14(3) 63-72, Autumn 2022

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Molecular epidemiology of *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* in dairy cattle (Industrial, semi-industrial and traditional) in Guilan province, Iran

Vahid Noaman [1], Hassan Morovati Khamsi [2*]

[1] *Department of Parasitic Disease Research, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Karaj, Iran*
[2] *Department of Vaccin and Biological Products Quality Control, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Agricultural Research, Education and Promotion Organization, Karaj, Iran*

Key Words
Babesia bigemina
Babesia bovis
Dairy cattle
Guilan
Molecular epidemiology

Abstract

Introduction: Among tick-borne diseases, bovine babesiosis is considered to be one of the most important in ruminants worldwide, causing significant economic losses in tropical and subtropical areas. This study aimed to determine the prevalence and the risk factors that could be associated with *Babesia bigemina* and *Babesia bovis* among cattle of the Guilan province, Iran.

Materials & Methods: A total of 162 blood samples were collected via the jugular vein from healthy dairy cattle (Industrial, semi-industrial and traditional) randomly. DNA from blood cells was amplified by Babesia-all primers, which amplify an approximately 400bp DNA fragment from the region of the 18SrRNA gene from various members of the genus *Babesia*. All cattle positive samples were further analyzed for the presence of *B. bigemina* and *B. bovis* by specific semi-nested PCR.

Result: *Babesia bigemina* and *B. bovis* were identified by specific semi-nested PCR in 16.7% and 21.6% of cattle blood samples, respectively. Chi-square (χ^2) tests were used to compare molecular prevalence values relative to season, farm-type, feeding-method, Hygienic-level, presence of ticks, application of ectoparasiticides, distance from other farms, barn-density, breed, age, and sex. Analysis of factors associated with *B. bigemina* and *B. bovis* infection revealed that farm type, feeding method application of ectoparasiticides and barn density are risks in cattle in Guilan ($P<0.05$). Also *B. bigemina* prevalence in cattle was significantly related to tick infestation and breed ($P<0.05$).

Conclusion: This analysis demonstrated that *B. bigemina* and *B. bovis* infection are widespread among cattle in the Guilan province.

* Corresponding Author's email: h_morovati@yahoo.com
Received: 5 June 2021; Reviewed: 9 July 2021; Revised: 11 September 2021; Accepted: 13 October 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.305772.2644

مقاله پژوهشی

مولکولار اپیدمیولوژی *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در گاوهای شیری (صنعتی، نیمه صنعتی و سنتی) استان گیلان

وحید نعمان[۱]، حسن مروتی‌خمسی[۲*]

[۱] بخش تحقیقات بیماری‌های انگلی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

[۲] بخش کنترل کیفی واکسن و فراورده‌های بیولوژیک، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

کلمات کلیدی

بابزیا بایجمینا
بابزیا بوویس
گاوهای شیری
گیلان
ملکولار اپیدمیولوژی

چکیده

مقدمه: در بین بیماری‌های منتقله از کنه، بابزیوزیس گاو یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها در نشخوارکنندگان جهان تلقی می‌شود که در مناطق گرمسیری و نیمه‌گرمسیری خسارات اقتصادی قابل‌توجهی ایجاد می‌کند. این مطالعه باهدف تعیین میزان شیوع و عوامل خطر مرتبط با بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوهای شیری استان گیلان انجام شد.

مواد و روش‌ها: درمجموع ۱٦۲ نمونه خون از طریق رگ گردن گاوهای شیری به‌ظاهر سالم در گاوداری‌های صنعتی، نیمه‌صنعتی و سنتی به‌طور تصادفی جمع‌آوری شد. در ابتدا DNA استخراجی از نمونه‌های خونی با جفت آغازگری از ژن 18SrRNA که جنس بابزیا را تکثیر می‌کرد، تکثیر شد. کلیه نمونه‌های مثبت در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای ازنظر وجودبابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. آزمون کای-مربع جهت مقایسه میزان شیوع نسبت به فصل، نوع دامداری، روش تغذیه، سطح بهداشت دامداری، حضور کنه روی دام، سم‌پاشی در فصول گرم سال، فاصله بین دامداری‌ها، تراکم، نژاد، سن و جنس انجام شد.

نتایج: در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس به‌ترتیب در ۱٦٪/۷ و ۲۱/٦٪ نمونه‌ها شناسایی شدند. تجزیه و تحلیل عوامل مرتبط با عفونت بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس نشان داد که نوع دامداری، روش تغذیه، سم‌پاشی در فصول گرم سال و تراکم از عوامل خطر آلودگی در گاوهای گیلان است (P<۰/۰۵). شیوع بابزیا بایجمینا در گاوها با حضور کنه روی دام و نژاد دام ارتباط معنی‌داری داشت (P<۰/۰۵).

بحث و نتیجه‌گیری: این بررسی نشان داد که آلودگی بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس در گاوهای گیلان گسترش دارد.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: h_morovati@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۵ خرداد ۱٤۰۰؛ تاریخ داوری: ۱۸ تیر ۱٤۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۲۰ شهریور ۱٤۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۱ مهر ۱٤۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.305772.2644

