to the prevalence of the disease in Iran and the world to help veterinarians differentiate, diagnose, and treat this disease.

Key words: Anaplasmosis, *Anaplasma marginale*, Cattle, Tick

ضررهای ناشی از آناپلاسموزیس بوسیله چندین پارامتر سنجیده می‌شود که عبارتند از: حصول وزن پایین، کاهش تولید شیر، سقط، هزینه‌های درمان آناپلاسموزیس و مرگ و میر. مطالعات جهت تعیین خسارات سالانه این بیماری در کشورهای مختلف انجام شده است و ضررهای اقتصادی را عجیب و وحشتناک عنوان نموده‌اند. در آمریکا خسارات سالانه در گاوهای گوشتی در نتیجه ابتلا به آناپلاسموزیس ۳۰۰ میلیون دلار در سال تخمین زده شده است (۲۶). علاوه بر این در آمریکای لاتین این خسارات تقریباً ۸۰۰ میلیون دلار محاسبه شده است (۲۶). در بیشتر گزارشات اشاره شده است که آناپلاسموزیس گاو و بایزیوزیس در آمریکای لاتین سالانه ۸۷۵ میلیون دلار خسارت ایجاد می‌کنند (۲۶). به هر حال بیشترین اهمیت اقتصادی آناپلاسموزیس در مناطق گرم پرورش دهنده گاو است که برنامه‌های اصلاح نژادی انجام می‌شود. گاوهای وارداتی که برای بهبود و اصلاح نژاد به مناطق گرم آورده می‌شوند بسیار نسبت به بیماری‌های منتقله از طریق کتله حساس می‌باشند (۵۲). در ایران خسارات ناشی از بیماری برآورد نشده است. با توجه به شیوع جهانی این بیماری بالطبع در ایران نیز با توجه به شرایط جغرافیایی و آب و هوایی، ورود حیوانات حساس به مناطق آلوده، وجود حیوانات حامل بیماری، فراهم بودن شرایط برای تکثیر و فعالیت ناقلان بندپا و بالابودن تعداد دام‌های حساس، سالانه خسارات قابل توجهی ناشی از این بیماری

مقدمه

جنس آناپلازما (*Anaplasma*) از نظر دامپزشکی و پزشکی واجد اهمیت است. گونه‌های این جنس در نشخوارکنندگان عبارتند از: آناپلازما مارجیناله (*A. marginale*)، آناپلازما سنتراله (*A. centrale*)، آناپلازما اوویس (*A. ovis*)، آناپلازما بوویس (*A. bovis*)، آناپلازما فاگوسیتوفیلیم (*A. phagocytophilum*) (گونه مشترک بین انسان و دام) که از طریق بندپایان منتقل شده و آناپلاسموزیس را در نشخوارکنندگان ایجاد می‌کنند (۵). آناپلازما مارجیناله مهم‌ترین عامل آناپلاسموزیس گاو است که از طریق گزش کتله یا انتقال مکانیکی گلبول‌های قرمز تازه توسط گزش مگس و یا تجهیزات جراحی مانند سوزن، و یا شاخ‌بری، اخته کردن و یا تجهیزات خالکوبی گسترش می‌یابد (۵۲). آناپلاسموزیس در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری (۴۰ درجه شمالی تا ۳۲ درجه جنوبی) در سراسر جهان رخ می‌دهد که ایران نیز از این قاعده مستثنی نمی‌باشد. این بیماری از نظر اقتصادی یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در شش قاره جهان در نظر گرفته می‌شود (۲۹، ۲۷، ۱۹). بیماری در گاو قبلا تب زرد، کیسه زرد و بیماری صفر نامیده می‌شد و دارای علائم بالینی مشخصی می‌باشد (۶۱) ولی دیگر نشخوارکنندگان مثل گاو میش آبی، بیسون (*Bison*)، آنتلوپ‌های آفریقایی (*African antelopes*) و گوزن‌ها می‌توانند بطور دائمی با آناپلازما مارجیناله آلوده باشند ولی علائم نشان ندهند (۲۶، ۶).

به دامداران مناطق مختلف وارد می‌شود. با توجه به خسارات اقتصادی قابل توجه و هزینه‌های سنگین درمانی و تلفات ناشی از بیماری بنظر می‌رسد هنوز شناخت جامعی از این بیماری در بین دامپزشکان ایران وجود ندارد تا اقدامات مؤثری در پیشگیری و کنترل این بیماری در ایران صورت گیرد. لذا در این مقاله به تفصیل در خصوص بیماری و عامل آن بحث شده است.

تاریخچه و رده‌بندی

آرنولد تیلر در سال ۱۹۱۰ در آفریقای جنوبی اولین بار آنپلازما مارجیناله را در گلبول‌های قرمز گاوهای آفریقای صورت یک نقطه حاشیه‌ای توصیف کرد. گزارش مشابهی نیز در آمریکا توسط اسمیت و سالمون در سال ۱۸۹۶ منتشر شده بود که آنپلازما مارجیناله را جرم بیماری‌زای گرد و کوچک که در لبه گلبول قرمز قرار می‌گرفت و در رنگ‌آمیزی به رنگ آبی روشن مشاهده می‌شد توصیف کرده بودند. متعاقب این، تیلر در سال ۱۹۱۱ تحت گونه آنپلازما مارجیناله یعنی آنپلازما سنتزاله را توصیف کرد که بیماری‌زایی آن کمتر و در مرکز اریتروسیت‌ها قرار می‌گرفت. گونه‌های آنپلازما در ابتدا به عنوان انگل‌های تک‌یاخته‌ای در نظر گرفته می‌شدند. مطالعات بعدی نشان داد اگر چه این ارگانیسم‌ها به راحتی با اسپروزوآهای تک‌یاخته‌های خونی قابل اشتباه می‌باشند ولی این ارگانیسم‌ها دارای خصوصیات توصیف شده برای تک‌یاخته‌ها نمی‌باشند. از سال ۱۹۵۷ این ارگانیسم‌ها در خانواده آنپلاسماتاسه (Anaplasmataceae) و راسته ریکتزیاله (Rickettsiales) طبقه‌بندی شدند (۲۷).

دامر و همکاران در سال ۲۰۰۱ ارگانیسم‌های راسته ریکتزیاله را بر اساس خصوصیات بیولوژیک و آنالیز ژنتیکی ژن‌های *gro*، *rRNA* ۱۶S، *ESL* و ژن‌های پروتئین سطحی اصلی (Major Surface Protein) دوباره دسته‌بندی کردند (۱۹).

ژنوم کوچک آنپلازما مارجیناله حلقوی است و اندازه آن بین ۱/۲ تا ۱/۶ میلیون باز تخمین زده می‌شود (۲۶، ۱۹). تحقیقات ۲۰ سال اخیر بر روی تشخیص پروتئین‌های سطحی اصلی آنپلازما مارجیناله متمرکز شده است. شش پروتئین سطحی اصلی *MSP* ۱a، *MSP* ۱b، *MSP* ۲، *MSP* ۳، *MSP* ۴، *MSP* ۵، از ارگانیسم‌های مشتق از گلبول‌های قرمز تشخیص داده شده است. *MSP* ۴، *MSP* ۱a و *MSP* ۵ توسط ژن‌های تکی کد می‌شوند در حالی که *MSP* ۳، *MSP* ۲، *MSP* ۱b توسط چندین ژن کد می‌شوند. *MSP* ۱a از نظر وزن ملکولی در بین ایزوله‌های جغرافیایی اختلاف دارد که بخاطر اختلاف تعداد ردیف تکراری ۲۸ یا ۲۹ اسید آمینه‌ای است که در انتهای آمینی پروتئین قرار گرفته است (۲۶، ۱۹، ۲۸). بعلاوه تنوع در قسمت تکراری ژن *MSP* ۱a در مناطق مختلف این ژن به عنوان مارکر ژنتیکی برای تشخیص ایزوله‌های جغرافیایی آنپلازما مارجیناله استفاده می‌شود (۲۶، ۲۸). در پروتئین *MSP* ۱a ردیف تکراری اسید آمینه برای اتصال موثر به اریتروسیت‌های گاو و سلول‌های کهنه لازم می‌باشد. نشان داده شده است که *MSP* ۱a در آلوده کردن و انتقال آنپلازما در کهنه‌ها دخیل است و همچنین در ایمنی گاوهای آلوده به آنپلازما مارجیناله کمک می‌کند. *MSP* ۱b حداقل توسط دو ژن کد می‌شود. مشخص شده است که *MSP* ۱b تنها برای اتصال به اریتروسیت‌های گاو است و ثابت نشده که نقشی در اتصال به سلول‌های کهنه داشته باشد (۱۷). *MSP* ۲

و *MSP* ۳ توسط خانواده چند ژنی با پلی مورفیسم زیاد کد می‌شوند. توالی و ترکیبات آنتی‌ژنتیکی *MSP* ۲ در طول تکثیرهای پی‌درپی باکتری در گاوها و کهنه‌هایی که آلودگی پایدار دارند متفاوت است. *MSP* ۳ نیز در خصوصیات آنتی‌ژنتیکی و ساختاری در بین ایزوله‌های جغرافیایی متفاوت است. *MSP* ۲ و *MSP* ۳ در الفای پاسخ ایمنی محافظتی گاو برضد آنپلازما مارجیناله دخالت دارند. *MSP* ۴ و *MSP* ۵ توسط ژن‌های تکی کد می‌شوند. اگر چه *MSP* ۴ شدیداً بدون تغییر می‌ماند ولی اطلاعاتی در خصوص وظیفه این پروتئین در دسترس نمی‌باشد. *MSP* ۵ نیز پروتئین سطحی با پایداری بالا است که نقش آن به عنوان آنتی‌ژن در آزمون تشخیصی الیزای رقابتی که در حال حاضر در آمریکا بصورت تجاری در دسترس است ثابت شده است (۲۶، ۱۹، ۲۸). آنالیز تبارشناسی ایزوله‌های جغرافیایی آنپلازما مارجیناله با استفاده از کپی ژن‌های *msp1a* و *msp4* در ایالت متحده آمریکا انجام گرفته است (۱۷) و مشخص شده است که *msp4* یک مارکر ژنتیکی خوبی برای مطالعات تکمیلی در جنس آنپلازما و پی بردن به الگوی تبارشناسی ایزوله‌های آنپلازما مارجیناله است (۱۷). توالی ژن Heat Shock Protein ۶۰ (*HSP* ۶۰) (groEL) نیز برای آنالیز تبارشناسی گونه‌های آنپلازما استفاده شده است (۳۱).

