

Original Article

Prevalence and risk factors of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* infection in asymptomatic infected cattle in Golestan Province, Iran

Vahid Noaman ^{1*}, Alireza Sadrebazzaz²

1-Department of Parasitic Disease Research, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran.

2-Mashhad Branch, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Mashhad, Iran.

Received: 2024-09-07

Accepted: 2024-10-16

Revised: 2024-10-15

Published: 2025-06-22

* E-mail: vnoaman@gmail.com

Abstract

Introduction: *Babesia bigemina* and *B. bovis* are the two most important species that cause bovine babesiosis, leading to economic losses due to increased mortality and lower production. Objectives: The objective of this study was to investigate the prevalence and associated risk factors with *B. bigemina* and *B. bovis* in cattle of Golestan province using molecular tools. **Methods:** A total of 152 blood samples were collected from healthy cattle in 11 cities of the Province. Associated risk factors were also recorded. Genomic DNA was extracted and amplified by using semi-nested PCR. **Results:** Out of the 152 samples, 42 (27.6%) and 29 (19.1%) were positive for *B. bigemina* and *B. bovis* infection, respectively. The potential significant factors associated with *B. bigemina* infections were climate, distance from other farms, contact with other animals, and farm density. The only significant risk factor for *B. bovis* infection was farm type. **Conclusion:** It is necessary to educate livestock farmers about tick-borne diseases and tick control methods and to establish animal husbandry based on health standards in Golestan province. Obtained data provided a baseline information regarding to epidemiology of *B. bigemina* and *B. bovis* infections in cattle in the region, which can be utilized in developing proper strategies for disease control and management.

Keywords: Prevalence, *Babesia bigemina*, *Babesia bovis*, Cattle



فراوانی بابریا بایجمینا و بابریا بوویس و عوامل خطر در گاوهای بدون علامت استان گلستان

وحید نعمان^{*}، علیرضا صدریزاز^۲

۱- بخش تحقیقات بیماری‌های انگلی، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران.

۲- شعبه مشهد، مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، مشهد، ایران



تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳-۰۷-۲۵

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴-۰۴-۰۱

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳-۰۶-۱۷

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۳-۰۷-۲۴

*E-mail: vnoaman@gmail.com

چکیده

مقدمه: بابریا بایجمینا و بابریا بوویس دو گونه مهم جنس بابریا هستند که باعث بیماری در گاو شده و به دلیل تلفات و کاهش تولید خسارات اقتصادی به بار می‌آورند.

هدف: هدف از این مطالعه بررسی فراوانی و عوامل خطر مرتبط با آلودگی دو گونه بابریا بایجمینا و بابریا بوویس در گاوهای استان گلستان با استفاده از سنجش مولکولی بود.

روش کار: در مجموع ۱۵۲ نمونه خون از گاوهایی که از نظر بالینی سالم بودند از ۱۱ شهرستان در استان گلستان جمع‌آوری و عوامل مرتبط با آلودگی بابریا ثبت شد. DNA ژنومی از نمونه‌های خون استخراج و با روش واکنش زنجیره پلیمراز- نیمه‌آشپاده‌ای آزمایش شدند. یافته‌ها: از ۱۵۲ نمونه، ۴۲ نمونه (۲۷/۶ درصد) و ۲۹ نمونه (۱۹/۱ درصد) به ترتیب از نظر آلودگی با بابریا بایجمینا و بابریا بوویس مثبت بودند. فراوانی گونه بابریا بایجمینا با اقلیم، فاصله از مزارع دیگر، تماس با حیوانات دیگر و تراکم دام در دامداری اختلاف معناداری داشت. نوع دامداری براساس مدیریت تنها عامل خطر مهم برای عفونت بابریا بوویس بود.

نتیجه‌گیری: آموزش دامداران در مورد بیماری‌های منتقل شده از گاو و روش‌های کنترل گاو و تأسیس دامداری بر پایه موازن بهداشتی در استان گلستان ضروری است. نتایج این پژوهش اطلاعاتی پایه‌ای درباره همه‌گیری‌شناسی عفونت‌های بابریا بایجمینا و بابریا بوویس در گاوهای استان گلستان ارائه می‌دهد که می‌توان در برنامه‌ریزی مناسب برای کنترل و مدیریت بیماری از آن استفاده کرد.

کلمات کلیدی: فراوانی، بابریا بایجمینا، بابریا بوویس، گاو

مقدمه

گونه‌های بابزیا تک‌یاخته‌های داخل سلولی اجباری از جنس بابزیا هستند. بابزیا در شاخهٔ اپی کمپلکسا (Apicomplexa)، ردهٔ اسپوروزوآ (Sporozoea)، راستهٔ پیروپلاسمیدا (Piroplasmida) و خانوادهٔ بابزیده قرار می‌گیرد (۱). بابزیوزیس که توسط گونه‌های متفاوت تک‌یاخته جنس بابزیا ایجاد می‌شود در گروه وسیعی از مهره‌داران، به‌خصوص نشخوارکنندگان اهلی و وحشی، تک‌سمی‌ها، سگ‌سانان، گربه‌سانان، جوندگان، پرندگان و حتی انسان در بسیاری از نقاط دنیا گسترش دارد. بابزیوزیس در گاو با نام‌های، تب کنه‌ای، پیروپلاسموزیس، تب طحال، تب قرمز و تب تکزاس شناخته می‌شود (۲، ۳). در گاو علائم بیماری شامل افزایش ناگهانی درجهٔ حرارت، بی‌قراری، ضعف، لاغری، کاهش اشتها، کم‌خونی شدید، انهدام گلبول‌های قرمز و وجود هموگلوبین در ادرار است (۴). این انگل را کنه‌های سخت از خانوادهٔ ایکسودیده انتقال می‌دهند (۵). دو گونهٔ بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس از گونه‌های شناخته‌شدهٔ بابزیای گاو در دنیا هستند که بیماری حاصل از این دو گونه در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری مانند آمریکای مرکزی و جنوبی، شمال و جنوب آفریقا، استرالیا و جنوب اروپا و مناطق خاورمیانه دیده می‌شود (۶). بیماری حاصل از گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس و بابزیا اکتلتس در گاوهای ایران مشاهده شده است (۷-۹) اگرچه در برخی مطالعات همه‌گیرشناسی بابزیوزیس در کشورهای مختلف از آزمون‌های سرولوژی استفاده شده است، ولی واکنش متقاطع گونه‌های بابزیا و نتایج منفی و مثبت کاذب از معایب این آزمون‌ها به شمار می‌رود. علاوه‌براین، روش‌های سرمی در شناسایی عفونت‌های مزمن (دام‌های حامل با تعداد پایین انگل در خون) و فاز اولیهٔ عفونت ضعف دارند (۱۰). رنگ‌آمیزی گسترش‌های خونی با گیمسا و مشاهدهٔ میکروسکوپی گلبول‌های قرمز یکی از متداول‌ترین روش‌ها در تشخیص بابزیوزیس حاد است، اما در مواردی که تعداد کمی از گلبول‌های قرمز آلوده باشند حساسیت این روش پایین است و در مطالعات همه‌گیرشناسی توصیه نمی‌شود. علاوه‌براین غالباً علایم بالینی بابزیوزیس، آناپلاسموزیس و تیلریوزیس مشابه‌اند و تفریق اشکال گرد و کوچک بابزیا با اشکال پیروپلاسمایی تیلریا و آناپلاسمها در گسترش خونی رنگ‌آمیزی‌شده با گیمسا نیاز به تجربه و مهارت کادر آزمایشگاهی دارد (۱۱). روش‌های مولکولی همچون واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) علاوه‌بر تشخیص دقیق