مقدمه

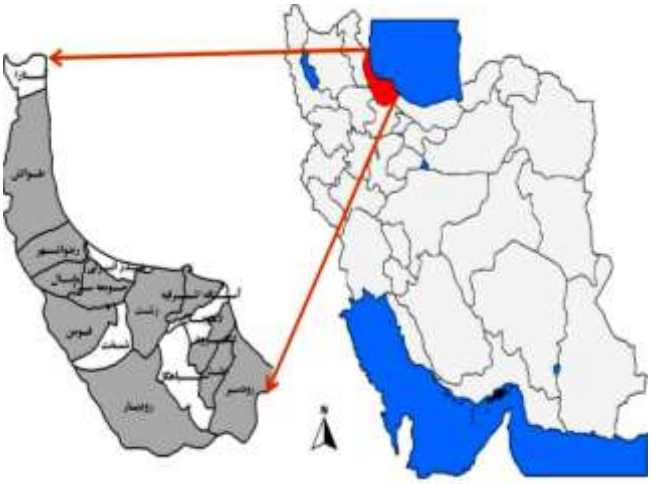
بابزیوزیس بیماری منتقله از کنه است که توسط انگل‌های تک‌یاخته‌ای ایجاد می‌شود. عوامل ایجادکننده بابزیوزیس در گونه‌های مختلف حیوانات اختصاصی می‌باشند. گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در گاو از شایع‌ترین گونه‌های *بابزی* بوده که عمدتاً توسط گونه‌های کنه *ریپی سفالوس (بووفیلوس)* در کشورهای گرمسیری و نیمه‌گرمسیری انتقال می‌یابند (۱). بیماری‌زایی گونه‌های بابزیا با دو مکانیسم همولیز و اختلال در گردش خون ایجاد می‌شود (۲). حیوانات مبتلا به بابزیوزیس از افزایش چشمگیر دمای بدن، از دست دادن اشتها، توقف نشخوار، تنفس دشوار، لاغری، کم‌خونی همولیتیک پیش‌رونده، و درجات مختلف زردی رنج می‌برند. ضایعات بیماری شامل بزرگ و نرم شدن طحال، تورم کبد، کیسه صفرای بزرگ‌شده محتوی دانه‌های صفرا، کلیه‌های تیره‌رنگ و کم‌خونی عمومی و زردی می‌باشد (۳). بیماری را می‌توان با استفاده از مشاهده مستقیم میکروسکوپی، آزمون‌های تشخیصی ملکولی، آزمون‌های سرولوژیکی مانند آنتی‌بادی فلورسنت غیرمستقیم، ثبوت مکمل، الیزا، کشت و تلقیح به حیوانات آزمایشگاهی تشخیص داد (۴). اگرچه بابزیوزیس در سراسر جهان قابل مشاهده است ولی توزیع تک‌یاخته عامل بیماری با توزیع جغرافیایی و فصلی ناقلان تک‌یاخته موزون است. با توجه به این‌که ۴۰۰ میلیون گاو در دنیا به‌علت نحوه پرورش سنتی و نیمه صنعتی در معرض گزش کنه قرار دارند، امروزه *بابزیا* یکی از گسترده‌ترین عفونت‌های انگلی، با عواقب سنگین اقتصادی مانند مرگ و میر، کاهش عملکرد گوشت و شیر و هزینه‌های غیرمستقیم کنترل کنه‌ها درنظر گرفته می‌شود (۵). اگرچه تیلریوزیس مهم‌ترین بیماری تک‌یاخته‌ای شناخته شده در گاوهای ایران است (۶). ولی در تحقیقات انجام شده به‌روش‌های ملکولی و میکروسکپی، گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس و بابزیا اکلتنس* در گاوهای مناطق مختلف کشور تشخیص داده شده است (۷، ۸). مطالعات مختلف در کشورها و شهرهای مختلف نشان می‌دهد پویایی عفونت‌های بابزیایی به عوامل متعددی مانند اندازه و ترکیب جمعیت کنه‌ها، ظرفیت انتقال ناقل و حساسیت گاو بستگی دارد که می‌تواند با نژاد، سن و شرایط فیزیولوژیکی متفاوت باشد، هم‌چنین شرایط اقلیمی و آب و هوایی هر منطقه جغرافیایی نیز در شیوع عفونت بسیار مؤثر است (۵). بررسی عوامل خطر ازجمله عوامل مربوط به میزبان، انگل و محیط در بررسی‌های شیوع بیماری‌ها در هر منطقه می‌تواند در اقدامات پیشگیری و کنترل بیماری‌ها توسط سازمان‌های مسئول کمک کننده باشد. در مطالعات اندک انجام‌شده درخصوص شناسایی گونه‌های بابزیا در گاوهای ایران عمدتاً از روش میکروسکوپی استفاده شده است و درخصوص شناسایی عوامل بابزیایی در گاوهای استان گیلان اطلاعات جدیدی موجود نیست (۹). لذا این تحقیق باهدف شناسایی ملکولی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* و بررسی عوامل خطر در جمعیت گاوهای استان گیلان انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

محل موردمطالعه: استان گیلان با مساحت ۷۱۱۱۴ کیلومتر مربع در میان رشته‌کوه‌های البرز و تالش در شمال ایران جای گرفته است. این استان با استان‌های اردبیل در غرب، مازندران در شرق، زنجان در جنوب و کشور آذربایجان و دریای خزر در شمال هم‌مرز و همسایه است. استان گیلان بین ۳۶ درجه و ۳۶ دقیقه تا ۳۸ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۲۵ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۳۴ دقیقه طول شرقی از نصف‌النهار گرینویچ قرار دارد. میانگین بلند مدت بارش سالانه استان ۱۹۶ میلی‌متر، رطوبت نسبی ۷۲ درصد و میانگین بیشینه و کمینه دما به‌ترتیب ۲۴/۱ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد می‌باشد (۱۰). براساس آمار معاونت امور دام وزارت جهادکشاورزی در سال ۱۳۹۷ تعداد ۴۰۰۰ گاو اصیل، ۹۶۰۰۰ گاو آمیخته، ۲۵۱۰۰۰ گاو بومی، ۷۲۰۰ گاومیش، ۷۰۸۰۰۰ گوسفند و ۹۸۰۰۰ بز در استان گیلان وجود داشته است که این جمعیت دامی ۱۸۴ هزار تن شیر و ۲۴ هزار تن گوشت قرمز را در سال ۱۳۹۷ تأمین کرده‌اند (۱۱).