ارگانیسم‌های طبقه‌بندی شده در خانواده آنپلاسماتاسه آرگانیسم‌های داخل سلولی اجباری هستند که در واکوئل‌های سیتوپلاسمی سلول‌های میزبان مانند اریتروسیت، سلول‌های رتیکولواندوتلیال، سلول‌های فاگوسیت‌کننده، سلول‌های اندوتلیال و بافت‌های زیای حشرات، بندپایان یا کرم‌ها تکثیر می‌یابند. اغلب اعضای این خانواده ترماندها، کهنه‌ها و یا دیگر بی‌مهرگان را به عنوان میزبان ناقل انتخاب می‌کنند (۱۹، ۵۴).

آنپلازما به معنی بدون پروتوپلاسم است و در این جنس گونه‌های مختلفی وجود دارند که برخی بیماری‌زا و برخی فاقد قدرت بیماری‌زایی می‌باشند. آنپلاسموزیس گاوی بوسیله آنپلازما مارجیناله ایجاد می‌شود در حالی که آنپلازما سنتزاله بیماری‌زایی کمتری برای گاو دارد و بعنوان واکسن زنده در اسرائیل، استرالیا، آفریقا و آمریکای جنوبی استفاده می‌شود. آلودگی با این گونه در برخی موارد می‌تواند ایجاد بیماری کلینیکی کند. آنپلازما اوویس برای گوسفند بیماری‌زا است و در گاو آلودگی پایدار ایجاد نمی‌کند (۶).

انتشار جغرافیایی آنپلاسموزیس گاوی در ایران و جهان و عوامل خطر

اگرچه آنپلاسموزیس در کل دنیا وجود دارد ولی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بیشتر اتفاق می‌افتد و از مشکلات پرورش‌دهندگان گاو در کل دنیا است. در آمریکا آنپلاسموزیس در ایالت‌های جنوب آتلانتیک، خلیج شرقی و چندین ایالت غربی و غربی مرکزی (۲۶) انزوتیک است. به هرحال آنپلاسموزیس در کلیه ایالت‌های آمریکا گزارش شده است و انتشار وسیع آن ممکن است ناشی از افزایش نقل و انتقال گاو و افزایش فرصت انتقال مکانیکی عامل بیماری از گاوهای مبتلا به عفونت پایدار و بدون علائم بالینی باشد. آنپلاسموزیس گاوی در مکزیک آمریکای شمالی و مرکزی و جزایر کارابین اندمیک است. این بیماری در اکثر کشورهای آمریکای لاتین بجز نواحی صحرایی یا رشته کوه‌هایی نظیر آند انزوتیک است (۲۶).

می‌باشند (۵۶). ساجید و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که شیوع آنپلاسموزیس در گاو میش بیشتر از گاو، در گوساله بیشتر از بالغین و در ماده‌ها بیشتر از نرها بود (۵۵). داسیلوا و فون سکا در سال ۲۰۱۴ نشان دادند تعداد شکم زایش، نژاد، زایمان، تولید شیر، آلودگی با کنه و تراکم گله در میزان شیوع *آنپلازما مارجیناله* نقش دارند (۱۵). اتیف و همکاران در سال ۲۰۱۳ نشان دادند گاوهای بیش از ۴ سال، گاوهای آمیخته، فاصله متوسط سم‌پاشی، تغذیه داخل دامداری، استفاده از سرسوزن‌های غیر بهداشتی و مناطق در شیوع *آنپلازما مارجیناله* دخیلند (۴). کاستا و همکاران در سال ۲۰۱۳ دفعات کم سم‌پاشی را در شیوع بالای *آنپلازما مارجیناله* دخیل دانستند (۱۲). اورداز-رودریگز و همکاران در سال ۲۰۰۹ چرا در مراتع و فقدان کنترل مگس‌ها را از عوامل شیوع *آنپلازما مارجیناله* دانستند (۶۲). در ایران در بررسی انجام شده توسط نعمان و همکاران در سال ۲۰۱۵ مشخص شد که در فراوانی گاوهای آلوده به *آنپلازما مارجیناله* عواملی از قبیل دامداری‌های سنتی، تغذیه دام در چراگاه، سطح بهداشتی پایین دامداری، عدم استفاده از سرسوزن مجزا در تزریقات و واکسیناسیون، فاصله کمتر از یک کیلو متر دامداری‌ها و تماس با نشخوارکنندگان غیر اهلی دخالت داشتند. ولی عواملی مانند حضور ناقلین مختلف، تراکم دام، نژاد دام، سن دام و جنس دام در فراوانی گاوهای آلوده به *آنپلازما مارجیناله* دخالت نداشتند (۴۷).

نشانه‌های بالینی

گلبول‌های قرمز تنها محل شناخته شده آلودگی با *آنپلازما مارجیناله* در گاو است (۵۴). به سلول‌های آلوده گنجیدگی‌های غشایی حاوی ۴ تا ۸ ریکتوزیا چسبیده است و ۷۰ درصد یا بیشتر گلبول‌های قرمز در طول عفونت حاد ممکن است آلوده شوند (۲۶). دوره کمون بیماری (پیش آشکاری) بسته به تعداد ارگانسمی که بصورت دز عفونی وارد بدن می‌شود بین ۷ تا ۶۰ روز با میانگین ۲۸ روز متفاوت است (۲۹، ۲۸). در طول این مرحله حیوانات هنوز بدون علایم می‌باشند. اولین نشانه بالینی در طول مرحله پیشرفته بیماری هنگامی ظاهر می‌شود که بیش از ۱۵ درصد از گلبول‌های قرمز آلوده شوند. تب اولین یافته بالینی است که با بی‌اشتهایی، خمودگی و لاغری همراه می‌شود این مرحله بین ۴ تا ۹ روز به طول می‌انجامد. بعد از تشخیص آلودگی گلبول قرمز، تعداد گلبول‌های قرمز آلوده بطور تصاعدی افزایش می‌یابد متعاقب آن گلبول‌های قرمز آلوده توسط سیستم رتیکیولو اندوتلیال فاگوسیت شده و در نتیجه کم‌خونی خفیف تا شدید و زردی بدون ظهور هموگلوبین در خون و ادرار ظاهر می‌شود (۳). در طول آنپلاسموزیس حاد سطح ریکتوزیا تا ۱۰^۹ گلبول قرمز آلوده در میلی‌لیتر می‌رسد و در نتیجه نشانه‌های کلینیکی شامل تب، کاهش وزن، سقط، لاغری مفرط، زردی و اغلب مرگ در حیوانات بالای ۲ سال مشاهده می‌شود. طول مرحله بهبودی از هفته‌ها تا ماه‌ها متفاوت است و از حضور رتیکیولوسیت‌ها در خون محیطی تا برگشت فاکتورهای خونی به حالت طبیعی متغیر می‌باشد. مرگ و میر ممکن است در ابتدای مرحله بهبودی حادث شود (۶۱، ۲۷). بهبودی از آنپلاسموزیس حاد باعث عفونت پایدار می‌شود که در اثر سیکل‌های متوالی، ریکتوزیا تقریباً به ۱۰^۲ تا ۱۰^۷ گلبول قرمز آلوده در میلی‌لیتر می‌رسد و سطح ارگانسیم در حدی نیست که به روش

انتشار آنپلاسموزیس بعلت روند گرم شدن کره زمین و تاثیر در انتقال میزبان‌های کنه‌ای ممکن است روند رو به افزایش داشته باشد یک مثال جهت ثابت کردن این نظریه تایید وجود آنپلاسموزیس در گله‌های بیسون در ساسکاچوان کانادا در طول تابستان ۲۰۰۰ است. اولین شیوع آنپلاسموزیس در سال ۱۹۷۱ در کانادا اتفاق افتاد اما علت این شیوع، انتقال مکانیکی عامل بیماری از گاوهای ناقل بود (۲۶).

گزارشات متعددی از شیوع آنپلاسموزیس گاوی در کشورهای دنیا وجود دارد که نشان می‌دهد بیماری در کشورهای استوایی و نیمه‌استوایی در نیمکره جنوبی شیوع بیشتری دارد بطوری که درصد شیوع از ۳۵ تا ۹۵ درصد متفاوت است (۴۷). در نیمکره شمالی اگر چه بیماری در سراسر این نیمکره گزارش شده است ولی عمدتاً مربوط به مناطق نیمه گرمسیری و کشورهای حوزه مدیترانه می‌باشد و بر اساس منابع، شیوع در این مناطق از ۲ تا ۳۰ درصد متفاوت می‌باشد (۴۷) (جدول ۱).

در ایران نعمان و همکاران در سال ۲۰۰۲ در مطالعه‌ای که در طول ۶ سال بر روی ۳۲۶۹ گسترش خونی حاصله از گاوهای اصیل و دورگ هلشتاین غیرصنعتی (مشکوک به انگل‌های خونی) یکی از شهرستان‌های استان اصفهان انجام دادند نشان دادند که ۱۶/۷ درصد از دام‌ها از نظر *آنپلازما مارجیناله* مثبت و به آنپلاسموزیس حاد مبتلا بودند و میزان وقوع آنپلاسموزیس در این شهرستان روند افزایشی داشت (۳۷). تا قبل از سال ۲۰۰۹ میلادی تحقیق جامعی در خصوص شناسایی گونه‌های آنپلازما در ایران انجام نشده بود و تحقیقات محدود به بررسی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا بود. از سال ۲۰۰۹ تا کنون تحقیقات گسترده‌ای در خصوص شناسایی گونه‌های آنپلازما در ایران انجام شده است و برای اولین بار در ایران *آنپلازما مارجیناله*، *آنپلازما سنتراله* سوبه آموری، *آنپلازما بوویس*، *آنپلازما فاگوسیتوفیلیم* در گاو و *آنپلازما اوویس* در گوسفند با روش‌های ملکولی و تعیین توالی شناسایی شدند (۳۸، ۳۹، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۴۵، ۴۸، ۴۹). مطالعات انجام شده توسط نعمان و همکاران در ایران نشان می‌دهد که فراوانی *آنپلازما مارجیناله* در گاو در مرکز و جنوب غربی کشور بیشتر از شمال و غرب کشور می‌باشد. همچنین بین اقلیم‌های مختلف نمونه‌گیری شده بیشترین فراوانی مربوط به منطقه بیابانی، بین ارتفاعات مختلف نمونه‌گیری شده بیشترین فراوانی مربوط به ارتفاع ۵۰۰ تا ۱۰۰۰ متر، بین طول‌های جغرافیایی مختلف نمونه‌گیری شده بیشترین فراوانی مربوط به طول جغرافیایی ۴۸ تا ۵۰ درجه و بین عرض‌های جغرافیایی بیشترین فراوانی مربوط به عرض جغرافیایی کمتر از ۳۱ درجه می‌باشد (۴۷).