گونه‌ها تمایز گونه‌ای را نیز امکان‌پذیر ساخته‌اند و تحقیقات اخیر، حساسیت و ویژگی بالاتر روش‌های مولکولی را در شناسایی انگل‌های خونی نسبت به روش‌های سرولوژیکی و میکروسکوپی به اثبات رسانده‌اند. واکنش زنجیره‌ای پلیمرز در تشخیص آلودگی به گونه‌های بابزیا، یک‌صد برابر حساس‌تر از تشخیص میکروسکوپی است (۱۲). شناسایی دام‌های حامل بابزیا اهمیت خاصی در کنترل و پیشگیری بیماری دارد، زیرا این دام‌ها به‌عنوان مخزن، در انتقال آلودگی به دام‌های حساس بسیار اهمیت دارند. حساسیت و ویژگی بالای واکنش زنجیره‌ای پلیمرز سبب شده است که این روش برای تأیید نتایج حاصل از آزمون‌های تشخیصی دیگر، شناسایی دام‌های حامل و تأیید سلامت دام برای صادرات، به کار برده شود (۱۳). مطالعات انجام‌شده در خصوص بابزیوزیس و شناسایی انگل بابزیا در ایران اغلب در گله‌های گوسفند و بز انجام شده است و در اکثر این بررسی‌ها شناسایی انگل براساس مشاهدهٔ میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ‌آمیزی بوده است. اگرچه در گذشته مطالعات مولکولی در خصوص شناسایی گونه‌های بابزیا در گاوهای استان‌های ایران انجام شده بود (۱۴-۱۷)، در سال‌های اخیر نیز انگل بابزیا در گاوهای استان‌های کردستان، چهارمحال و بختیاری، آذربایجان غربی و شرقی، مازندران و اصفهان با روش‌های مولکولی و میکروسکوپی شناسایی شده است (۱۵، ۱۶، ۱۸-۲۰). با توجه به گسترش کنه‌های ناقل بابزیا در کل کشور به‌خصوص در شمال ایران و از آنجاکه تاکنون مطالعهٔ جامعی در خصوص شناسایی انگل بابزیا در گاوهای استان گلستان صورت نگرفته است، این تحقیق با هدف شناسایی مولکولی گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در جمعیت گاوهای سنتی و نیمه‌صنعتی استان گلستان انجام گرفت.

مواد و روش کار

جامعهٔ آماری و روش نمونه‌گیری

مطالعه به‌صورت مقطعی بر روی ۱۵۲ گاو در گاوداری‌های نیمه‌صنعتی و سنتی استان گلستان در شهرستان‌های کلاله، گنبدکاووس، آق‌قلا، گمیشان، بندر ترکمن، بندرگز، کردکوی، گرگان، علی‌آباد، رامیان و آزادشهر با همکاری کارکنان ادارهٔ کل دامپزشکی استان گلستان انجام گرفت (شکل ۱). نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی از ۵۰ گاوداری (۱۵ گاوداری سنتی و ۳۵ گاوداری نیمه‌صنعتی) و از هر دامداری حداقل از سه گاو نمونه‌برداری انجام شد. از هر گاو دو میلی‌لیتر خون از

هر گاو، بالا = کمتر از ۶ مترمربع به‌ازای هر گاو، سن دام (زیر ۱ سال، بیش از ۱ سال) براساس گفته‌ دامدار، در فرم مربوطه ثبت و شماره فرم بر روی تمامی لوله‌ها و گسترش‌های خونی. جنس تمامی دام‌های نمونه‌گیری‌شده ماده و نژاد گاوهای نمونه‌گیری‌شده دورگ بود. نحوه تغذیه گاوها در داخل دامداری انجام می‌شد. همه نمونه‌های دام در فصل تابستان، ارتفاع تا ۸۰۰ متر بالای سطح دریا، طول جغرافیایی بیش از ۵۴ درجه شرقی و عرض جغرافیایی بیش از ۳۶ درجه شمالی اخذ شد. به‌طور کلی استان گلستان در بیشتر قسمت‌ها دارای آب‌وهوای معتدل مدیترانه‌ای است میزان نوسان بارش سالانه در استان بین ۲۰۰ تا ۸۰۰ میلی‌متر، و نوسان درجه حرارت نیز بین ۸ تا ۲۰ درجه سانتیگراد است (۲۱).

استخراج DNA

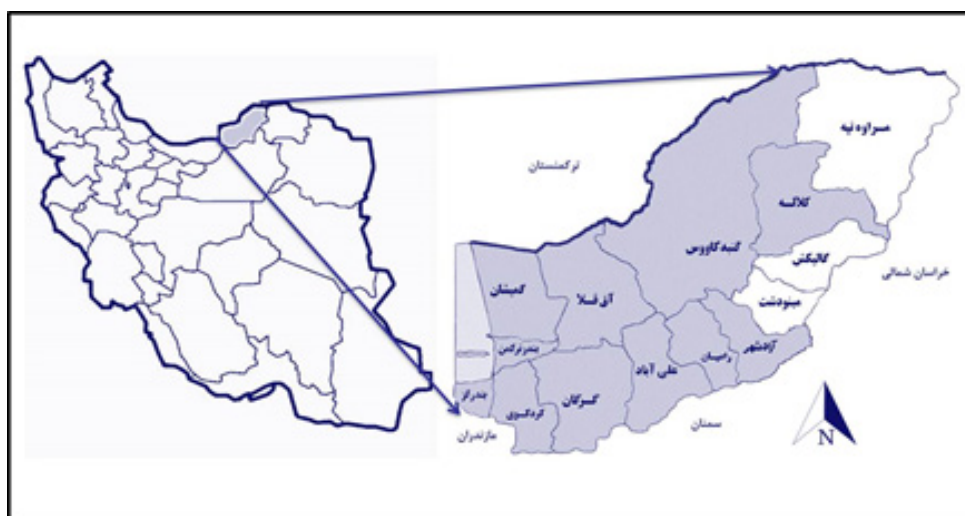
در این تحقیق به منظور به دست آوردن ماده ژنتیکی برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلیمراز از کیت استخراج DNA خون و بافت شرکت MBST (ایران) و طبق دستورالعمل سازنده استخراج DNA انجام گرفت. به منظور تعیین میزان و خلوص DNA استخراجی، چگالی نوری محصول مورد نظر با استفاده از اسپکتروفتومتر و با طول موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر ارزیابی شد، علاوه بر این DNA استخراجی، بر روی ژل آگارز تجزیه و تحلیل شد (۲۲).

واکنش زنجیره یلیمراز - نیمه آشیانه ای

در این تحقیق برای شناسایی جنس بابزیا از دو آغازگر روبه جلو

ورید و داج در لوله حاوی ماده ضد انعقاد و همچنین پرسش نامه‌ای برای هر نمونه اخذ شد و نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه انگل‌شناسی و بیولوژی مولکولی تحویل شدند.