جامعه آماری و روش نمونه‌گیری: مطالعه به‌صورت توصیفی مقطعی بر روی ۱۶۲ گاو در گاوداری‌های صنعتی (۴۰) نیمه‌صنعتی (۶۷) و سنتی (۵۵) استان گیلان در شهرستان‌های آستانه‌اشرفیه، رشت، رودبار، رودسر، شفت، صومعه‌سرا، طوالش، فومن، لاهیجان و لنگرود با همکاری کارکنان محترم اداره کل دامپزشکی استان گیلان در سال ۱۳۹۷ انجام گرفت (شکل ۱). از هر دام دو میلی‌لیتر خون از ورید وداج تهیه شد و به‌داخل لوله حاوی ماده ضدانعقاد (ای.دی. تی.آ) منتقل گردید. هم‌چنین پرسشنامه‌ای برای هر نمونه تکمیل شد و نمونه‌های خون در کنار یخ به آزمایشگاه انگل‌شناسی و بیولوژی ملکولی واقع در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان ارسال گردید. در هر نوبت مراجعه به دامداری‌های از پیش تعیین‌شده، دام‌ها به‌طور تصادفی انتخاب و در هر بازدید و نمونه‌گیری اطلاعاتی شامل نام دامدار، روستا/ منطقه، تعداد دام، کد دام، سابقه بیماری در گله، فصل سال (بهار، تابستان، پاییز، زمستان)، نوع دامداری ازنظر مدیریت (صنعتی، نیمه‌صنعتی، سنتی)، نحوه تغذیه (چرا در مرتع، تغذیه داخل دامداری و چرا)، سطح بهداشتی دامداری (خوب، پایین، معمولی)، ناقلین موجود در دامداری (مگس‌های گزنده، کنه)، سم‌پاشی در فصول گرم سال (خیر، بله)، فاصله بین دامداری‌ها

(زیر ۱ کیلومتر،۱ تا ۵ کیلومتر)، تراکم گله (بالا، پایین، معمولی)، نژادگاو (خارجی، دو رگ، بومی)، سن دام (۱ تا ۳ سال، ۳ تا ۵ سال، بیش از ۵ سال)، جنس دام (نر، ماده) در فرم مربوطه ثبت و شماره فرم بر روی کلیه لوله‌ها درج می‌شد. کلیه نمونه‌ها در فصل تابستان، ارتفاع ۵۰۰-۰ متر بالای سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۰-۴۸ درجه شرقی و عرض جغرافیایی بیش از ۳۶ درجه شمالی اخذ شدند.



شکل ۱: موقعیت استان گیلان در نقشه ایران و شهرستان‌های نمونه‌گیری شده که بارنگ خاکستری نمایش داده‌شده‌اند

استخراج DNA از خون: در این تحقیق جهت استخراج DNA از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از کیت مخصوص استخراج DNA از خون و بافت ساخته شده توسط شرکت MBST (ایران) استفاده شد و طبق دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج DNA انجام گرفت. جهت تعیین میزان و خلوص DNA استخراجی، چگالی نوری محصول موردنظر با استفاده از اسپکتروفتومتر و با طول‌موج ۲۶۰ و ۲۸۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار گرفت، علاوه بر این DNA استخراجی بر روی ژل آگارز مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۱۲).

واکنش زنجیره پلیمراز و واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای: برای شناسایی جنس *بابزیا* از دو آغازگر روبه‌جلو ThBab (F) و معکوس ThBab(R) از ژن ۱۸S rRNA که قطعه‌ای در حدود ۴۰۰-۴۳۰ جفت باز را تکثیر می‌کردند استفاده شد. در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای از محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز استفاده شد. در این واکنش برای تکثیر اختصاصی*بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* به‌ترتیب از دو آغازگر روبه‌جلو bigemina (F) و bovis (F) استفاده شد که محصول هر یک از این آغازگرهای اختصاصی با آغازگر معکوس ThBab(R) برای *بابزیا بایجمینا* حاوی ۲۱۰ جفت باز و *بابزیا بوویس* حاوی ۱۳۲ جفت‌باز بود (جدول ۱). کلیه واکنش‌ها در میکرو تیوب‌های ۲۰۰ میکرولیتری و در حجم ۲۵ میکرولیتر که دارای موادی به‌شرح زیر بودند انجام شد: ۲/۵ میکرولیتر بافر PCR (X10)، ۰/۷۵ میکرولیتر کلرید منیزیوم (mM۵۰) با غلظت نهایی ۱/۵ میلی‌مولار، ۰/۵ میکرولیتر dNTP(10mM) 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 پلیمراز Taq (5U/µL) با غلظت نهایی ۰/۶۲۵ واحد در ۲۵ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNA الگو مخصوص هر نمونه و ۱۹/۱۲۵ میکرولیتر آب مقطر (دو بار تقطیر استریل). پس از ترکیب مواد موردنیاز میکروتیوب‌ها به ترموسایکلر (بیو راد تی-۱۰۰، ساخت آمریکا) در ۳۵ چرخه با برنامه دمایی مشخص منتقل شد (جدول ۲). دمای اتصال در واکنش زنجیره پلیمراز اولیه ۵۶ درجه سانتی‌گراد و دمای اتصال در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بایجمینا* ۵۳ و *بابزیا بوویس* ۵۸ درجه سانتی‌گراد بود. پس از اتمام کار دستگاه ترموسایکلر محصولات تکثیرشده روی ژل آگارز ۱/۵ درصد در ولتاژ ۱۰۰ ولت به‌مدت ۶۰ دقیقه الکتروفورز شد. در مرحله آخر برای مشاهده باندها در سطح ژل، ژل به‌مدت ۲۰ دقیقه در ظرف حاوی اتیدیوم بروماید قرار داده شد و پس از شست‌وشوی با آب مقطر برای نمایان شدن باندها و عکس‌برداری در دستگاه تابنده اشعه فرابنفش (ژل داک) قرار گرفت.