آموریم و همکاران در سال ۲۰۱۴ نشان دادند که حضور کنه و سن دام در فراوانی آلودگی نمونه‌ها به *آنپلازما مارجیناله* تاثیر دارد (۲). رحمان و همکاران در سال ۲۰۱۵ به این نتیجه رسیدند که گاوهای دو رگ نسبت به بومی، گاوهای ماده نسبت به گاوهای نر، وجود کنه در برابر عدم وجود کنه و سن بالای ۲/۵ سال از فاکتورهای خطر ایجاد آلودگی با *آنپلازما مارجیناله* می‌باشند (۵۳). داسیلوا و همکاران در سال ۲۰۱۴ نژاد، آلودگی با کنه و تراکم گله را فاکتورهای خطر برای عفونت با *آنپلازما مارجیناله* دانستند و به این نتیجه رسیدند که انتقال عمودی نقش مهمی در شیوع بیماری در برزیل داشته است (۱۴). شرما و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند سن بالای یک سال و نواحی کوهپایه‌ای عوامل خطر آنپلاسموزیس

جدول ۱- درصد شیوع آنپلازما مارچیناله در گاوهای ایران و کشورهای مختلف در ۵ سال اخیر با روش های مختلف

کشور	تعداد گاو (راس)	شیوع (درصد)	روش شناسایی	سال	منبع
ترکیه ۶ استان	۳۸۹	۲/۸	RLB, (۱۶SrRNA gene)	۲۰۱۱	(۱)
سودان ۶ ایالت	۶۹۲	۶/۱	PCR	۲۰۱۱	(۷)
هند شرق پنجاب	۱۶۵	۶/۳	PCR msp ^۱ β gene	۲۰۱۵	(۵۷)
هند، پنجاب	۸۶۲	۸/۵۳	Giemsa-stained Peripheral blood smears	۲۰۱۲	(۶۰)
مغولستان	۳۰۰	۸/۷	PCR (msp ^۵ gene)	۲۰۱۳	(۶۳)
تگزاس	۱۲۰۰۰	۱۵/۰۲	cELISA	۲۰۱۴	(۲۳)
جنوب هند	۱۵۰	۱۶/۶	PCR	۲۰۱۳	(۳۵)
فیلیپین ۶ استان	۶۵۸	۱۹/۸	msp ^۱ a	۲۰۱۴	(۶۵)
مراکش، شمال	۶۶۸	۲۱/۹	nPCR	۲۰۱۲	(۲۴)
ایران ۹ استان	۹۵۶	۲۴/۱	PCR (msp ^r gene)	۲۰۱۵	(۴۷)
ترکیه ۶ استان	۱۹۶	۲۹/۱	PCR (msp ^r gene)	۲۰۱۶	(۶۶)
تونس، شمال	۲۳۲	۳۴/۹	PCR (۱۶S rRNA gene)	۲۰۱۵	(۸)
آنگولا، مرکز	۶۷	۳۸	PCR	۲۰۱۲	(۳۰)
کنیا، غرب	۴۵۳	۴۲/۷	RLB	۲۰۱۵	(۳۶)
هند، پنجاب	۵۷	۴۵/۲	PCR (msp ^۵ gene)	۲۰۱۲	(۵۹)
کنیا	۱۹۲	۵۰	PCR (msp ^۵ gene)	۲۰۱۵	(۳۳)
آفریقای جنوبی	۲۵۰	۵۶	PCR (msp ^۱ a gene)	۲۰۱۴	(۳۴)
سودان جنوبی	۸۰۵	۵۷/۶	ELISA	۲۰۱۲	(۲۵)
کاستاریکا	۴۹۹	۵۹/۹	real-time PCR	۲۰۱۲	(۵۸)
برزیل، سانتا کاتارینا	۳۳	۶۰/۶	PCR	۲۰۱۴	(۱۰)
برزیل، باهیا	۳۰۹	۶۳	nPCR	۲۰۱۴	(۲)
فیلیپین	۱۲	۶۶/۷	PCR (۱۶S rRNA gene)	۲۰۱۳	(۶۴)
آمریکا، تگزاس	۱۱ کله	۸۲	PCR (RT-qPCR)	۲۰۱۵	(۲۲)
فیلیپین، جزیره لوزون	۳۳۹	۹۵/۵	PCR (۱۶S rRNA gene)	۲۰۱۵	(۵۱)

آسیب‌شناسی قابل تشخیص است. جراحات دیگر عبارتند از زردی مخاطات، بزرگ شدن طحال و انسداد کیسه صفرا و گاهی روی آب شامه قلب لکه‌های خون دیده می‌شود. ماهیچه قلب رنگ پریده، سست و نرم می‌باشد. که به رنگ زرد یا قهوه‌ای است. غدد لنفی بطني و کبد متورم، قهوه‌ای رنگ و در برش، مرطوب بنظر می‌رسند. در آزمایشات میکروسکوپی استحاله‌ای شدن ماهیچه قلب، هموسیدروز (Hemosiderosis) کلیه و کبد و گویچه‌های قرمز بیگانه‌خوار شده مشهود است (۶۱، ۲۶).

تشخیص تفریقی

این بیماری باید از تمام بیماری‌هایی که باعث کم‌خونی می‌شوند تفریق شود و اشکال فوق حاد بیماری در گاو باید از بیماری‌هایی مانند سیاه زخم، پاستورلوزیس، شارین علامتی، لپتوسپیروزیس و برخی مسمومیت‌ها تشخیص تفریقی داده شود (۲۶). این بیماری باید از بیماری‌های حاصله توسط سایر تک‌یاخته‌های انگل خون مانند تیلریوزیس و بابزیوزیس نیز تفریق شود در این موارد علاوه بر اشکال متفاوت هر کدام در زیر میکروسکوپ، در آناپلاسموزیس کم‌خونی دیده می‌شود ولی تورم گره‌های لنفاوی، هموگلوبینوری و هماتوری وجود ندارد و می‌توان بر این اساس آناپلاسم را از تیلریا و بابزیا تفریق نمود (۵۲، ۶۱).

مشخصات زیستی و بیوشیمیایی

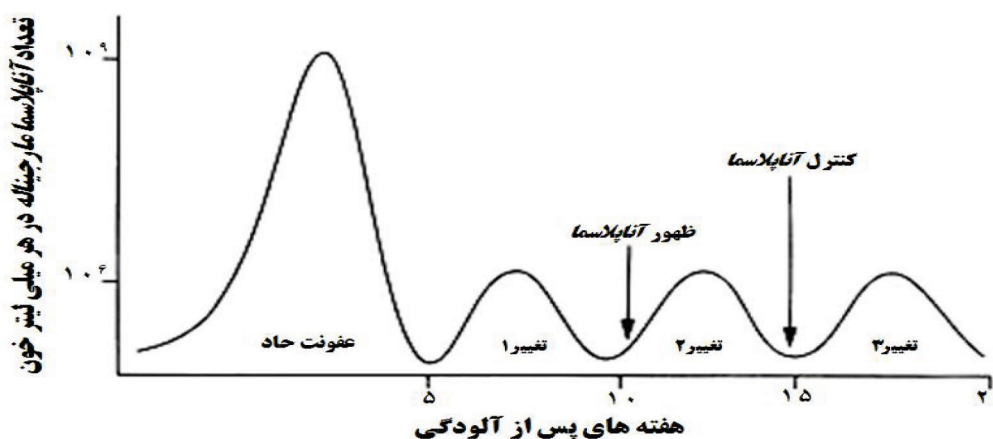
برای اینکه آناپلاسم در درون گلبول قرمز به بقا و رشد خود ادامه دهد،

میکروسکوپی قابل تشخیص باشد. گاوهای حامل در هنگام استرس نشانه‌های کلینیکی را بروز می‌دهند. باقی ماندن آلودگی در میزبان اولیه علت دوام آلودگی است چون انتقال عمودی از طریق تخمدان در کنه‌های ناقل آناپلاسموزیس اتفاق نمی‌افتد (۲۶، ۵) (شکل ۱).

گاوهایی که آلودگی دایمی دارند (حامل) ایمنی طولانی مدت کسب کرده و نسبت به بیماری کلینیکی و مواجهه با عامل بیماری مقاومت نشان می‌دهند. به هر حال گاوهایی که آلودگی دایمی دارند به عنوان مخزن آناپلاسم مارجیناله عمل می‌کنند زیرا این حیوانات منبع آلودگی خونی برای انتقال مکانیکی و بیولوژیکی عامل بیماری توسط کنه‌ها می‌باشند. نژادهای بوس تاروس (Bos Taurus) (مثل هولشتاین، براون سوئیس یا هرفورد) نسبت به گاوهای دو رگ زبو (Zebu) یا کروله (Creole) حساسترند و بیشتر علایم آناپلاسموزیس حاد را نشان می‌دهند (۲۸). گوساله‌ها حساسیت کمتری نسبت به آناپلاسم مارجیناله دارند و در هنگام عفونت کمتر نشانه‌های بالینی را نشان می‌دهند. علت این حالت به خوبی مشخص نشده است ولی برداشت طحال در گوساله باعث حساسیت شدید آن‌ها نسبت به بیماری می‌شود و آناپلاسموزیس در گوساله‌هایی که طحال آن‌ها برداشته شده است شدیدتر است از آنچه در گاوهای مسن مشاهده می‌شود. به هر حال زمانی که گوساله‌ها آلوده می‌شوند عفونت دایمی در بدن آن‌ها ایجاد شده و در طول مدت زندگی ایمن می‌شوند (۲۶).