در هر مراجعه به دامداری‌های ازپیش تعیین شده، دام‌ها به‌طور تصادفی انتخاب و در هر مورد بازدید و نمونه‌گیری اطلاعات درج می‌شد، این اصلاحات عبارت‌اند از: نام دامدار، روستا/ منطقه، تعداد دام، کد دام، سابقه بیماری در گله، نوع دامداری از نظر مدیریت براساس مستندات مدیریت امور دام استان گلستان (به دامداری‌هایی که اصول علمی به‌طور نسبی در ساخت‌وساز ساختمان‌ها و تأسیسات آن‌ها اعمال شده و دارای ماشین‌آلات و تجهیزات در حد رفع نیازهای اساسی خود هستند دامداری نیمه‌صنعتی و به دامداری‌هایی که بدون اصول علم دام‌پروری در داخل و حاشیه روستا احداث شده‌اند، دامداری سنتی گویند)، سطح بهداشتی دامداری (شامل بهداشت جایگاه، بهداشت شیردوشی و پستان، بهداشت زایشگاه و زایمان، بهداشت گوساله‌دانی، بهداشت انبار علوفه، بهداشت آب، انجام برنامه‌های کنترل و پیشگیری از بیماری‌های عفونی و انگلی) براساس مستندات و ضوابط شبکه دامپزشکی استان گلستان (پایین، معمولی)، حضور کنه روی بدن دام (خیر، بله) براساس مشاهده و گفته دامدار، سم‌پاشی در فصول تکثیر کنه (خیر، بله) براساس گفت دامدار، فاصله با دامداری‌های دیگر (1 کیلومتر $\leq$ ، 1 کیلومتر $>$)، تماس با حیوانات دیگر (بله، خیر)، تراکم در دامداری براساس تعداد دام به مترمربع فضای دامداری (معمولی = بیش از 6 مترمربع به‌ازای



شکل ۱- موقعیت جغرافیایی استان گلستان در ایران و بازده شهرستان نمونه‌گیری شده که با رنگ تیره مشخص شده‌اند.

میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNA الگوی مخصوص هر نمونه و ۱۹/۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر (دو بار تقطیر استریل). پس از ترکیب مواد مورد نیاز میکروتیوب‌ها به ترموسایکلر (بیو راد تی-۱۰۰، ساخت آمریکا) در ۲۵ چرخه با برنامه دمایی مشخص منتقل شد (جدول ۲). دمای اتصال در واکنش زنجیره پلیمرز اولیه ۵۶ درجه سانتی‌گراد و دمای اتصال در واکنش زنجیره پلیمرز- نیمه‌آشپانه‌ای اختصاصی بابزیا بایجمینا ۵۳ و بابزیا بوویس ۵۸ درجه سانتی‌گراد بود. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر محصولات PCR به همراه رنگ ایمن (سیناکلون، ایران) و نمونه آلوده به بابزیا به‌عنوان شاهد مثبت و آب مقطر به‌عنوان شاهد منفی روی ژل آگارز ۱/۵% در ولتاژ ۱۰۰ ولت به مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز شد. در مرحله آخر برای مشاهده باندها و عکس‌برداری، ژل در دستگاه تابنده اشعه فرابنفش (ژل داک) قرار گرفت.

ThBab (F) و معکوس (R)ThBab از ژن 18S rRNA که قطعه‌ای در حدود ۴۳۰-۴۰۰ جفت باز را تشکیل می‌کردند، استفاده شد. در واکنش زنجیره پلیمرز- نیمه‌آشپانه‌ای از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز استفاده شد. در این واکنش برای تکثیر اختصاصی بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس ۷ به ترتیب از دو آغازگر روبه‌جلو B. bigemina (F) و B. bovis (F) استفاده شد که محصول هریک از این آغازگرهای اختصاصی با آغازگر معکوس (R)ThBab برای بابزیا بایجمینا ۲۱۰ جفت باز و برای بابزیا بوویس ۱۳۲ جفت باز بود (جدول ۱). تمامی واکنش‌ها در میکروتیوب‌های ۲۰۰ میکرولیتری و در حجم ۲۵ میکرولیتر به شرح زیر انجام شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X10)، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیم (۵۰ mM) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP (۱۰ mM) با غلظت نهایی ۰/۲ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر روبه‌جلو (۲۰ μM) با غلظت نهایی ۰/۴ میکرومولار، ۰/۵ میکرولیتر آغازگر معکوس (۲۰ μM) با غلظت نهایی ۰/۴ میکرومولار، ۰/۱۲۵ میکرولیتر آنزیم DNA پلیمرز Taq (5U/μL) با غلظت نهایی ۰/۶۲۵ واحد در ۲۵

جدول ۱- آغازگرهای تشخیص جنس بابزیا و گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاو براساس ژن 18S rRNA

ردیف	نام آغازگر	توالی	منبع	محصول مورد انتظار (جفت باز)
۱	ThBab(F)	5' CACAGGGAGGTAGTGACAAG 3'	(۲۳)	۴۳۰-۴۰۰
۲	ThBab(R)	5' CTAAGAATTTACCTCTGACAG 3'		
۳	B. bigemina(F) for Seminested	5' CGTTTTTTCCTTTTGTG 3'	(۲۴)	۲۱۰
۴	B. bovis (F) for Seminested	5' CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG 3'	(۲۵)	۱۳۲

جدول ۲- برنامه تکثیر DNAD در دستگاه ترموسایکلر

مرحله	دما	زمان	تعداد چرخه
دمای صفحه	۱۱۰ °C		
انکوباسیون	۹۵ °C	۵'	
شروع چرخه			
مرحله دناتوره شدن دو رشته	۹۴ °C	۴۵"	۳۵
مرحله اتصال	۵۳-۵۸ °C	۴۵"	
مرحله طولیل شدن	۷۲ °C	۱'	
پایان چرخه			
مرحله طولیل شدن نهایی	۷۲ °C	۱۰'	

محاسبات آماری

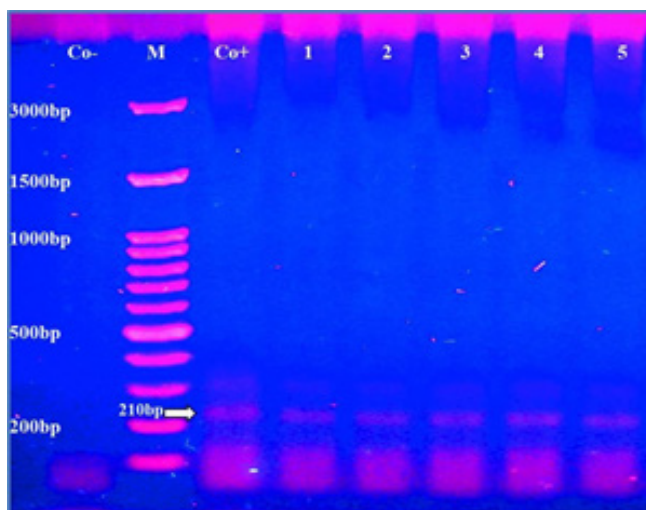
نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار بسته آماری برای علوم اجتماعی (SPSS) ویرایش بیستم تحلیل آماری شدند. برای محاسبه فراوانی داده ها و برای پی بردن به اینکه کدام یک از فراوانی ها با یکدیگر اختلاف آماری معناداری دارند، از آزمون مربع کای (χ^2) استفاده شد. $\alpha=0/05$ مبنای قضاوت آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