جدول ۱: آغازگرهای تشخیص جنس *بابزیا* و گونه‌های *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* در گاو بر اساس ژن ۱۸S rRNA

ردیف	نام آغازگر	توالی	منبع	محصول مورد انتظار (جفت باز)
۱	ThBab (F)	5’ CACAGGGAGGTAGTGACAAG 3’	(۱۳)	۴۰۰-۴۳۰
۲	ThBab (R)	5’ CTAAGAATTTCACCTCTGACAG 3’		
۳	*B. bigemina* (F) for Seminested	5` CGTTTTTTCCCTTTTGTTGG 3`	(۱۴)	۲۱۰
۴	*B. bovis* (F) for Seminested	5`CAGGTTTCGCCTGTATAATTGAG 3`	(۱۵)	۱۳۲

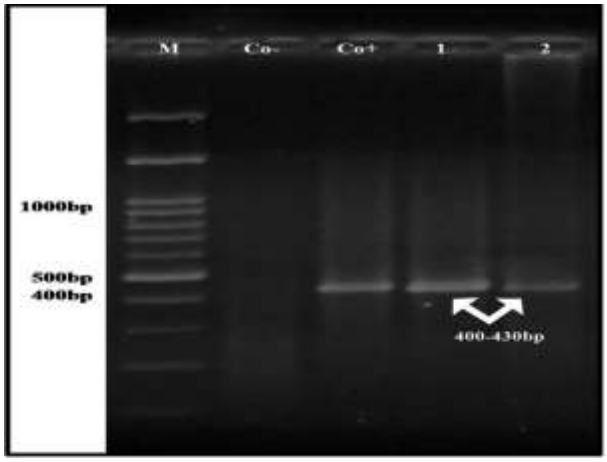
جدول ۲: برنامه تکثیر دی. ان. ای در دستگاه ترموسایکلر

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 طویل شدن	۷۲°C	۱'	
پایان چرخه			
مرحله طویل شدن نهایی	۷۲ °C	۱۰'	

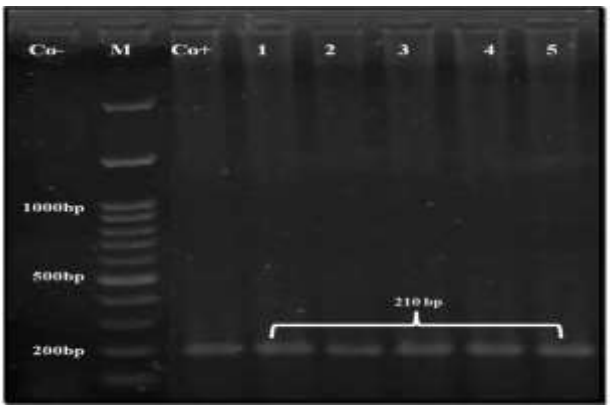
محاسبات آماری: نتایج به‌دست‌آمده با استفاده‌از نرم‌افزار SPSS ویرایش هجدهم تجزیه و تحلیل آماری شدند. برای محاسبه فراوانی داده‌ها و برای پی بردن به این‌که کدام‌یک از فراوانی‌ها با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌داری دارند، از آزمون مربع کای (χ^2) استفاده شد. سطح اطمینان α=۰/۰۵ مبنای قضاوت آماری درنظر گرفته شد.

نتایج

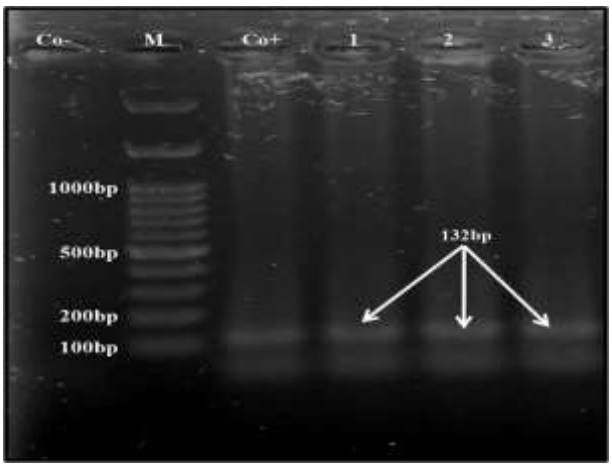
درواکنش‌زنجیره پلیمراز ۴۷ نمونه از ۱۶۲ نمونه مورد آزمایش (۲۹٪) باند موردنظر را تشکیل دادند (شکل ۲). در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بایجمینا* ۲۷ نمونه (۱۶/۷٪) و در واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه آشیانه‌ای اختصاصی *بابزیا بوویس* ۳۵ نمونه (۲۱/۶٪) باند موردنظر را تشکیل دادند (شکل‌های ۳ و ۴). در مقایسه فراوانی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* ازنظرنوع دامداری ازنظر مدیریت (نیمه‌صنعتی)، نحوه تغذیه (داخل دامداری و چرا)، سم‌پاشی در فصول گرم سال (خیر)، تراکم گله (معمولی= ۶ متر مربع به‌ازای هر گاو) اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵). بیش‌ترین فراوانی مربوط به گاوهای دامداری‌های نیمه‌صنعتی باتراکم معمولی و با تغذیه داخل دامداری توأم با چرا که در فصول گرم سال سم‌پاشی نمی‌شدند، مشاهده شد. علاوه بر این در مقایسه فراوانی گونه *بابزیا بایجمینا* ازنظر ناقلین بند پای موجود در دامداری (کنه) و نژاد گاو (خارجی) نیز اختلاف معنی‌دار مشاهده شد (P<۰/۰۵) و بیش‌ترین فراوانی مربوط به گاوهای نژاد خارجی (هلشتاین) بود که روی بدن آن‌ها کنه حضور داشت. در فراوانی هر دو گونه *بابزیا* در گاوهای مورد آزمایش از نظر فصل، سطح بهداشت دامداری، فاصله با دامداری‌های دیگر، سن و جنس دام اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵) (جداول ۳ و ۴).