کالبدگشایی

در کالبدگشایی کم‌خونی یکی از مشخص‌ترین تغییراتی است که از نظر



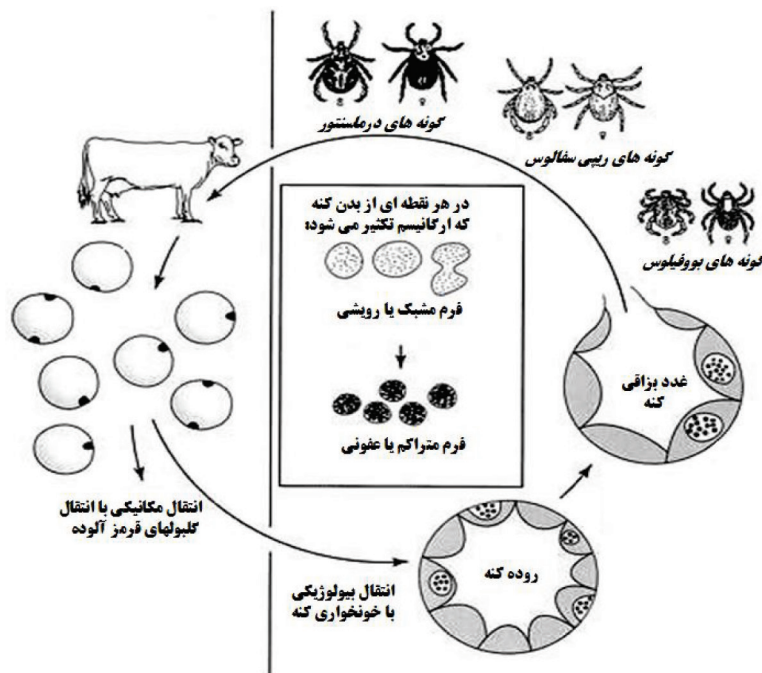
تصویر شماره ۱: بعد از ایجاد پاسخ اولیه در سیستم ایمنی میزبان تعداد آناپلاسم مارجیناله که در مرحله حاد بیماری تا 10^9 گلبول قرمز آلوده در خون رسیده بود کاهش می‌یابد ولی در اثر تغییر آنتی‌ژنتیکی پروتئین سطحی اصلی ۲ (MSP2) در چرخه تکثیر آناپلاسم مارجیناله که تقریباً ۵ هفته بطول می‌انجامد میزان آلودگی تا 10^6 گلبول قرمز آلوده در خون (در گاوهایی که آلودگی پایدار دارند) می‌رسد و دوباره پاسخ ایمنی اختصاصی میزبان باعث کاهش و کنترل آلودگی می‌شود (۲۶)

۱۶). این روش از انتقال مکانیکی در نواحی آمریکای مرکزی و جنوبی و آفریقا که ناقلین کهنه‌ای وجود ندارند (۶) و در مکان‌هایی که بووفیلوس میکروپلوس (*Boophilus microplus*) (کنه گاو در مناطق گرم) بعنوان ناقل بیولوژیک آنپلازما مارجیناله شناخته نشده است به عنوان مهم‌ترین روش انتشار آنپلازما مارجیناله می‌باشد. در برخی از نواحی آمریکا که ایزوله‌های جغرافیایی *آنپلازما مارجیناله* قابلیت آلوده کردن کنه‌ها را ندارند (برای کنه‌ها آلوده کننده نیستند) یا مناطقی که کنه‌ها توسط مورچه‌های آتشین (Fire ants) ریشه‌کن شده‌اند مشخص شده است که روش مکانیکی مهم‌ترین روش انتقال *آنپلازما مارجیناله* می‌باشد (۵۲). علاوه بر انتقال مکانیکی و بیولوژیکی، آنپلازما مارجیناله می‌تواند از گاو به گوساله از طریق جفت در طول آبستنی منتقل شود. برای مثال ۱۵/۶ درصد میزان شیوع آنپلازما در آفریقای جنوبی ناشی از انتقال رحمی است علاوه بر این سالاباریا در سال ۱۹۸۸ نشان داد که ۴/۸۶ درصد از گوساله‌های دنیا آمده از مادران مبتلا به آنپلازما مارجیناله، آلوده بوده و ممکن است انتقال عمودی در اپیدمیولوژی آنپلاسموزیس نقش بسزایی داشته باشد (۲۸، ۲۶، ۱۴). انتقال بیولوژیک *آنپلازما مارجیناله* توسط کنه انجام می‌شود و تقریباً ۲۰ گونه کنه در کل جهان بعنوان ناقل در نظر گرفته شده‌اند انتقال توسط کنه می‌تواند مرحله به مرحله (transstadial) یا در یک مرحله (intrastadial) باشد در حالی که انتقال از طریق تخمدان (trans ovarial) از یک کنه به نسل بعدی هنوز مشخص نشده است (۲۶، ۲۹).

لازم است که نیاز آن از نظر رشد و نمو از حد قابل تحمل میزبان تجاوز نکند. دخول و تکثیر انگل بدون آسیب به دیواره گلبول قرمز انجام می‌شود، از این رو سازش بین میزبان و انگل از بدو امر پدید می‌آید. از طرفی در اثر حرکت اجسام اولیه مابین گلبول‌های قرمز، غشاء سلول آسیب نمی‌بیند و همچنین آنپلازماها در هنگام خروج از گلبول‌های قرمز موجب انهدام آن‌ها نمی‌شوند. نتیجه برخورد و فعل و انفعالات انگل با غشاء سلول نشان دهنده کاهش غلظت فسفولیپیدها در ساختار گلبول‌های قرمز و بلا رفتن سیالیک اسید در سرم می‌باشد. حذف و از بین بردن اجرام آنپلاسمایی در گردش خون در نتیجه بیگانه‌خواری گویچه‌های آلوده می‌باشد. بیگانه‌خواری گویچه‌ها غیر آلوده که غالباً مشاهده می‌شود احتمالاً در اثر تقویت واکنش ایمنی خودی است (۲۸، ۲۶).

انتقال

انتقال آنپلازما مارجیناله می‌تواند بصورت مکانیکی توسط نیش مگس‌ها یا وسایل آلوده به خون یا بصورت بیولوژیک توسط کنه‌ها انجام شود (۵۲، ۲۶). انتقال مکانیکی بطور متوالی از طریق وسایل آلوده به خون شامل سرسوزن، اره شاخ‌بری، حلقه بینی، وسایل خال‌کوبی، وسایل شماره‌زنی گوش و وسایل اخته کردن انجام می‌شود (۲۶). انتقال مکانیکی توسط بندپایان نیز گزارش شده است که توسط دوبالان جنس تابانوس (*Tabanus*)، استوموکسیس (*Stomoxys*)، پشه‌ها از جنس پزوروفورا (*Psorophora*) و شپش‌ها از جنس هماتوپینوس (*Haematopinus*) انجام می‌شود (۲۹، ۲۸).



تصویر شماره ۲: خلاصه‌ای از چرخه زندگی *آنپلازما مارجیناله* در گاو و کنه (۲۶)

بندپایان ناقل توجه کرد. همچنین احتمال وجود بیش از یک عامل در واگیری‌هایی که با کم خونی همولیتیک همراه است را نباید از نظر دور داشت (۵۲، ۶۱).

آزمون‌های سرمی

آزمون‌های سرولوژیکی شامل آزمون ثبوت مکمل (Complement fixation test) و کارد آگلوتیناسیون (Card agglutination test) معمول‌ترین آزمون‌ها برای تشخیص گاوهای آلوده به آناپلازما مارجیناله در مزرعه می‌باشند و به عنوان آزمون‌هایی برای نقل و انتقال گاوها در یک کشور و جهت نقل و انتقالات بین‌المللی پذیرفته شده‌اند (۵۲، ۶). بعلاوه آزمون ایمیونو فلورسنت آنتی‌بادی و الیزا برای مطالعات اپیدمیولوژیک استفاده شده است (۵۲). تمام این آزمون‌ها برای تشخیص آنتی‌بادی بر اساس آنتی‌ژن خالص شده از آناپلازما مارجیناله بوده است و فاقد حساسیت و ویژگی قابل اعتماد نسبت به آزمایش‌های ملکولی می‌باشند (۴۰).

۱- آزمون ثبوت مکمل

در ایالات متحده برای تشخیص حاملان روش ثبوت مکمل ابداع شد. این واکنش در گاو، گوسفند و بز نتایج رضایت بخشی داشته است. عیار پادتن در حیواناتی که در مرحله حاد بیماری هستند کاملاً بالاست ولی در حیوانات حامل پایین است و ممکن است در عده‌ای هم قابل تشخیص نباشد. در این آزمون ندرتاً در حیوان غیرآلوده نیز واکنش مثبت دیده شده که دلیل آن معلوم نیست. حیوانات واکسینه تا مدت یک سال در برابر تمام آزمایشات سرمی واکنش مثبت نشان می‌دهند. اگر چه برای چندین سال از این آزمون جهت تشخیص آناپلازموزیس استفاده می‌شد ولی این آزمون فاقد حساسیت و دارای نقص در تشخیص گاوهای حامل می‌باشد (۵۲، ۴۳).

۲- آزمون کارد آگلوتیناسیون

مزایای این آزمون حساسیت مورد قبول و امکان انجام در آزمایشگاه و مزرعه و دستیابی به نتایج در کمتر از پنج دقیقه می‌باشد (۲۶، ۵۲).