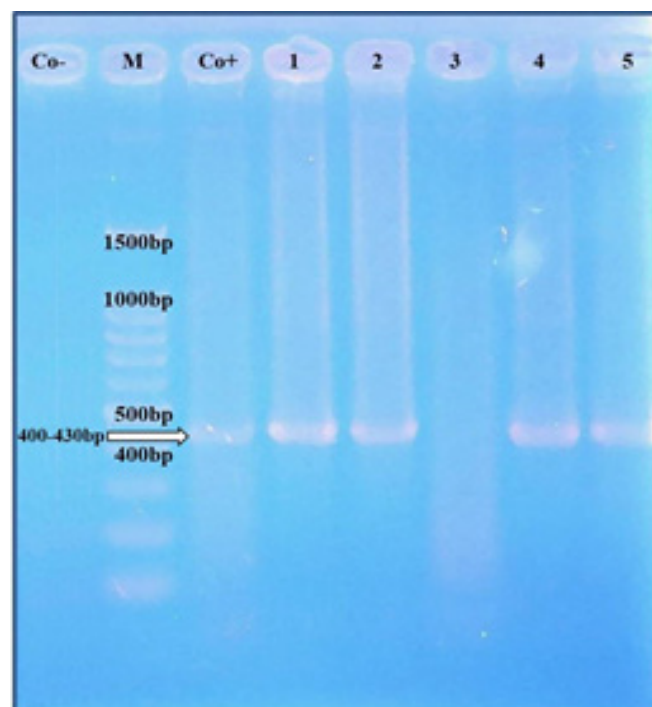
در واکنش زنجیره پلیمرز و زنجیره پلیمرز- نیمه آشیانه ای اختصاصی بابزیا باجمینا ۴۲ نمونه (۲۷/۶٪) از ۱۵۲ نمونه مورد آزمایش باند مدنظر را تشکیل دادند (شکل ۲ و ۳). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا باجمینا در گاو بین اقلیم های مورد نمونه گیری، تماس با حیوانات دیگر، میزان فاصله با دامداری های دیگر و تراکم

گله اختلاف معناداری مشاهده شد ($P \leq 0.05$). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا باجمینا در گاو از نظر نوع دامداری از نظر مدیریت، سطح بهداشتی دامداری، حضور کنه روی بدن دام، سم پاشی در فصول تکثیر کنه، سن دام و تولید شیر اختلاف معناداری مشاهده نشد ($P > 0.05$) (جدول ۳).

در واکنش زنجیره پلیمرز و زنجیره پلیمرز- نیمه آشیانه ای اختصاصی بابزیا بوویس ۲۹ نمونه (۱۹/۴٪) از ۱۵۲ نمونه مورد آزمایش باند مدنظر را تشکیل دادند (شکل ۴). در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بوویس در گاو تنها بین نوع دامداری ها از نظر مدیریت اختلاف معناداری مشاهده شد ($P \leq 0.05$) و بین اقلیم ها، سطح بهداشتی دامداری ها، حضور کنه روی بدن دام، سم پاشی در فصل های تکثیر کنه، میزان فاصله با دامداری های دیگر، تماس با حیوانات دیگر، تراکم های مختلف دامداری ها، سن دام ها و تولید شیر دام ها اختلاف معناداری وجود نداشت ($P > 0.05$) (جدول ۴).



شکل ۳- محصولات واکنش زنجیره پلیمرز- نیمه آشیانه ای از تکثیر قطعه ژنی 18S rRNA به منظور تشخیص بابزیا باجمینا. ستون های ۱-۵ نمونه های مثبت با وزن مولکولی ۲۱۰ جفت باز Co-: کنترل منفی، Co+: کنترل مثبت، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی.



شکل ۲- محصولات واکنش زنجیره پلیمرز از تکثیر قطعه ژنی 18S rRNA تک یاخته بابزیا. ستون های ۱، ۲، ۴ و ۵ نمونه های مثبت بابزیا با وزن مولکولی ۴۰۰-۴۳۰ جفت باز Co-: کنترل منفی، Co+: کنترل مثبت، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی.

جدول ۳- میزان فراوانی بابریا بایجمینا برحسب برخی عوامل خطر در استان گلستان

متغیر	گروه	تعداد گاو مورد آزمایش	موارد مثبت		فاصله اطمینان ۹۵ درصد	P value
			تعداد	درصد		
کل	گاو	۱۵۲	۴۲	۲۷/۶	۳۴/۲۰-۷/۵	-
اقلیم	کوهستانی	۵۴	۲۳	۴۲/۶	۵۵/۲۹-۸/۴	۰/۰۲*
	جلگه‌ای	۹۸	۱۹	۱۹/۴	۳۷/۱۱-۲/۶	
نوع دامداری از نظر مدیریت	نیمه‌صنعتی	۱۱۹	۳۱	۲۶/۱	۳۳/۱۸-۹/۲	۰/۴
	سنتی	۳۳	۱۱	۳۳/۳	۴۹/۱۷-۴/۲	
سطح بهداشت دامداری	پایین	۱۰	۱	۱۰	۲۸/۸-۶/۶	۰/۱۹
	معمولی	۱۴۲	۴۱	۲۸/۹	۳۶/۲۱-۳/۴	
وجود کنه روی بدن دام	خیر	۱۲۳	۳۷	۳۰/۱	۳۸/۲۲-۲	۰/۱۶
	بله	۲۹	۵	۱۷/۲	۳-۳۱/۵	
سم‌پاشی در فصل‌های گرم سال	خیر	۵۴	۱۷	۳۱/۵	۴۳/۱۹-۹/۱	۰/۴۳
	بله	۹۸	۲۵	۲۵/۵	۳۴/۱۶-۱/۱	
فاصله بین دامداری‌ها	زیر ۱ کیلومتر	۱۲۷	۳۹	۳۰/۷	۳۸/۲۲-۷/۷	۰/۰۵*
	بیش از ۱ کیلومتر	۲۵	۳	۱۲	۲۴/۰-۷/۷	
تماس با حیوانات دیگر	خیر	۱۴۰	۳۴	۲۴/۳	۳۱/۱۷-۴/۲	۰/۰۲*
	بله	۱۲	۸	۶۶/۷	۹۳/۴۰-۳	
تراکم گله	بالا	۷۲	۲۵	۳۴/۷	۴۵/۲۳-۷/۷	۰/۰۵*
	معمولی	۸۰	۱۷	۲۱/۳	۳۰/۱۲-۲/۳	
سن	زیر ۱ سال	۳۹	۱۲	۳۰/۸	۴۵/۱۶-۳/۳	۰/۶۱
	بالای ۱ سال	۱۱۳	۳۰	۲۶/۵	۳۴/۱۸-۷/۴	
تولید شیر	کم	۲۴	۵	۲۰/۸	۳۷/۴-۱/۶	۰/۴۱
	معمولی	۱۲۸	۳۷	۲۸/۹	۳۶/۲۱-۸/۱	

بحث

بابریوزیس ناشی از بابریا بوویس که به تلف شدن ۲۲ گاو در یک گاوداری صنعتی در رشت منجر شده بود به بیش از ۴۰ سال قبل برمی‌گردد (۷).