شکل ۲: محصولات واکنش زنجیره پلیمراز اولیه. چاهک‌های ۱ و ۲: نمونه‌های مثبت تکثیرشده جنس *بابزیا*. مارکر ۱۰۰ جفت بازی



شکل ۳: محصولات واکنش زنجیره پلیمراز نیمه آشیانه‌ای *بابزیا بایجمینا*. چاهک‌های ۴-۱: نمونه‌های مثبت تکثیرشده *بابزیا بایجمینا*. مارکر ۱۰۰ جفت بازی



شکل ۴: محصولات واکنش زنجیره پلیمراز نیمه آشیانه‌ای *بابزیا بوویس*. چاهک‌های ۳-۱: نمونه‌های مثبت تکثیرشده *بابزیا بوویس*. مارکر ۱۰۰ جفت بازی

جدول ۳: میزان شیوع ملکولی *بابزیا بایجمینا* برحسب برخی عوامل خطردراستان گیلان

متغیر	گروه	تعداد گاو مورد آزمایش	موارد مثبت		فاصله اطمینان ۹۵ درصد	P value
			تعداد	درصد	حداقل-حداکثر	
کل	گاو	۱۶۲	۲۷	۱۶/۷	۲۲/۴-۱۰/۹	-
فصل	بهار	۴۴	۱۰	۲۲/۷	۳۵/۱-۱۰/۳	۰/۶۴
	تابستان	۴۵	۷	۱۵/۶	۲۶/۱-۵	
	پاییز	۵۳	۷	۱۳/۲	۲۲/۲-۴/۱	
	زمستان	۲۰	۳	۱۵/۰	-۳۰/۶-۰/۶	
نوع دامداری ازنظر مدیریت	صنعتی	۴۰	۸	۲۰/۰	۳۲/۴-۷/۶	۰/۰۲*
	نیمه‌صنعتی	۶۷	۱۶	۲۳/۹	۳۴/۱-۱۳/۷	
	سنتی	۵۵	۳	۵/۵	-۱۱/۵-۰/۵	
نحوه تغذیه	چرا در مراتع	۳۶	۲	۵/۶	-۱۳-۱/۹	۰/۰۴*
	داخل دامداری و چرا	۱۲۶	۲۵	۱۹/۸	۲۶/۸-۱۲/۹	
سطح بهداشت دامداری	خوب	۴۵	۸	۱۷/۸	۲۸/۶-۶/۶	۰/۰۸
	پایین	۴۵	۳	۶/۷	-۱۴-۰/۶	
	معمولی	۷۲	۱۶	۲۲/۲	۳۱/۸-۱۲/۶	
ناقلین موجود در دامداری	کنه	۱۴۰	۲۷	۱۹/۳	۲۵/۸-۱۲/۸	۰/۰۲*
	مگس‌های خون‌خوار	۲۲	۰	۰/۰	۰-۰	
سم‌پاشی در فصول گرم سال	بله	۳۶	۲	۵/۶	-۱۳-۱/۹	۰/۰۴*
	خیر	۱۲۶	۲۵	۱۹/۸	۲۶/۸-۱۲/۹	
فاصله بین دامداری‌ها	زیر ۱ کیلومتر	۶۰	۸	۱۳/۳	۲۱/۹-۴/۷	۰/۳۸
	۱ تا ۵ کیلومتر	۱۰۲	۱۹	۱۸/۶	۲۶/۲-۱۱/۱	
تراکم گله	بالا	۲۰	۱	۵/۰	-۱۴/۶-۴/۶	۰/۰۱*
	پایین	۶۷	۷	۱۰/۴	۱۷/۸-۳/۱	
	معمولی	۷۵	۱۹	۲۵/۳	۳۵/۲-۱۵/۵	
نژاد گاو	خارجی	۱۷	۵	۲۹/۴	۵۱/۱-۷/۸	۰/۰۱*
	دو رگ	۸۰	۱۸	۲۲/۵	۳۱/۷-۱۳/۳	
	بومی	۶۵	۴	۶/۲	۱۲-۰/۳	
سن	۱ تا ۳ سال	۲۳	۲	۸/۷	-۲۰/۲-۲/۸	۰/۵۳
	۳ تا ۵ سال	۷۱	۱۳	۱۸/۳	۲۷/۳-۹/۳	
	بیش از ۵ سال	۶۸	۱۲	۱۷/۶	۲۶/۷-۸/۶	
جنس	ماده	۱۴۹	۲۶	۱۷/۴	۲۳/۵-۱۱/۴	۰/۳۶
	نر	۱۳	۱	۷/۷	-۲۲/۲-۶/۸	