۳- آزمون الیزای رقابتی (Competitive enzyme-linked immunosorbent assay)

این آزمون با استفاده از آنتی‌ژن نوترکیب MSP۵ و آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی MSP۵ طراحی شده و حساسیت و ویژگی بالایی در تشخیص حیوانات آلوده به آناپلازما دارد (۵۲). تمام گونه‌های آناپلازما مارجیناله، آناپلازما اوویس و آناپلازما سنتراله آنتی‌ژن MSP۵ را بیان می‌کنند که حاوی اپی‌توپی است که توسط آنتی‌بادی منوکلونال MSP۵ مورد شناسایی قرار می‌گیرد و تحریک‌کننده ایمنی است. در آزمایش‌های انجام شده حساسیت این آزمون ۱۰۰ درصد و ویژگی این آزمون ۹۵ درصد ذکر شده است. اگرچه این آزمون توسط سازمان جهانی بهداشت دام جهت تشخیص آناپلازموزیس گاو توصیه شده است ولی با این آزمون نمی‌توان گونه‌های مختلف را از همدیگر تفریق نمود (۵۲، ۱۸). راه‌اندازی آزمون الیزای رقابتی با استفاده از پروتئین سطحی نوترکیب (rMSP۵) نشان داده است که این آزمون سرولوژیکی حساسیت بالایی جهت تشخیص آناپلازموزیس در نواحی مختلف و جداگانه جغرافیایی دارد. ژن MSP۵ در تمام ایزوله‌های جغرافیایی آناپلازما مارجیناله بدون تغییر است و ثابت شده که یک آنتی‌ژن تشخیصی خوب است (۵۲).

چرخه زندگی

چرخه زندگی آناپلازما مارجیناله در گنه‌ها پیچیده است و متناسب با سیکل تغذیه گنه می‌باشد. گلبول‌های قرمز گاو با خون‌خواری وارد بدن گنه شده و منبع آلودگی برای سلول‌های روده گنه می‌باشند. پس از رشد آناپلازما مارجیناله در سلول‌های روده گنه بسیاری از بافت‌های گنه مثل غدد بزاقی (محلی که ریکتیا در هنگام تغذیه به مهره‌داران انتقال می‌یابد) آلوده می‌شوند. در هر نقطه آلوده بدن گنه آناپلازما مارجیناله بصورت واکوئول‌ها یا کلونی‌های متصل به غشاء تکثیر می‌یابد. اولین فرم آناپلازما مارجیناله فرم رویشی (vegetative) است که به صورت دوتایی تقسیم می‌شود و ایجاد کلنی‌هایی می‌کند که حاوی صدها ارگانسم است. فرم شبکه‌ای (reticulated) سپس به فرم متراکم (dens) تبدیل می‌شود که فرم عفونی است و می‌تواند خارج از سلول‌های میزبان باشد. گاوها هنگامی به بیماری مبتلا می‌شوند که فرم متراکم در طول تغذیه گنه از غدد بزاقی به حیوان منتقل شود (۲۸، ۲۶) (شکل ۲).

تشخیص بیماری

شناسایی مستقیم عامل بیماری

تشخیص اجسام آناپلازما در گسترش‌های خون و در زیر میکروسکوپ با رنگ‌آمیزی به طرق مختلف بخصوص گیمسا ممکن است در روزهای اول قطعی نباشد، از روش‌های مختلف رنگ‌آمیزی مثل آبی تولوئیدین (Toluidin) و آکریدین (Acridine) نیز استفاده شده است، در بعضی از این رنگ‌آمیزی‌ها اجسام معروف به هاوول جولی بادی (Howell jolly body) که در حقیقت اسیدنوکلئیک گویچه‌های قرمز نارس می‌باشند و شباهت زیادی به آناپلازما دارند نیز رنگ می‌گیرند (۴۰، ۵۲). برخلاف بازیا بوویس، آناپلازما مارجیناله در مویرگ‌ها تجمع نمی‌یابد و بهترین مکان‌ها برای نمونه‌گیری خون و تهیه گسترش خونی، رگ وداج و رگ‌های بزرگ می‌باشند (۴۰، ۵۲).

مشاهده آناپلازما در داخل گلبول قرمز در گسترش خون پس از رنگ‌آمیزی با گیمسا معمول‌ترین وسیله تشخیص بیماری است ولی باید مراقب بود ذرات رنگ در گسترش رسوب نکند و با آناپلازما اشتباه نشود. پس از رنگ‌آمیزی با یکی از روش‌های رومانوسکی، آناپلازما در درون گویچه‌های قرمز با ساختمان همگن و گرد به قطر ۰/۳ تا ۱ میکرون به رنگ آبی ارغوانی دیده می‌شود (۵۲). تشخیص زمانی دارای اعتبار است که در گسترش‌های مناسب و با رنگ‌آمیزی خوب انجام شود. در صورتی که تعداد آناپلازما در خون کم باشد با تزریق آن به حیواناتی که برای این منظور طحال آن‌ها برداشته شده و استفاده از خون آن‌ها می‌توان این اجسام را در گسترش مشاهده نمود. در آزمایش خون می‌توان به عوارض کم‌خونی از قبیل اختلاف ابعاد و اشکال گویچه‌ها و رنگ‌پذیری مخصوص در برخی گویچه‌ها توجه کرد (۳۸، ۳).

در دام‌های تلف شده می‌توان از کبد، کلیه، قلب و ریه گسترش خونی نازک تهیه نمود و پس از رنگ‌آمیزی مورد بررسی قرار داد. از روش رنگ‌آمیزی فلورسنت آنتی‌بادی نیز می‌توان برای تشخیص آلودگی پس از مرگ استفاده نمود. حساسیت این روش بیشتر از رنگ‌آمیزی گیمسا است ولی غیراختصاصی می‌باشد. با این حال در تشخیص بیماری آناپلازموزیس باید به مواردی نظیر تاریخچه واگیری، سابقه بیماری در منطقه و وجود

۴- آزمون الیزای غیرمستقیم (Indirect enzyme-linked immunosorbent assay)

آزمون الیزای غیرمستقیم بر پایه استفاده از گلوبول قرمز طبیعی به عنوان آنتی ژن منفی و گلوبول قرمز آلوده به آنپلازما مارچیناله به عنوان آنتی ژن مثبت استوار است و برای تشخیص سرم‌های مثبت آنپلازما مارچیناله قابل اعتماد است. اگر چه این آزمون نسبت به آزمون‌های تک آنتی ژنی دشوارتر است ولی این آزمون واکنش‌های غیراختصاصی ناشی از ایزو آنتی بادی‌هایی که علیه اجزاء گلوبول‌های قرمز ایجاد می‌شود را حذف می‌کند (۵۲).

۵- آزمون دات‌الیزا (Dot enzyme-linked immunosorbent assay)

دات ایزا نسبت به الیزا سریع‌تر، ارزان‌تر و راحت‌تر انجام خواهد شد. دات الیزا حساسیت ۹۳ درصد و ویژگی ۹۶ درصد دارد (۶).

روش‌های ملکولی

استفاده از تکنیک‌های ملکولی در تشخیص گونه‌های آنپلازما در خون دام‌ها و کهنه در حال افزایش است. در مطالعات اخیر آنالیز توالی ژن ۱۶S rRNA جهت تعیین گونه در نمونه‌های خونی راحت و مناسب تشخیص داده شده است (۴۰). اریک و همکاران در سال ۱۹۸۹ کاوشگری را طراحی کردند که اختصاصی ژن آنپلازما مارچیناله بود و می‌توانست ۵۰۰ الی ۱۰۰۰ گلوبول قرمز را در نیم میلی‌لیتر خون تشخیص دهد که معادل ۰/۰۰۰۲۵ درصد پارازیتمی بود. این روش ۴۰۰۰ برابر حساس‌تر از میکروسکوپ نوری است (۲۰). توریونی و همکاران در سال ۱۹۹۸ نشان دادند nPCR توانایی تشخیص کمتر از ۳۰ گلوبول قرمز آلوده را در میلی‌لیتر دارد و تشخیص گاوهایی با آلودگی پایدار و سطح پایین ریکتزما با nPCR امکان‌پذیر است. گتورگ و همکاران در سال ۲۰۰۱ و بکر و همکاران در سال ۲۰۰۲ با استفاده از قسمت (V1) ۱۶SrRNA اریلیشیا و آنپلازما آزمایش RLB طراحی نمودند و ادعا کردند که در این روش در بین گونه‌های مختلف واکنش متقابلی دیده نمی‌شود ولی این روش برای تعیین حیوانات حامل توانایی کمی دارد (۲۱). کارلی و همکاران در سال ۲۰۰۷ آزمایش real time PCR را جهت تشخیص آلودگی آنپلازما مارچیناله گاو پایه‌گذاری کردند که بسیار اختصاصی بود و واکنش متقابلی در گونه‌های آنپلازما نشخوارکنندگان دیده نشد. محدودیت‌های تشخیصی در خصوص real time PCR مانند n-PCR بود. در این تحقیق هماهنگی بین real time PCR و n-PCR ۱۰۰ درصد ارزیابی شد (۱۱). مولاد و همکاران در سال ۲۰۰۶ نشان دادند که RLB و n-PCR می‌توانند تا ۵۰ گلوبول قرمز آلوده را در یک میلی‌لیتر خون تشخیص دهند (۳۲). در ایران تا سال ۲۰۰۹ مطالعات در خصوص شناسایی گونه‌های آنپلازما منحصر به بررسی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده با گیمسا بوده است. نعمان و شایان در سال ۲۰۱۰ و نعمان در سال ۲۰۱۳ با استفاده از قسمت (V1) ژن ۱۶SrRNA روش RFLP-PCR را در خصوص شناسایی آنپلازما مارچیناله ابداع نمودند که می‌توانست آنپلازما مارچیناله را از آنپلازما اوویس و آنپلازما سنتراله تفریق کند (۴۳، ۴۶). در مقایسه مشاهده میکروسکوپی (۵۰ و ۱۰۰ فیلد) و آزمون ملکولی انجام شده توسط نعمان و شایان در سال ۲۰۱۰ به ترتیب آزمون‌های بررسی ۵۰ و ۱۰۰ فیلد میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی شده دارای حساسیت ۲۸/۸ و ۹۱/۴ درصد و ویژگی ۹۹ و ۷۶/۱ درصد بودند (۴۰).

ایمنی در آنپلاسموزیس

بررسی‌های زیادی از نظر پیدایش ایمنی در آنپلاسموزیس انجام یافته و اطلاعات قابل توجهی بدست آمده است. بطور کلی نظر محققانی مثل ریستیک و بوئینگ و دیگران آن است که عفونت شدید حاصل از آنپلازما مارچیناله موجب ایجاد واکنش ایمنی هومورال و سلولی می‌شود. تزریق واکسن‌های غیرفعال توأم با مواد روغنی (یاور) منتج به پاسخ پادتنی و همچنین حساسیت پوستی می‌شود و این حالات تا حدودی در ارتباط با ترکیبات آنتی‌ژن‌های حاصل از گویچه‌های قرمز می‌باشد در حالی که تلقیح واکسن زنده موجب ایمنی در مقابل آنپلازما می‌شود ولی حساسیت پوستی ایجاد نمی‌کند (۲۸، ۲۷).