در مطالعه حاضر گاوهای تحت مطالعه در استان گلستان آلوده به بابریا بایجمینا و بابریا بوویس بودند. فراوانی گونه‌های بابریا در گاوهای ایران ۵/۳٪ گزارش شده است (۱۸) که با یافته‌های تحقیق حاضر همخوانی نداشت. در این گزارش از روش میکروسکوپی برای تشخیص بابریا در گسترش‌های خونی استفاده شده بود، ولی به تعداد میدان‌های میکروسکوپی مورد مطالعه اشاره نشده بود. با توجه به اینکه تشخیص به روش میکروسکوپی استاندارد نیست و به تبحر آزمایشگر و تعداد فیلدهای مشاهده‌شده در یک گسترش بستگی دارد، لذا با تغییر این عوامل میزان حساسیت این آزمون تغییر خواهد کرد (۳۰). در مطالعه مولکولی فراوانی آلودگی گونه‌های بابریا بایجمینا و بابریا بوویس در گاوهای استان مازندران نمونه‌های گاوی

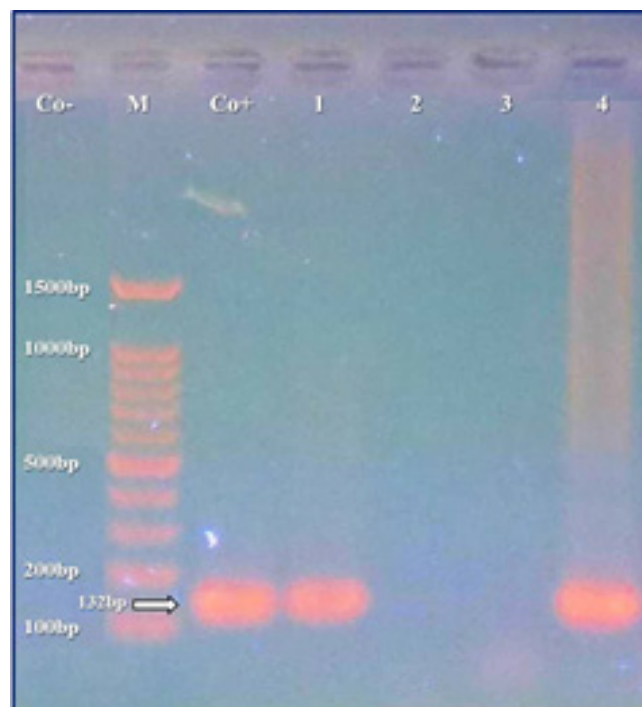
گاوهای بدون علائم، گونه‌های بابریا بایجمینا و بابریا بوویس را به‌طور دائم در خون خود دارند و از عوامل بالقوه انتقال گونه‌های بابریا به کنه‌های ناقل هستند (۲۶). در کشورهای معتدل بیماری، چهره فصلی دارد و با شروع فصل گرما به دلیل افزایش جمعیت و فعالیت کنه، بیماری شایع می‌شود و با شرایط مطلوب محیطی از نظر درجه حرارت و رطوبت سیر صعودی را نشان می‌دهد. فراوانی وقوع بیماری در کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری در طول سال متفاوت است و ارتباط مستقیمی با جمعیت و فعالیت کنه‌های ناقل بیماری و حضور دام حساس دارد (۲۷). با توجه به تظاهرات بالینی اندک بابریوزیس در گاوهای ایران نسبت به نشخوارکنندگان کوچک (۲۸) علاقه به پژوهش در خصوص بابریوزیس گوسفند در مقایسه با بابریوزیس گاوی بیشتر است (۲۹). آخرین گزارش بالینی

(۲۰/۷٪) تقریباً همسان با مطالعه حاضر بود که نشانه گسترش این گونه در این کشور است (۱۰، ۳۵-۳۸). بررسی‌های انجام شده در کشورهای آسیایی نیز بیانگر حضور گونه‌های بابزیا در گاوها و گاو میش‌های این کشورها است. در منطقه آسیا فراوانی بابزیا بوویس در پاکستان ۱۸٪ و در سوریه ۱۵/۴۶٪ است که با تحقیق حاضر همخوانی نداشتند. ولی فراوانی بابزیا بوویس در تایلند (۳۸/۹٪) و پنجاب هند (۳۰/۳۹٪) بیشتر و در چین (۹/۳٪) کمتر از فراوانی آن در تحقیق حاضر بود (۱۰، ۳۵-۳۸). در مناطق و کشورهای متفاوت، اختلاف در فراوانی گونه‌های بابزیا ناشی از تفاوت بوم‌شناختی، نوع آب‌وهوا، تنوع گسترش گونه‌های ناقل بابزیا، مدیریت گاو‌داری، مقاومت کنه‌ها به سموم، زمان نمونه‌گیری، جمعیت تحت مطالعه و حساسیت و ویژگی آزمون‌های انتخابی بود (۱۱، ۳۹).

در مقایسه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا در گاو بین اقلیم‌های مورد نمونه‌گیری، تماس با حیوانات دیگر، میزان فاصله با دامداری‌های دیگر و تراکم گله اختلاف معناداری داشت ($P \geq 0.05$). در این مطالعه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا در اقلیم کوهستانی بیشتر از جلگه‌ای است ($P=0.02$). در مطالعات انجام شده در کشورهای آفریقایی، سوریه و چین نیز اقلیم در میزان شیوع گونه بابزیا بایجمینا دخالت داشتند، به‌طوری که در چین ارتفاع بالای ۵۰۰ متر از عوامل خطر شیوع گونه بابزیا بایجمینا بود. در ایران نیز در استان‌های اطراف دریای خزر در فصل بهار و تابستان گاوها را برای چرا به مراتع مرتفع می‌برند که خطر گزش کنه و انتقال عامل بیماری در این مناطق بیشتر خواهد بود (۲۷، ۳۵، ۴۰، ۴۱).

در این مطالعه مشابه مطالعه‌ای که در تایلند انجام شد تماس گاو با گونه‌های دیگر حیوانات از عوامل خطر بود (۴۲). با توجه به اینکه کنه‌های ناقل بابزیا اختصاصی گاو نیستند و انگل دیگر گونه‌های حیوانی مانند گوسفند، بز، اسب، پرندگان و امثال آن نیز هستند و از آنجاکه حضور سایر گونه‌های حیوانی در مزرعه باعث افزایش دسترسی به کنه‌ها می‌شود، لازم است گاو‌داران از برنامه کنترل انگل‌های خارجی برای همه حیوانات مزرعه استفاده کنند (۴۳).

میزان فاصله با دامداری‌های دیگر از عوامل خطر شیوع گونه بابزیا بایجمینا بود، به‌طوری که فراوانی آلودگی در دامداری‌هایی که فاصله آن‌ها زیر یک کیلومتر بود بسیار بیشتر است. این عامل در شیوع آن‌پلازما در گاوه‌های استان خوزستان نیز مؤثر بود که می‌تواند با مرتع مشترک بین گله‌های مجاور و احتمال تماس با ناقلان آلوده مرتبط باشد (۴).



شکل ۴- محصولات واکنش زنجیره پلیمرز- نیمه‌آشپاده‌ای از قطعه ژنی 18S rRNA به منظور تشخیص بابزیا بوویس. ستون‌های ۱ و ۴ نمونه‌های مثبت با وزن مولکولی ۱۳۲ جفت باز Co-: کنترل منفی، Co+: کنترل مثبت، M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی.