جدول ۴: میزان شیوع ملکولی *بابزیا بوویس* برحسب برخی عوامل خطردراستان گیلان

متغیر	گروه	تعداد گاو مورد آزمایش	موارد مثبت		فاصله اطمینان ۹۵ درصد	P value
			تعداد	درصد	حداقل-حداکثر	
کل	گاو	۱۶۲	۳۵	۲۱/۶	۲۷/۹-۱۵/۳	-
فصل	بهار	۴۴	۱۵	۳۴/۱	۴۸/۱-۲۰/۱	۰/۰۹
	تابستان	۴۵	۶	۱۳/۳	۲۳/۳-۳/۴	
	پاییز	۵۳	۱۱	۲۰/۸	۳۱/۷-۹/۸	
	زمستان	۲۰	۳	۱۵/۰	۳۰/۶-۰/۶-	
نوع دامداری از نظر مدیریت	صنعتی	۴۰	۵	۱۲/۵	۲۲/۷-۲/۳	۰/۰۰۱*
	نیمه‌صنعتی	۶۷	۲۵	۳۷/۳	۴۸/۹-۲۵/۷	
	سنتی	۵۵	۵	۹/۱	۱۶/۷-۱/۵	
نحوه تغذیه	چرا در مراتع	۳۶	۳	۸/۳	۱۷/۴-۰/۷-	۰/۰۳*
	داخل دامداری و چرا	۱۲۶	۳۲	۲۵/۴	۳۳-۱۷/۸	
سطح بهداشت دامداری	خوب	۴۵	۹	۲۰/۰	۳۱/۷-۸/۳	۰/۰۶
	پایین	۴۵	۵	۱۱/۱	۲۰/۳-۱/۹	
	معمولی	۷۲	۲۱	۲۹/۲	۳۹/۷-۱۸/۷	
ناقلین موجود در دامداری	کنه	۱۴۰	۳۱	۲۲/۱	۲۹-۱۵/۳	۰/۶۷
	مگس‌های خون‌خوار	۲۲	۴	۱۸/۲	۳۴/۳-۲/۱	
سم‌پاشی در فصول گرم سال	بله	۳۶	۳	۸/۳	۱۷/۴-۰/۷۰	۰/۰۳*
	خیر	۱۲۶	۳۲	۲۵/۴	۳۳-۱۷/۸	
فاصله بین دامداری‌ها	زیر ۱ کیلومتر	۶۰	۹	۱۵/۰	۲۴-۶	۰/۱۲
	۱ تا ۵ کیلومتر	۱۰۲	۲۶	۲۵/۵	۳۳/۹-۱۷	
تراکم گله	بالا	۲۰	۳	۱۵/۰	۳۰/۶-۰/۶-	۰/۰۳*
	پایین	۶۷	۹	۱۳/۴	۲۱/۶-۵/۳	
	معمولی	۷۵	۲۳	۳۰/۷	۴۱/۱-۲۰/۲	
نژاد گاو	خارجی	۱۷	۷	۴۱/۲	۶۴/۶-۱۷/۸	۰/۱۱
	دو رگ	۸۰	۱۶	۲۰/۰	۲۸/۸-۱۱/۲	
	بومی	۶۵	۱۲	۱۸/۵	۲۷/۹-۹	
سن	۱ تا ۳ سال	۲۳	۱	۴/۳	۱۲/۷-۴-	۰/۰۹
	۳ تا ۵ سال	۷۱	۱۸	۲۵/۴	۳۵/۵-۱۵/۲	
	بیش از ۵ سال	۶۸	۱۶	۲۳/۵	۳۳/۶-۱۳/۴	
جنس	ماده	۱۴۹	۳۲	۲۱/۵	۲۸/۱-۱۴/۹	۰/۸۹
	نر	۱۳	۳	۲۳/۱	۴۶-۰/۲	

بحث

گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* از عوامل ایجادکننده بابزیوزیس در گاو می‌باشند و در بسیاری از کشورهای دنیا گسترش دارند. گاوهای بدون علامت، عامل بیماری را به‌طور دائم در خون خود دارندو ازعوامل بالقوه انتقال گونه‌های *بابزیا* به کنه‌های ناقل می‌باشند (۳). کنه‌های جنس *ریپی سفالوس، هیالوما، درماسنتور، همافیزالیس و ایکسودس* از ناقلین گونه‌های مختلف *بابزیا* می‌باشند (۳). در بررسی انجام شده درخصوص شناسایی کنه‌های سخت شمال ایران، کنه‌های *ریپی سفالوس (بووفیلوس) آنولاتوس و ایکسودس رسینوس* از شایع‌ترین گونه‌های شناخته شده کنه دام‌های اهلی استان گیلان بودند که نشان می‌دهد حضور انگل‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در گاوهای استان دور از ذهن نمی‌باشد (۱۶). اگرچه درایران مطالعات ملکولی