بطور کلی حالات ایمنی در مقابل آنپلاسموزیس بدین‌گونه تعریف می‌شود:

الف - مقاومت طبیعی مربوط به نوع حیوان: این حالت مربوط به عدم حساسیت گونه‌هایی از حیوانات می‌باشد که بطور ذاتی در مقابل آنپلازما مقاومند، مانند خرگوش که به هیچ وجه نمی‌توان آن را مبتلا کرد.

ب - مقاومت طبیعی ناشی از خصوصیات انتقالی یا ارثی برخی از حیوانات حساس مثل دام‌های جوان که با عفونت آنپلازمایی مواجه گشته ولی نشانه‌های بیماری ظاهر نمی‌شود. علت این مقاومت طبیعی روشن نیست و چنین بیان می‌کنند که در این حیوانات نسبت تراکم بافت رتیکولاندوتلیال به وزن بدن حیوان بیش از دام‌های پیر است و قدرت فعالیت سازندگی گویچه‌های قرمز و جانشین کردن آن‌ها بیشتر است (۲۸).

ج - ایمنی اکتسابی در آنپلاسموزیس: ایمنی اکتسابی به حالتی می‌گویند که در اثر مواجه شدن دام با آنتی ژن‌های آنپلازمایی حاصل شده باشد. این برخورد از راه‌های مختلف تأمین می‌شود، مثلاً با تزریق خون آلوده و تحت درمان قرار دادن دام در فواصل معین، در این حالت ایمنی پس از آلودگی قبلی تأمین می‌شود و یا چنین حالتی را با تزریق خود اجسام آنپلازمایی غیرفعال و یا آنتی‌ژن‌های آن‌ها در حیوان سالم بوجود می‌آورند. در این صورت ایمنی بدون تولید عفونت حاصل شده است و یا نوعی دیگر ایمنی دیده می‌شود و آن هم در اثر بقای عفونت در حیوانی است که در مقابل آلودگی اولیه مقاومت کرده است، چنین حالتی که دام را در مقابل عفونت‌های ثانویه در امان نگه می‌دارد، پیش زینهاری می‌نامند (۲۸، ۲۷).

د- بقایای آنپلازما در بدن میزبان پیش زینهاری یافته: ضمن اینکه پیدایش ایمنی ادامه زندگی میزبان را امکان‌پذیر می‌سازد، موجب نشو و نما و مداوم و انتقال آنپلازما نیز می‌شود. حالت تعادل زیستی بین انگل که آن را همزیستی متحمل (Tolerant symbiosis) نیز نامیده‌اند، بقای انگل را تضمین نموده و در مقابل، میزبان نیز در برابر آنپلازمایی مشابه که در محیط زیست دام یافت می‌شود به نحوی در امان می‌ماند. مکانیسم یا طرز عمل آنپلازما به منظور جلوگیری از انهدام خود در بدن میزبان ایمن، متفاوت است. آنپلازما انگل اجباری درون سلولی است و در این شرایط در مقابل اثر مستقیم و نفوذ پادتن بخونی حفظ می‌شود (۲۸، ۲۷). آنپلازما مارچیناله باعث عفونت پایدار می‌شوند که برای انتقال ارگانیسم از طریق کنه به حیوانات حساس بسیار مهم می‌باشد. دلیل توانایی ایجاد عفونت پایدار بعلت تنوع ژنتیکی وسیع در پروتئین ایمنی‌زای سطحی

انجام می‌شود. هنگامی که به غذا اضافه می‌شوند یا از طریق مکمل‌های غذایی داده می‌شوند دادن مقادیر یکسان دارو به هر گاو مشکل است. تتراسایکلین‌ها بطور وسیعی در برخی از مناطق آمریکا استفاده می‌شوند اما بندرت در دیگر نواحی دنیا استفاده شده‌اند. در آمریکا، آنتی‌بیوتیک‌ها ابزار کنترلی مهمی می‌باشند زیرا واکسن‌های کشته در بازار وجود ندارند. اگرچه مقاومت آنپلاسمازموزیس نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها هنوز گزارش نشده است ولی تجویز تتراسایکلین دارای معایبی است که شامل نیاز به تغذیه مداوم از آنتی‌بیوتیک و خطر گسترش مقاومت نسبت به آنپلاسمازموزیس می‌باشد (۲۷، ۲۸).

ج- پاک نگه داشتن گله از آنپلاسما مارجیناله

با توجه به اینکه گاوهای حامل منبع عفونت برای گله می‌باشند در نواحی که آنپلاسمازموزیس اندمیک نیست با جلوگیری از ورود گاوهای حامل آنپلاسمازموزیس به گله کنترل آنپلاسمازموزیس امکان‌پذیر است. این روش کنترلی به علت عدم وجود آزمون‌های سرولوژیکی با حساسیت بالا که بتوانند سطوح پائین عفونت را در گاوهای حامل تشخیص دهند با مشکل مواجه شده است (۲۸، ۵۲).

د- واکسیناسیون

به علت ایجاد ایمنی طولانی مدت، از واکسیناسیون بطور وسیعی برای کنترل آنپلاسمازموزیس در اغلب نقاط دنیا استفاده شده است و این روش مؤثرترین روش کنترلی برای آنپلاسمازموزیس است. واکسیناسیون با واکسن‌های زنده و مرده باعث جلوگیری از ابتلا و مرگ و میر ناشی از بیماری می‌شود ولی باعث جلوگیری از آلوده شدن پس از رویارویی با عامل بیماری نمی‌شود. بنابراین گاوهای ایمنی‌شده می‌توانند با کسب عفونت‌های مزمنه‌ای، عفونت پایدار ایجاد نموده و ممکن است بعنوان مخزن آنپلاسما مارجیناله برای انتقال بیولوژیکی و مکانیکی باشند. خون آلوده منبع آلودگی یا آنتی‌ژنتیکی واکسن‌های زنده و کشته آنپلاسمازموزیس می‌باشد. واکسن‌های مشتق از خون دارای مضراتی می‌باشند زیرا استاندارد کردن آن‌ها مشکل است و خطر انتقال دیگر عوامل بیماری‌زای گاو که در هنگام جمع‌آوری خون بصورت مخفی می‌باشند را دارند. علاوه بر این در تولید واکسن‌های کشته مشتق از خون، جداسازی سلول‌های گاو از آنتی‌ژن و تخلیص آنتی‌ژن دشوار است و این مواد ممکن است باعث اثرات جانبی شوند. از همه مهم‌تر اینکه جدایه‌های آنپلاسما مارجیناله در هر منطقه اغلب ایمنی محافظتی نسبت به دیگر جدایه‌ها ایجاد نمی‌کنند و واکسن تولید شده ممکن است محدود به منطقه جغرافیایی خاص باشد (۲۷، ۲۸).

نتیجه گیری

بر اساس آمار معاونت امور تولیدات دامی وزارت جهاد کشاورزی در سال ۱۳۹۴ تعداد ۱۰۳۲۰۰۰ گاو اصل، ۴۳۱۵۰۰۰ گاو آمیخته، ۲۸۴۲۰۰۰ گاو بومی، ۲۰۴۰۰۰ گاو میش، ۱۷۱۰۰۰ شتر، ۴۷۹۳۱۰۰۰ گوسفند و ۱۹۹۶۷۰۰۰ بز در ایران وجود داشته است. که این جمعیت دامی ۹۱۴۰ هزار تن شیر و ۸۰۶ هزار تن گوشت قرمز را در سال ۱۳۹۴ تامین کرده‌اند (۵۰). حفظ و نگهداری این جمعیت دامی جهت تامین امنیت غذایی از

MSP^۲ و MSP^۳ برای آنپلاسما مارجیناله می‌باشد و بدین ترتیب از پاسخ ایمنی میزبان فرار می‌کنند. در طول عفونت پایدار، آنپلاسما مارجیناله بطور متوالی اپیتوپ‌های پروتئین MSP^۲ که به سلول‌های B و T ارائه می‌شوند را تغییر داده و از تاثیر IgG^۲ و سلول‌های T cell CD^۴ + که قبلاً تولید شده بودند می‌گریزد (۹).

اقدامات کنترلی آنپلاسمازموزیس

اقدامات کنترلی برای آنپلاسمازموزیس در طول ۵۰ سال گذشته تغییر مشخصی پیدا نکرده است. اقدامات کنترلی اخیر با موقعیت جغرافیایی تغییر می‌یابد و شامل کنترل بندپایان بوسیله استفاده از سموم کنه‌کش، تجویز آنتی‌بیوتیک، پاک نگهداشتن گله از آنپلاسما و واکسیناسیون است. استفاده از روش‌های کنترلی تحت تأثیر در دسترس بودن ابزار، هزینه و عملی بودن کار می‌باشد (۲۷، ۲۸).

الف- کنترل بندپایان

کنترل بندپایان برای آنپلاسمازموزیس شامل کنترل کنه‌ها و مگس‌های گزنده است که شدیداً پرزحمت و پرهزینه می‌باشد. آلودگی محیط بوسیله سموم مسأله‌ی بسیار مهمی است و تکرار استفاده از کنه‌کش‌ها می‌تواند باعث ایجاد مقاومت در جمعیت کنه‌ها و مگس‌ها و باعث افزایش خطر ایجاد جمعیت گاوهای حساس شود. در نواحی و مناطق اندمیک قطع استفاده از کنه‌کش‌ها اجازه می‌دهد که گاوهای حساس در خطر آلوده شدن قرار گیرند و این ممکن است به شیوع وسیع بیماری منجر شود. اگرچه در آفریقا از کنه‌کش‌ها جهت کنترل کنه بطور گسترده‌ای استفاده می‌شود، ولی در ایالات متحده آمریکا در مناطقی که بطور همزمان کنه‌ها و مگس‌های گزنده در گسترش آنپلاسمازموزیس دخیل می‌باشند این روش بندرت استفاده می‌شود (۲۷، ۲۸).