به ترتیب ۳۳/۳۳٪ و ۲۸/۶٪ گزارش شد (۱۵). در مطالعه مولکولی فراوانی آلودگی گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوه‌های استان گیلان نمونه‌های گاوی به ترتیب ۱۶/۷٪ و ۲۱/۶٪ بود (۱۷) در بررسی شیوع گونه‌های بابزیا در گاوه‌های منطقه شمال غرب ایران به روش مولکولی، شیوع آلودگی به بابزیا بوویس و بابزیا بایجمینا در گاوه‌های تحت آزمایش به ترتیب ۲۴/۸٪ و ۱/۳٪ ارزیابی شد (۱۶). سه تحقیق اخیر در استان‌های مازندران، گیلان و شمال غرب ایران (آذربایجان شرقی و غربی) با تحقیق حاضر همخوانی داشتند (۳۱). در تحقیق دیگری در استان آذربایجان غربی فراوانی گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاو به ترتیب ۰/۶۷٪ و ۸/۲٪ بود که میزان شیوع در مقایسه با تحقیق حاضر بسیار پایین‌تر بود (۲۳). در ایران شناسایی مولکولی در حد جنس بابزیا در گاو در چهارمحال و بختیاری ۷٪ و اصفهان ۴٪ گزارش شده است (۱۴). در حالی که در بررسی‌های مولکولی انجام شده در گاوه‌های شهرهای تنکابن، رامسر، تربت جام، یزد و اصفهان در حد جنس بابزیا منفی بودند (۳۳، ۳۴). فراوانی گزارش شده بابزیا بایجمینا در کشورهای پاکستان (۱۱٪)، سوریه (۹/۱۸٪) تایلند (۵/۳٪) و ترکیه (۹٪) کمتر و در چین

جدول ۴- میزان فراوانی بابزیا بوویس برحسب برخی عوامل خطر در استان گلستان

متغیر	گروه	تعداد گاو مورد آزمایش	موارد مثبت		فاصله اطمینان ۹۵ درصد حداقل- حداکثر	P value
			تعداد	درصد		
کل	گاو	۱۵۲	۲۹	۱۹/۱	۳/۸-۲۵/۱۲	-
اقلیم	کوهستانی	۵۴	۸	۱۴/۸	۲۴/۵-۳/۳	۰/۳۲
	جلگه ای	۹۸	۲۱	۲۱/۴	۲۹/۱۳-۶/۳	
نوع دامداری از نظر مدیریت	نیمه صنعتی	۱۱۹	۱۶	۱۳/۴	۷/۱۹-۳/۶	۰/۰۵*
	سنتی	۳۳	۱۳	۳۹/۴	۲۲/۵۶-۷/۱	
سطح بهداشت دامداری	پایین	۱۰	۰	۰	۰-۰	۰/۱۱
	معمولی	۱۴۲	۲۹	۲۰/۴	۲۷/۱۳-۱/۸	
وجود کنه روی بدن دام	خیر	۱۲۳	۲۶	۲۱/۱	۲۸/۱۳-۴/۹	۰/۱۸
	بله	۲۹	۳	۱۰/۳	۲۱/۰-۴/۷	
سم پاشی در فصل های گرم سال	خیر	۵۴	۱۱	۲۰/۴	۳۱/۹-۱/۶	۰/۷۶
	بله	۹۸	۱۸	۱۸/۴	۱۰-۲۶/۷	
فاصله بین دامداری ها	زیر ۱ کیلومتر	۱۲۷	۲۳	۱۸/۱	۲۴/۱۱-۸/۴	۰/۴۹
	بیش از ۱ کیلومتر	۲۵	۶	۲۴	۴۰/۷-۷/۳	
تماس با حیوانات دیگر	خیر	۱۴۰	۲۶	۱۸/۶	۱۲-۲۵/۱	۰/۵۸
	بله	۱۲	۳	۲۵	۴۹/۰-۵/۵	
تراکم گله	بالا	۸۰	۱۶	۲۰	۲۸/۱۱-۸/۲	۰/۷۶
	معمولی	۷۲	۱۳	۱۸/۱	۲۶/۹-۹/۲	
سن	زیر ۱ سال	۳۹	۸	۲۰/۵	۳۳/۷-۲/۸	۰/۷۹
	بالای ۱ سال	۱۱۳	۲۱	۱۸/۶	۲۵/۱۱-۸/۴	
تولید شیر	کم	۲۴	۲	۸/۳	۱۹/۲-۴/۷	۰/۱۴
	معمولی	۱۲۸	۲۷	۲۱/۱	۲۸/۱۴-۲	

نیمه صنعتی باشد. در مطالعه انجام شده در اصفهان نشان داده شده است که با توجه به عدم سم پاشی در دامداری های سنتی، در اواسط بهار حضور کنه روی بدن گاوها افزایش می یابد و در تابستان به اوج خود می رسد و در پاییز از تراکم حضور کنه روی بدن دام کاسته می شود؛ بنابراین با توجه به انتقال بابزیا بوویس از طریق کنه، ارتباط فراوانی عامل بیماری با نوع دامداری در استان گلستان دور از ذهن نیست (۴۵). رعایت نکردن اصول بهداشتی در گاوداری های سنتی نه تنها بر سلامت گاو تأثیر می گذارد، بلکه به بقای ناقلان کنه ای نیز کمک می کند. اکثر دامداری ها با شرایط بهداشتی نامناسب دارای ساختمان های قدیمی هستند و کنه ها قادر به پنهان شدن در شکاف های ایجاد شده در این ساختمان ها هستند. شعله دادن یا سموم کنه کش نیز نمی توانند به عمق این شکاف ها برسند و این شکاف ها محل امنی برای پنهان شدن و تخم ریزی کنه ها هستند. در دامداری های سنتی پوشاندن دیوارهای خشتی با سیمان و تخریب

در این مطالعه فراوانی گونه بابزیا بایجمینا در گاوداری های متراکم بیشتر بود. تراکم دام در جایگاه باعث رقابت بیشتر در تغذیه و استراحت دام می شود و استرس افزایش می یابد و در نتیجه ایمنی دام در برابر بیماری ها مخصوصاً بیماری های منتقله از کنه کاهش می یابد. از طرفی رعایت موازین بهداشتی و مبارزه با ناقلان بندپا نیز در این دامداری ها چالش مهمی است که معمولاً از عهده دامدار سنتی خارج است (۴۴).

در این مطالعه نوع دامداری از نظر مدیریت به عنوان عامل خطر ابتلای گاوها به بابزیا بوویس شناخته شد. در دیگر منابع نیز از مدیریت دامداری و تراکم گله به عنوان فاکتورهای خطر شیوع انگل بابزیا نام برده شده است (۲۷، ۴۲). به علت عدم رعایت بسیاری از مسائل مدیریتی و بهداشتی و عدم مبارزه با ناقلان بندپا انتظار می رود که درصد شیوع بیماری های دامی و به خصوص بیماری های منتقله از کنه در دامداری های سنتی به مراتب بیشتر از دامداری های

رویکرد کنترلی در برابر بابزیوزیس در گاوهای ایران وجود ندارد. بابزیوزیس اغلب به دلیل شیوع پایین یا تظاهرات بالینی مشترک با دیگر بیماری‌ها مورد توجه دامپزشکان قرار نمی‌گیرد، ولی دام‌های درگیر، ناقل باقی می‌مانند. تحقیق در خصوص شناسایی کنه‌های ناقل، حیوانات مخزن و پتانسیل مشترک بودن عوامل بیماری بین دام و انسان در استان گلستان ضروری به نظر می‌رسد.