درخصوص شناسایی گونه‌های *بابزیا* در گاوهای استان‌های مختلف انجام شده است (۱۷، ۱۸، ۱۹). براساس بررسی‌های انجام‌گرفته مدارکی دال بر بررسی عوامل بابزیایی گاو در استان گیلان به‌روش ملکولی موجود نیست. آخرین گزارش بالینی بابزیوزیس ناشی از *بابزیا بوویس* که منجر به تلف شدن ۲۲ گاو در یک گاوداری صنعتی در رشت شده بود به بیش از ۴۰ سال قبل برمی‌گردد (۲۰). در مطالعه میکروسکوپی که تقریباً ۳۰ سال قبل در استان گیلان (شهرستان رشت) انجام شده بود، از مجموع ۲۴۰ نمونه گسترش خونی ۱۴ نمونه (۵/۸۳٪) آلوده به تک‌یاخته *بابزیا* بودند که از این تعداد، ۱۱ نمونه آلوده به *بابزیا بایجمینا* و ۳ نمونه آلوده به *بابزیا بوویس* بودند (۲۱). در مطالعه حاضر که به‌منظور شناسایی گونه‌های *بابزیا* در گاوهای شیری در استان گیلان انجام گرفت از تعداد ۱۶۲ نمونه که به‌روش واکنش زنجیره پلیمراز-نیمه‌آشیانه‌ای آزمایش شدند به‌ترتیب ۱۶/۷٪ و ۲۱/۶٪ آلوده به *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* بودند. در مطالعه مولکولی گونه‌های *بابزیا* در گاوهای استان مازندران آلودگی نمونه‌های گاوی ازنظر *بابزیا بایجمینا و بابزیا بوویس* به‌ترتیب ۳۳/۳۳٪ و ۲۸/۶٪ تعیین گردید (۱۹) هم‌چنین در بررسی شیوع گونه‌های *بابزیا* در گاوهای منطقه شمال غرب ایران به‌روش مولکولی، شیوع آلودگی به *بابزیا بوویس* و *بابزیا بایجمینا* درگاوهای تحت آزمایش به‌ترتیب ۲۴/۸٪ درصد و ۱/۳٪ ارزیابی شد (۱۸). یافته‌های دو تحقیق اخیر در استان‌های مازندران و شمال‌غرب ایران (آذربایجان‌شرقی و غربی) با نتایج تحقیق حاضر هم‌خوانی دارند. در این بررسی‌ها نیز از روش واکنش زنجیره پلیمراز نیمه‌آشیانه‌ای جهت شناسایی گونه استفاده شده است که حساسیت و ویژگی بالاتری نسبت به واکنش زنجیره پلیمراز به‌تنهایی دارد (۲۲) در یک تحقیق در استان آذربایجان‌غربی گونه‌های *بابزیا* در گاو با روش واکنش زنجیره پلیمراز شناسایی شده‌اند که فراوانی نسبی *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در این تحقیق به‌ترتیب ۰/۶۷٪ و ۸/۲٪ بود که میزان شیوع در مقایسه با تحقیق حاضر بسیار پایین‌تر است (۲۳). بررسی‌های انجام شده در کشورهای همسایه ایران نیز مؤید حضور گونه‌های *بابزیا* در گاوها و گاومیش‌های این کشورها است به‌طوری‌که تحقیق انجام شده بر روی ۱۰۰ نمونه خون گاو در کشور ترکیه، آلودگی به گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیابووبیس* به‌ترتیب ۱٪ و ۹٪ گزارش گردید (۲۴). در مطالعه‌ای که در پاکستان با استفاده از روش واکنش زنجیره پلیمراز بر روی ۱۰۰ نمونه خون گاو انجام گرفت، ۱۱٪ نمونه‌ها آلوده به *بابزیا* بوویس و ۱۸٪ آن‌ها به *بابزیا بایجمینا* آلوده بودند (۲۵). در بررسی گونه‌های *بابزیا* در گاومیش‌های کشور عراق ۳۸/۳٪ از نمونه‌ها به *بابزیا بوویس* و ۷/۴٪ به *بابزیا بایجمینا* آلوده بودند (۲۶). در مناطق و کشورهای متفاوت، اختلاف در شیوع گونه‌های *بابزیا* معمولاً از تفاوت اکولوژیکی، نوع آب و هوا، تنوع گسترش گونه‌های ناقل *بابزیا*، مدیریت گاوداری، مقاومت کنه‌ها به سموم، زمان نمونه‌گیری، جمعیت تحت مطالعه و حساسیت و ویژگی آزمون‌های انتخابی ناشی می‌شود (۲۷، ۲۸). در این تحقیق بیش‌ترین فراوانی گونه‌های *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در دامداری‌های نیمه‌صنعتی دیده شد. از آن‌جایی‌که این گاوداری‌ها بیش‌ترین جمعیت گاو دورگ استان گیلان را در خود جای داده‌اند و نحوه مدیریت واحدی نیز ندارند به‌نظر می‌رسد این گاوداری‌ها ظرفیت بالقوه برای انتقال عامل بیماری به ناقلین و گاوهای سالم را داشته باشند. در بررسی‌های انجام شده در دیگر نقاط دنیا نیز نوع مدیریت دامداری در فراوانی گونه‌های *بابزیا* در منطقه نقش داشته است (۲). در این تحقیق نحوه تغذیه نیز از عوامل مؤثر در شیوع عوامل بابزیایی در گاوهای گیلان بود و گونه‌های *بابزیا* در گاوهایی که قسمتی از تغذیه آن‌ها در داخل دامداری و قسمتی دیگر با چرا در مراتع تأمین می‌شد بیش‌تر بود، محققین دیگر در کشورهای تانزانیا، میانمار و تایلند نیز سابقه چرا در مراتع را به‌عنوان یکی از فاکتورهای خطر شیوع عوامل بابزیایی دانسته‌اند زیرا گاوهایی که سابقه چرا در مراتع را دارند به‌راحتی و به‌صورت مستقیم با ناقلین کنه‌ای تماس پیدا می‌کنند و عوامل بابزیایی به آن‌ها منتقل خواهد شد (۲۹، ۳۰، ۳۱). در مطالعه حاضر فراوانی عوامل بابزیایی در گاوهای دامدارانی که سم‌پاشی در فصول گرم سال (همراه با افزایش ناقلین کنه‌ای) انجام نمی‌دادند بیش‌تر بود. بنابراین می‌توان گفت، عدم رعایت اصول بهداشتی در گاوداری‌ها نه‌تنها بر سلامت گاو تأثیر می‌گذارد، بلکه به بقای ناقلین کنه‌ای نیز کمک می‌کند. هم‌چنین، اکثر دامداری‌ها با شرایط بهداشتی نامناسب دارای ساختمان‌های قدیمی هستند و کنه‌ها قادر به پنهان شدن در شکاف‌های ایجاد شده در این ساختمان‌ها می‌باشند. سم‌پاشی با سموم کنه‌کش در این دامداری‌ها می‌تواند به کاهش تعداد کنه و عفونت‌های منتقله از طریق کنه کمک کند. در تحقیق انجام گرفته در برزیل نیز محققان به این نتیجه رسیدند که عدم سم‌پاشی در فصول شیوع کنه باعث شیوع بیماری‌هایی مثل بابزیوزیس و آناپلاسموزیس می‌شود (۳۲). لازم به ذکر است که تراکم دام در جایگاه باعث رقابت بیش‌تر در تغذیه و استراحت دام شده و تنش (استرس) افزایش می‌یابد و درنتیجه ایمنی دام در برابر بیماری‌ها مخصوصاً بیماری‌های منتقله از کنه کاهش می‌یابد. از طرفی رعایت موازین بهداشتی و مبارزه با ناقلین بندپا نیز در این دامداری‌ها چالش مهمی است که معمولاً از عهده دامدار سنتی خارج می‌باشد (۳۳). در این تحقیق در گله‌های گاو با تراکم معمول بیش‌ترین فراوانی گونه‌های بابزیایی مشاهده شد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات انجام شده در کشور تایلند که نشان می‌داد تراکم و تعداد دام موجود در گله از فاکتورهای خطر شیوع بابزیوزیس است هم‌خوانی دارد (۳۰، ۳۴). گونه *بابزیا بایجمینا* در دامداری‌هایی که