طبیعی است برای از بین بردن کنه‌ها بر اساس چرخه زندگی آن‌ها روش‌های متفاوتی باید بکار برده شود تا بازدهی لازم را داشته باشد. در مورد کنه‌های یک میزبان بکارگیری سمپاشی یا حمام ضدکنه به فواصل هر ۲۱ روز یا هر ۱۲ روز یکبار، مبارزه بسیار مؤثر و سطح بالایی خواهد بود که هر چه این فواصل بیشتر شود مبارزه در سطح پایین‌تری خواهد بود. در مجموع اینگونه بنظر می‌رسد که برای مبارزه با کنه‌های چند میزبان لازم است در مناطق آلوده هفته‌ای یکبار سمپاشی شود تا تمام کنه‌ها از بین بروند. برای مبارزه با کنه‌های نرم چون فقط دوره کوتاهی در بدن دام بصورت انگل بسر می‌برند باید در محل اختفای آن‌ها اقدام کرد و آن‌ها را در پناگاه خود از بین برد. می‌توانیم برای این کار محل کنه‌ها را با یک کنه‌کش غلیظ آغشته کنیم و می‌توان این کنه‌ها را از پناگاه خود بیرون کشید و سپس آن‌ها را نابود کرد (۲۶، ۲۸).

ب- درمان

درمان دارویی از آنپلاسمازموزیس کلینیکی جلوگیری می‌کند ولی گاوها را از عفونت‌های پایدار با آنپلاسما مارجیناله حفظ نمی‌کند. علاوه بر این گاوهایی که آنتی‌بیوتیک درمانی می‌شوند ممکن است از آلودگی پاک نشوند.

تجویز تتراسایکلین‌ها به گاو از طریق تزریق، خوراکی یا مکمل‌های غذایی

novel genetic variants' identification of *Anaplasma marginale*, *A. centrale* and *A. bovis* in cattle from Tunisia. *Infection Genetics and Evolution* 34:361-371.

9. Brown, W.C. 2008. Unraveling the immune regulatory mechanisms imposed by *Anaplasma*. *Veterinary Journal* 175(1):1-10.

10. Canever, M.F., L. L.Vieira, C. Reck, L. Richter and L.C. Milletti. 2014. First evaluation of an outbreak of bovine babesiosis and anaplasmosis in Southern Brazil using multiplex PCR. *The Korean journal of parasitology* 52(5):507.

11. Carelli, G., N. Decaro, A. Lorusso, G. Elia, E. Lorusso, V. Mari, L. Ceci and C. Buonavoglia. 2007. Detection and quantification of *Anaplasma marginale* DNA in blood samples of cattle by real-time PCR. *Veterinary Microbiology* 124:107-104.

12. Costa, V. M. D. M., M. F. B. Ribeiro, A. L. L. Duarte, J. M. Manguera, A. F. A. Pessoa, S. S. Azevedo and M. B. Labruna. 2013. Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22(2): 207-213

13. da Silva, J. B. and A. H. da Fonseca. 2013. Analysis of the risk factors related to the immune humoral anti-*Anaplasma marginale* in dairy cattle. *Semina: Ciências Agrárias*, 34(2): 777-784

14. da Silva, J. B., G. N. de Santana Castro and A. H. Fonseca. 2014. Longitudinal study of risk factors for anaplasmosis and transplacental transmission in herd cattle. *Semina: Ciências Agrárias*, 35(4Supl): 2491-2500

15. da Silva, J. B., and A. H. da Fonseca. 2014. Risk factors for anaplasmosis in dairy cows during the peripartum. *Tropical animal health and production*, 46(2): 461-465

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

17. de la Fuente, J., R. A. Van Den Bussche, T. Prado and K. M. Kocan 2003. *Anaplasma marginale* major surface protein 1 genotypes evolved under positive selection pressure but are not a marker for geographic isolates. *Journal of Clinical Microbiology* 41:1609-1616.

18. Dreher, U.M., J. de la Fuente, R. Hofmann-Lehmann, M. L. Meli, N. Pusterla, N., K. M. Kocan, Z. Woldehiwet, U. Braun, G. Regula, K. D. C. Staerk and H. Lutz. 2005. Serologic cross reactivity between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 12:1177-1183.

19. Dumler, J. S., A. F. Barbet, C. P. J. Bekker, G. A. Dasch, G. H. Palmer, S. C. Ray, Y. Rikihisa and F. R. Rurangirwa. 2001. Reor-

وظایف وزارت جهاد کشاورزی می‌باشد. بیماری‌های منتقله از کهنه از جمله آنپلاسموزیس یکی از بیماری‌هایی است که این جمعیت دامی را مورد تهدید قرار داده است ولی در ایران اطلاعات ناچیزی در خصوص اپیدمیولوژی بیماری در دسترس است. با توجه به شیوع نسبتاً بالای (۲۵ درصدی) آنپلازما مارجیناله در گاوهای ایران لازم است تدابیر خاصی در خصوص این بیماری اندیشیده شود. اگر چه ریشه‌کنی این بیماری در اکثر کشورها از جمله ایران در حال حاضر عملی بنظر نمی‌رسد ولی جهت کنترل بیماری در مناطق آلوده رعایت موارد زیر ضروری است:

۱. شناسایی ناقلین آنپلازما مارجیناله به روش‌های ملکولی
۲. کنترل و ریشه‌کنی ناقلین بیماری با سم‌پاشی و کنترل بیولوژیکی
۳. دقت در عدم انتقال عامل بیماری با وسایل تزریق یا جراحی و تعویض و استریل کردن لوازم و وسایل برای استفاده در هر مورد
۴. دقت در انتقال گله‌های حساس به مناطق پر خطر و یا انتقال دام‌های بیمار و ناقل به مناطق عاری از بیماری
۵. انجام تحقیقات جهت بومی‌سازی ساخت کیت تشخیص سرمی آنپلازما
۶. انجام تحقیقات جهت ساخت واکسن ضد آنپلازما مارجیناله
۷. تاسیس آزمایشگاه ملی تشخیص آنپلازما و ریکتزیا

منابع مورد استفاده

1. Aktas, M., K. Altay and N. Dumanli. 2011. Molecular detection and identification of *Anaplasma* and *Ehrlichia* species in cattle from Turkey. *Ticks and tick-borne diseases* 2(1):62-65.
2. Amorim, L.S., A. A. Wenceslau, F. S. Carvalho, P. L. S. Carneiro and G. R. Albuquerque. 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.
3. Atif, F. A., M. S. Khan, H. J. Iqbal and T. Roheen. 2012. Prevalence of tick-borne diseases in Punjab (Pakistan) and hematological profile of *Anaplasma marginale* infection in indigenous and cross-bred cattle. *Pakistan Journal of Science* 64:11-15.
4. Atif, F. A., M. S. Khan, F. Muhammad, and B. Ahmad. 2013. Seroepidemiological study of *Anaplasma marginale* among cattle. *Journal of Animal and Plant Sciences* 23:740-744.
5. Atif, F.A., 2015. *Anaplasma marginale* and *Anaplasma phagocytophilum*: Rickettsiales pathogens of veterinary and public health significance. *Parasitology research* 114(11): 3941-3957.
6. Aubry, P. and D. W. Geale. 2011. A review of bovine anaplasmosis. *Transboundary and emerging diseases* 58:1-30.
7. Awad, H., S. Antunes, R. C. Galindo, V. E. do Rosario, J. De la Fuente, A. Domingos and El Hussein, A. M. 2011. Prevalence and genetic diversity of Babesia and Anaplasma species in cattle in Sudan. *Veterinary parasitology* 181(2):146-152.
8. Belkahia, H., M. B. Said, A. Alberti, K. Abdi, Z. Issaoui, D. Hat-tab, M. Gharbi and L. Messadi. 2015. First molecular survey and