قدردانی

بدین وسیله از مسئولان مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان که ما را در انجام این تحقیق یاری کردند، تشکر می‌کنیم.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌کنند که در این پژوهش هیچ‌گونه تعارض منافی وجود ندارد.

فهرست منابع

- 1-Bock R, Jackson L, De Vos A, Jorgensen W. Babesiosis of cattle. *Parasitol.* 2004; 129(S1):S247-S69.
- 2-Romero-Salas D, Mira A, Mosqueda J, García-Vázquez Z, Hidalgo-Ruiz M, Vela NAO, et al. Molecular and serological detection of *Babesia bovis*-and *Babesia bigemina*-infection in bovines and water buffaloes raised jointly in an endemic field. *Vet Parasitol.* 2016;217:101-7.
- 3-Schnittger L, Rodriguez AE, Florin-Christensen M, Morrison DA. Babesia: a world emerging. *Infect Genet Evol.* 2012;12(8):1788-809.
- 4-Noaman V, Moradi M. Molecular epidemiology and risk factors assessment of *Anaplasma* spp. on dairy cattle in southwest of Iran. *Acta Vet Eurasia.* 2019;45(1):30-6.
- 5-Chandran D. Bovine babesiosis: A general review. *Int J Vet Sci Ani Husb.* 2021;6(3):40-4.
- 6-Yusuf JJ, Jimma P, Ethiopia T. Review on Bovine Babesiosis and its Economical Importance. *J Vet Med Res.* 2017;4(5):1090.
- 7-Hashemi-Fesharki R, Amjadi A. Outbreak of *Babesia bovis* infection in cattle and its control. *Arch Razi Inst.* 1977;29(1):83-6.
- 8-Noaman V, Ghadimipour R, Nabavi R. First report of *Babesia occultans* in two symptomatic cows in Iran. *Parasitol Res.* 2021;120(5):1915-9.
- 9-Nabavi R, Fathi A, Noaman V. A New Focus of Texas

زیستگاه کنه‌ها با پر کردن شکاف‌ها و پوشاندن درزها به کاهش تعداد کنه و عفونت‌های منتقله از طریق کنه کمک می‌کند. علاوه بر این، گاو‌داری‌های سنتی با شرایط بهداشتی نامناسب می‌توانند مستعد هجوم جوندگان باشند، زیرا این دام‌داری‌ها پناهگاه، آب و غذا را برای جوندگان فراهم می‌کنند. علاوه بر خسارات اقتصادی، این جوندگان ممکن است عوامل بیماری‌زا را به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم توسط انگل‌های خارجی خود منتقل کنند. جوندگان میزبان اصلی کنه‌ها، به‌ویژه در مراحل رشد (پوره و لارو) هستند و نقش مخزنی بالقوه برای انگل‌های خونی منتقله از کنه دارند (۴۶). نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام‌شده در گاو‌داری‌های اتیوپی، پاکستان، تایلند و برزیل که فراوانی بابزیا با حضور کنه در دام‌داری‌های سنتی در ارتباط بود، مطابقت دارد (۴۷-۴۹). تفاوت مشخص در شیوع گونه‌های بابزیا در مناطق و کشورهای متفاوت ناشی از تنوع گسترش گونه‌های ناقل بابزیا، تفاوت بوم‌شناختی، نوع آب‌وهوا، مدیریت گاو‌داری، مقاومت کنه‌ها به سموم، زمان نمونه‌گیری، جمعیت تحت مطالعه و حساسیت و ویژگی آزمون‌های انتخابی است (۱۱).

نتیجه‌گیری کلی

یافته‌های حاضر نشان داد که گونه‌های بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوهای استان گلستان شیوع دارند و فراوانی بابزیا بایجمینا بیشتر بود. اقلیم، مدیریت دام‌داری، تماس با حیوانات دیگر، فاصله با دام‌داری‌های دیگر و تراکم گله عوامل خطر اصلی بودند که به‌طور قابل توجهی با فراوانی گونه‌های بابزیا ارتباط داشتند. به‌منظور به حداقل رساندن تلفات ناشی از کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از کنه در دام‌داری‌های سنتی و نیمه‌صنعتی استان، باید روش‌های کنترل استراتژیک کنه اجرا شود، این روش سطحی از کنترل است که از مزاحمت کنه‌ها جلوگیری می‌کند، اما به اندازه کافی کنه باقی می‌ماند تا مراحل اولیه آلودگی ایجاد شود، به‌طوری که حیوان در برابر بیماری منتقله از کنه محافظت شود. علاوه بر این، دامداران باید در مورد تأثیر کنه‌ها و بیماری‌های منتقله از کنه و همچنین در مورد روش‌های کنترل کنه به‌منظور ایجاد یا حفظ پایداری بیماری‌ها آموزش ببینند. همچنین باید تحقیقات بیشتری برای شناسایی کنه‌های ناقل بابزیا و تشخیص پاتوژن‌های منتقله از کنه انجام شود. با توجه به محدود بودن اطلاعات مربوط به همه‌گیری‌شناسی، بوم‌شناسی، بیماری‌شناسی، علائم بالینی و قابلیت انتقال به انسان در حال حاضر

- Cattle Fever in Southeast of Iran. *Iran Vet J.* 2023;19(2):189-98.
- 10-Chaudhry Z, Suleman M, Younus M, Aslim A. Molecular detection of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in crossbred carrier cattle through PCR. *Pakistan Journal of Zoology.* 2010;42(2):201-4.
- 11-OIE. Bovine Babesiosis: Aetiology Epidemiology Diagnosis Prevention and Control References. World Organization for Animal Health OIE terrestrial manual Paris, France 2013. p. 1-6.
- 12-Zhao L, He B, Li K-R, Li F, Zhang L-Y, Li X-Q, et al. First report of *Anaplasma ovis* in pupal and adult *Melophagus ovinus* (sheep ked) collected in South Xinjiang, China. *Parasit Vectors.* 2018;11(1):258.
- 13-Bloch EM, Lee TH, Krause PJ, Telford III SR, Montalvo L, Chafets D, et al. Development of a real-time polymerase chain reaction assay for sensitive detection and quantitation of *Babesia microti* infection. *Transfusion.* 2013;53(10):2299-306.
- 14-Khamesipour F, Doosti A, Koohi A, Chehelgerdi M, Mokhtari-Farsani A, Chengula AA. Determination of the presence of *Babesia* DNA in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. *Arch Biol Sci Belgrade.* 2015;63(1):83-90.
- 15-Vahedi Nouri N, Noaman V. The molecular study of babesia species in the cattles of Mazandaran province. *Journal of Animal Biology.* 2020;12(3):81-90.
- 16-Ghadimipour R, Noaman V, Taghizadeh M. Prevalence and risk factors of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle in northwestern Iran. *Veterinary Clinical Pathology.* 2020;14(54):155-68.
- 17-Noaman V, Morovati Khamisi H. Molecular epidemiology of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in dairy cattle (Industrial, semi-industrial and traditional) in Guilan province, Iran. *J Anim Enviro.* 2022;14(3):63-72.
- 18-Zhang Y, Lv Y, Zhang F, Zhang W, Wang J, Cui Y, et al. Molecular and phylogenetic analysis of *Anaplasma* spp. in sheep and goats from six provinces of China. *J Vet Sci.* 2016;17(4):523-9.
- 19-Razmi G. A review on *Babesia* spp. and tick vectors in animals in Iran. *Iran J Vet Sci Technol.* 2022;14(2):1-10.
- 20-Jaridehdar M-M, Noaman V, Pirali Y, Azizi H-R. Molecular detection and prevalence of *Babesia bovis* in cattle of Shahreza city, the south region of Isfahan province, Iran. *Iran Vet J.* 2022;17(4):30-40.
- 21-Poorghafoor-Langroodi P, Noaman V. Identification of *Anaplasma* species and their prevalence in cattle and sheep in northeastern Iran by molecular methods. *Animal Environment Journal.* 2022;14(2):1-8.
- 22-Noaman V. Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria* spp. in carrier cattle. *J Parasit Dis.* 2014;38(1):64-7.
- 23-Reinbold JB, Coetzee JF, Hollis LC, Nickell JS, Riegel CM, Christopher JA, et al. Comparison of iatrogenic transmission of *Anaplasma marginale* in Holstein steers via needle and needle-free injection techniques. *Am J Vet Res.* 2010;71(10):1178-88.
- 24-Song R, Wang Q, Guo F, Liu X, Song S, Chen C, et al. Detection of *Babesia* spp., *Theileria* spp. and *Anaplasma ovis* in border regions, northwestern China. *Transbound Emerg Dis.* 2018;65(6):1537-44.
- 25-Shahatha SS. An Epidemiological and Diagnostic Study of *Anaplasma ovis* Parasite in Native Goats in Anbar Province-Iraq. *Int J Drug Deliv Technol.* 2019;9(1):34-8.
- 26-Bock R, Jackson L, De Vos A, Jorgensen W. Babesiosis of cattle. In: Bowman A, Nuttall P, editors. *Ticks: Biology, Disease and Control.* 129. Cambridge. UK. : Cambridge University Press; 2008. p. 281-307.
- 27-Dantas-Torres F, Alves LC, Uilenberg G. Babesiosis. *Arthropod Borne Diseases: Springer;* 2017. p. 347-54.
- 28-Noaman V, Jahangirnejad AA, Nabinejad A. A study on prevalence and identification of *Babesia* spp. in immigrant and sheep & goats and nomadic people of Isfahan Province. *Pajouhesh – Va- Sazandeg.* 2005;67:35-41 (In Persian).
- 29-Kalani H, Fakhar M, Pagheh A. An overview on present situation babesiosis and theileriosis and their distribution of ticks in Iran. *Iran J Med Microbiol.* 2012;5(4):59-71.
- 30-Hussain S, Ashraf K, Anwar N, Jamal M, Naeem H, Ahmad N, et al. Diagnosis of *Babesia bovis* infection in indigenous and crossbred cattle with comparison between conventional and molecular diagnostic techniques. *J Inf Mol Biol.* 2017;5(1):1-6.
- 31-Nayel M, El-Dakhly KM, Aboulaila M, Elsify A, Hassan H, Ibrahim E, et al. The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle in Menofia, Egypt. *Parasitol Res.* 2012;111(3):1019-24.
- 32-Rajabi S, Esmailnejad B, Tavassoli M, editors. A molecular study on *Babesia* spp. in cattle and ticks in West-Azerbaijan province, Iran. *Vet Res Forum;* 2017: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- 33-Cheshti B, RAZMI G, Naghibi A. A comparative study on haemoprotozoa infection in apparently healthy cattle in different geographical areas of Iran using PCR method. *J Vet Microbiol.* 2013;9(2):139-45.

- 34-Noaman V. A molecular study on *Theileria* and *Babesia* in cattle from Isfahan province, Central Iran. *J Parasit Dis*. 2013;37(2):208-10.
- 35-Terkawi MA, Alhasan H, Huyen NX, Sabagh A, Awier K, Cao S, et al. Molecular and serological prevalence of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle from central region of Syria. *Vet Parasitol*. 2012;187(1-2):307-11.
- 36-Simking P, Yathbantoong N, Saetiew N, Saengow S, Yodsri W, Chaiyarat R, et al. Prevalence and risk factors of *Babesia* infections in cattle trespassing natural forest areas in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. *J Trop Med Parasitol*. 2014;37(1):10-9.
- 37-Bhat S, Singh H, Singh N, Rath S. Molecular detection of *Babesia bigemina* infection in apparently healthy cattle of central plain zone of Punjab. *J Parasit Dis*. 2015;39(4):649-53.
- 38-Niu Q, Liu Z, Yu P, Yang J, Abdallah MO, Guan G, et al. Genetic characterization and molecular survey of *Babesia bovis*, *Babesia bigemina* and *Babesia ovata* in cattle, dairy cattle and yaks in China. *Parasit Vectors*. 2015;8(1):518.
- 39-Radostits O, Gay C, Blood D, Hinchliff K. *Veterinary medicine. A text book of the diseases of cattle, sheep, goats and horses*. 10th ed: WB Saunders Ltd., London, UK; 2007. p. 1349-61.
- 40-Tembue AA, Silva FJ, Silva JB, Santos TM, Santos HA, Soares CO, et al. Risk factors associated with the frequency of antibodies against *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* in cattle in southern Mozambique. *Pesqui Vet Bras*. 2011;31:663-6.
- 41-Zhou Z, Li K, Sun Y, Shi J, Li H, Chen Y, et al. Molecular epidemiology and risk factors of *Anaplasma* spp., *Babesia* spp. and *Theileria* spp. infection in cattle in Chongqing, China. *PLoS One*. 2019;14(7):e0215585.
- 42-Jirapattarasate C, Moumouni PFA, Cao S, Iguchi A, Liu M, Wang G, et al. Molecular epidemiology of bovine *Babesia* spp. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. *Parasitol Int*. 2016;65(1):62-9.
- 43-de la Fuente J, Estrada-Pena A, Venzal JM, Kocan KM, Sonenshine DE. Overview: ticks as vectors of pathogens that cause disease in humans and animals. *Front Biosci*. 2008;13(13):6938-46.
- 44-Sakamoto L, Ichikawa Y, Sakata Y, Matsumoto K, Inokuma H. Detection of *Anaplasma bovis* DNA in the peripheral blood of domestic dogs in Japan. *Jpn J Infect Dis*. 2010;63(5):349-52.
- 45-Noaman V, Abdigoudarzi M, Nabinejad A. Abundance, diversity, and seasonal dynamics of hard ticks infesting cattle in Isfahan Province, Iran. *Arch Razi Inst*. 2017;72(1):15-21.
- 46-Noaman V. Epidemiological study on *Anaplasma phagocytophilum* in cattle: molecular prevalence and risk factors assessment in different ecological zones in Iran. *Prev Vet Med*. 2020;183:105118.
- 47-Abdela N, Ibrahim N, Begna F. Prevalence, risk factors and vectors identification of bovine anaplasmosis and babesiosis in and around Jimma town, Southwestern Ethiopia. *Acta Trop*. 2018;177:9-18.
- 48-Farooqi SH, Ijaz M, Rashid MI, Aqib AI, Ahmad Z, Saleem MH, et al. Molecular epidemiology of *Babesia bovis* in bovine of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Pak Vet J*. 2017;37:275-80.
- 49-Amorim LS, Wenceslau AA, Carvalho FS, Carneiro PLS, Albuquerque GR. Bovine babesiosis and anaplasmosis complex: diagnosis and evaluation of the risk factors from Bahia, Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet*. 2014;23(3):328-36.