- ganization of the genera in the families Rickettsiaceae and Anaplasmataceae in the order Rickettsiales: unification of some species of Ehrlichia with Anaplasma, Cowdria with Ehrlichia and Ehrlichia with Neorickettsia, descriptions of six new species combinations and designation of Ehrlichia equi and "HGE agent" as subjective synonyms of *Ehrlichia phagocytophila*. *The International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* 51:2145-2165.
20. Eriks, I. S., G. H. Palmer, T. C. McGuire, D. R. Allred and A. F. Barbet. 1989. Detection and quantitation of *Anaplasma marginale* in carrier cattle by using a nucleic acid probe. *Journal of Clinical Microbiology* 27(2):279-84.
21. Georges, K., G.R. Loria, S. Riili, A. Greco, S. Caracappa, F. Jongejan and O. Sparagano. 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):273-86.
22. Hairgrove, T., M. E. Schroeder, C. M. Budke, S. Rodgers, C. Chung, M. W. Ueti and M. A. Bounpheng. 2015. Molecular and serological in-herd prevalence of *Anaplasma marginale* infection in Texas cattle. *Preventive veterinary medicine* 119(1):1-9.
23. Hairgrove, T.B., T. M. Craig, C. M. Budke, S. J. Rodgers and R. J. Gill. 2014. Seroprevalence of *Anaplasma marginale* in Texas cattle. *Preventive veterinary medicine* 116(1):188-192.
24. Hamou, S.A., T. Rahali, H. Sahibi, D. Belghyti, B. Losson, W. Goff and A. Rhalem. 2012. Molecular and serological prevalence of *Anaplasma marginale* in cattle of North Central Morocco. *Research in veterinary science* 93(3):1318-1323.
25. Kivaria, F.M., A. M. Kapaga, G. K. Mbassa, P. F. Mtui and R. J. Wani. 2012. Epidemiological perspectives of ticks and tick-borne diseases in South Sudan: Cross-sectional survey results. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research* 79(1):1-10.
26. Kocan, K. M., J. de la Fuente, A. A. Guglielmono and R. D. Melendez. 2003. Antigens and Alternatives for Control of *Anaplasma marginale* Infection in Cattle. *Clinical Microbiology Reviews* 16(4):698-712.
27. Kocan, K. M., E. F. Blouin and A. F. Barbet. 2000. Anaplasmosis control: past, present and future. *Annals of the New York Academy of Sciences* 916:501-509.
28. Kocan, K.M., J. de la Fuente, E.F. Blouin, J.F. Coetzee and S. A. Ewing. 2010. The natural history of *Anaplasma marginale*. *Veterinary parasitology* 167:95-107.
29. Kocan, K.M., J. de la Fuente, D.L. Step and E.F. Blouin. 2010. Current challenges of the management and epidemiology of bovine anaplasmosis. *Bovine Practice*, 44:93-102.
30. Kubelova, M., J. Mazancova and P. Siroky. 2012. Theileria, Babesia, and Anaplasma detected by PCR in ruminant herds at Bié Province, Angola. *Parasite* 19(4):417.
31. Lew, A. F., K. R. Gale, C. M. Minchin, V. Shkap and V. de Waal. 2003. Phylogenetic analysis of the erythrocytic *Anaplasma* species based on 16S rDNA and GroEl (HSP60) sequences of *A. marginale*, *A. centrale*, and *A. ovis* and the specific detection of *A. centrale* vaccine strain. *Veterinary Microbiology* 20:145-160.
32. Molad, T., M. L. Mazuz, L. Fleiderovitz, L. Fish, I. Savitsky, Y. Krigel, B. Leibovitz, J. Molloy, F. Jongejan and V. Shkap. 2006. Molecular and serological detection of *A. centrale* and *A. marginale* infected cattle grazing within an endemic area. *Veterinary Microbiology* 113(1-2):55-62.
33. Moumouni, P.F.A., G. O. Aboge, M. A. Terkawi, T. Masatani, S. Cao, K. Kamyngkird, C. Jirapattharasate, M. Zhou, G. Wang, M. Liu and A. Iguchi. 2015. Molecular detection and characterization of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina*, Theileria species and *Anaplasma marginale* isolated from cattle in Kenya. *Parasites and vectors* 8(1):1.
34. Mutshembele, A.M., A. Cabezas-Cruz, M. S. Mtshali, O. M. Thekiso, R. C. Galindo and J. de la Fuente. 2014. Epidemiology and evolution of the genetic variability of *Anaplasma marginale* in South Africa. *Ticks and tick-borne diseases* 5(6):624-631.
35. Nair, A.S., R. Ravindran, B. Lakshmanan, C. Sreekumar, S. S. Kumar, R. Raju, P. V. Tresamol, M. B. Vimalkumar and M. R. Saseendranath. 2013. Bovine carriers of *Anaplasma marginale* and *Anaplasma bovis* in South India. *Tropical biomedicine* 30(1):105-112.
36. Njiiri, N. E., N. E. Collins, H. C. Steyn, M. Troskie, I. Vorster, S. M. Thumbi, K. P. Sibeko, A. Jennings, I. C. van Wyk, M. Mbole-Kariuki and H. Kiara. 2015. The epidemiology of tick-borne haemoparasites as determined by the reverse line blot hybridization assay in an intensively studied cohort of calves in western Kenya. *Veterinary parasitology* 210(1):69-76.
37. Noaman, V., S. Arabzadeh and B. Kachooei. 2002. A study on Anaplasmosis in cattle of Falavarjan city, Isfahan province (1995-2000). *Pajouhesh – Va- Sazandegi* 51:10-12.
38. Noaman, V., P. Shayan, and N. Amininia. 2009. Molecular diagnostic of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Parasitology* 4(1): 31-38.
39. Noaman, V., and P. Shayan. 2009. Molecular detection of *Anaplasma phagocytophilum* in carrier cattle of Iran - first documented report. *Iranian Journal of Microbiology* 1(2): 37-42.
40. Noaman, V., and P. Shayan. 2009. Comparison of Microscopic methods and PCR-RFLP for detection of *Anaplasma marginale* in carrier cattle. *Iranian Journal of Microbiology* 2(2): 89-94.
41. Noaman, V., P. Shayan and A. H. Shahmoradi. 2010. Detec-

- tion of *Anaplasma ovis* based on 16S rRNA gene by PCR-RFLP in sheep from central part of Iran. *Journal of Veterinary Medicine and Laboratory* 1(1): 27-37.
42. Noaman, V., and P. Shayan. 2010. Molecular detection of *Anaplasma bovis* in cattle from central part of Iran. *Veterinary Research Forum* 1(2): 117-122.
43. Noaman, V., and P. Shayan. 2010. A new PCR-RFLP method for detection of *Anaplasma marginale* based on 16S rRNA. *Veterinary Research Communications* 34(1): 43-50.
44. Noaman, V. 2012. Identification of hard ticks collected from sheep naturally infected with *Anaplasma ovis* in Isfahan province, central Iran. *Comparative Clinical Pathology* 21, 367-369.
45. Noaman, V. 2013. Report of *Anaplasma centrale* (Amori strain) in cattle in Iran. *Veterinary Journal (Pajouhesh and Sazandegi)* 98: 26-29.
46. Noaman, V. 2013. Discrimination between *Anaplasma marginale* and *Anaplasma ovis* by PCR-RFLP. *World Applied Sciences Journal* 21(2): 190-195.
47. Noaman, V., A. R. Hatami, S. Esmailkhanian, A. H. Shahmoradi and M. R. Heidari. 2015. Molecular detection of Anaplasma species in cattle and sheep of Iran. Final report of national research project. Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO). Tehran, Iran.
48. Noaman, V., and D. Bastani. 2016. Molecular study on infection rates of *Anaplasma ovis* and *Anaplasma marginale* in sheep and cattle in West-Azerbaijan province, Iran. *Veterinary Research Forum* 7 (2): 163 – 167.
49. Noaman, V., A. Nabinejad, A. Shahmoradi and S. Esmailkhanian. 2016. Molecular detection of bovine leukocytic Anaplasma species in Isfahan, Iran. *Research in Molecular Medicine* 4 (2): 47-51.
50. Ministry of Jihad-e-Agriculture. 2015. Deputy for animal production affairs. Available online at: <http://dla.agri-jahad.ir/Portal/Home/>
51. Ochirkhuu, N., S. Konnai, C. N. Mingala, T. Okagawa, M. Villanueva, F. M. I. R. Pilapil, S. Murata and K. Ohashi. 2015. Molecular epidemiological survey and genetic analysis of vector-borne infections of cattle in Luzon Island, the Philippines. *Veterinary parasitology* 212(3):161-167.
52. OIE. 2012. World Organization for Animal Health. OIE terrestrial manual, Section 2.4. Bovinae, In: Chapter 2.4.1. *Bovine anaplasmosis*; Paris, France, 589-600.
53. Rahman, A. S. M. S., S. M. M. R. Sumon, M. A. H. N. A. Khan and M. T. Islam. 2015. Current status of subclinical form of babesiosis and anaplasmosis in cattle at Rangpur district in Bangladesh. *Progressive Agriculture*, 26(1): 51-59.
54. Rikihisa, Y., 2011. Mechanisms of obligatory intracellular infection with *Anaplasma phagocytophilum*. *Clinical microbiology reviews* 24:469-489.
55. Sajid, M. S., R. M. Siddique, S. A. Khan, Z. Iqbal, and M. N. Khan. 2014. Prevalence and Risk Factors of Anaplasmosis in Cattle and Buffalo Populations of District Khanewal, Punjab, Pakistan. *Global Veterinaria* 12 (1): 146-153.
56. Sharma, A., L. D. Singla, P. Kaur and M. S. Bal. 2015. PCR and ELISA vis-a-vis Microscopy for Detection of Bovine Anaplasmosis: A Study on Associated Risk of an Upcoming Problem in North India. *The Scientific World Journal* 2015.
57. Sharma, A., L. D. Singla, A. Tuli, P. Kaur and M. S. Bal. 2015. Detection and assessment of risk factors associated with natural concurrent infection of *Trypanosoma evansi* and *Anaplasma marginale* in dairy animals by duplex PCR in eastern Punjab. *Tropical animal health and production* 47(1):251-257.
58. Shebish, E., R. Vemulapalli and C. Oseto. 2012. Prevalence and molecular detection of *Anaplasma marginale*, *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from Puntarenas Province, Costa Rica. *Veterinary parasitology* 188(1):164-167.
59. Singh, H., M. Haque, N. K. Singh and S. S. Rath. 2012. Molecular detection of *Anaplasma marginale* infection in carrier cattle. *Ticks and tick-borne diseases* 3(1):55-58.
60. Singh, N.K., H. Singh, M. Haque and S. S. Rath. 2012. Prevalence of parasitic infections in cattle of Ludhiana district, Punjab. *Journal of parasitic diseases* 36(2):256-259.
61. The Merck Veterinary Manual. 2014. Available online at: <http://www.merckvetmanual.com/mvm/index.jsp>. Accessed 25 January 2015.
62. Urdaz-Rodriguez, J. H., G. T. Fosgate, A. R. Alleman, D. O. Rae, G. A. Donovan and P. Melendez. 2009. Seroprevalence estimation and management factors associated with high herd seropositivity for *Anaplasma marginale* in commercial dairy farms of Puerto Rico. *Tropical animal health and production*, 41(7), 1439-1448.
63. Ybanez, A.P., T. Sivakumar, B. Battsetseg, B. Battur, K. Altangerel, K. Matsumoto, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2013. Specific molecular detection and characterization of *Anaplasma marginale* in Mongolian Cattle. *Journal of Veterinary Medical Science* 75(4):399-406.
64. Ybanez, A.P., T. Sivakumar, R. H. D. Ybanez, J. C. Ratilla, Z. O. Perez, S. R. Gabotero, H. Hakimi, S. I. Kawazu, K. Matsumoto, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2013. First molecular characterization of *Anaplasma marginale* in cattle and *Rhipicephalus (Boophilus) microplus* ticks in Cebu, Philippines. *Journal of Veterinary*

Medical Science 75(1):27-36.

65. Ybanez, A.P., R. H. D. Ybanez, F. G. Claveria, M. J. CRUZ-FLORES, X. Xuenan, N. Yokoyama and H. Inokuma. 2014. High genetic diversity of *Anaplasma marginale* detected from Philippine Cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science* 76(7):1009.

66. Zhou, M., S. Cao, F. Sevinc, M. Sevinc, O. Ceylan, P. F. A.

Moumouni, C. Jirapattharasate, M. Liu, G. Wang, A. Iguchi and P. Vudriko. 2016. Molecular detection and genetic identification of *Babesia bigemina*, *Theileria annulata*, *Theileria orientalis* and *Anaplasma marginale* in Turkey. *Ticks and tick-borne diseases* 7(1):126-134.