در آن‌ها که مشاهده شد و در گاوهای نژاد خارجی (هلشتاین) فراوانی بیش‌تری داشت. در تحقیق انجام گرفته در کشور پاکستان نیز محققین دو عامل حضور کنه در دامداری و نژاد گاو را از فاکتورهای خطر شیوع بابزیوزیس دانسته‌اند (۳۵). نژادهای بوس ایندیکوس گاو نسبت به بوس تاروس مقاومت بیش‌تری در برابر بابزیوزیس دارند که این نتیجه رابطه تکاملی بین، گونه‌های کنه، بابزیا و گاو است. به‌دلیل فشار انتخاب طبیعی، جمعیت‌های بومی گاو که مدت طولانی با کنه‌های محلی و بیماری‌های منتقله از طریق کنه زندگی کرده‌اند، دارای مقاومت ذاتی یا توانایی ذاتی برای ایجاد پاسخ ایمنی خوب در برابر بیماری‌های منتقله از کنه دارند (۵). در این تحقیق نیز مانند دیگر بررسی‌های انجام گرفته در فیلیپین و اتیوپی سن و جنس دام به‌عنوان فاکتورهای خطر شیوع بابزیوزیس شناخته نشدند (۳۶، ۳۷). در حال حاضر رویکرد کنترلی در برابر بابزیوزیس در گاوهای ایران وجود ندارد، زیرا اطلاعات مربوط به اپیدمیولوژی، اکولوژی، بیماری‌شناسی، علائم بالینی و انگل‌شناسی این بیماری محدود است. بابزیوزیس اغلب به‌دلیل شیوع پایین یا تظاهرات بالینی مشترک با دیگر بیماری‌ها مورد توجه دامپزشکان قرار نمی‌گیرد، ولی دام‌های درگیر، ناقل باقی می‌مانند. نتیجه کلی این تحقیق نشان می‌دهد که اگرچه تظاهرات بالینی ناشی از *بابزیا بایجمینا* و *بابزیا بوویس* در استان گیلان نادر است (عدم تظاهرات بالینی می‌تواند ناشی از سویه انگل یا مقاومت ذاتی گاوها باشد) ولی میزان شیوع این دو گونه در دام‌های حامل بالا است که دام‌های حامل می‌توانند خطر بالقوه انتقال عامل بیماری به کنه‌های ناقل و انتشار بیماری در دام‌های حساس باشند. نوع دامداری ازنظر مدیریتی، نحوه تغذیه (داخل دامداری و چرا)، عدم سم‌پاشی در فصول گرم سال و تراکم گله به‌عنوان عوامل خطر در این فراوانی مؤثر می‌باشند. جهت کاهش شیوع عامل بیماری، توجه بیش‌تر به اقدامات بهداشتی و کنترلی لازم است. افزایش آگاهی در گاوداران سنتی و نیمه‌صنعتی (در مورد چرخه زندگی کنه‌ها، فعالیت فصلی و بیماری‌های منتقله از طریق کنه) یک روش مؤثر و ساده برای کنترل عوامل منتقله از طریق کنه در مدت‌زمان کوتاه است. اگرچه *بابزیا بوویس* به‌عنوان عاملی مشترک بین انسان و دام در دیگر کشورها تأیید شده است ولی بابزیوزیس انسانی ناشی از *بابزیا بوویس* هنوز در ایران شناسایی یا تأیید نشده است که می‌تواند به‌دلیل شباهت تظاهرات بالینی بیماری با سایر بیماری‌های تب‌دار انسان باشد. تحقیق درخصوص شناسایی کنه‌های ناقل، حیوانات مخزن و پتانسیل مشترک بودن عوامل بیماری بین دام و انسان در منطقه ضروری به‌نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولین مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان که در انجام این تحقیق یاری نمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

تعارض منافع: بدین‌وسیله نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی: هزینه‌های انجام این پژوهش از طرف موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی در قالب زیر پروژه تحقیقاتی ۰-۳۸-۱۸-۰۲۶-۹۵۰۱۶۸/۷ تأمین گردیده است و عملیات آزمایشگاهی آن در آزمایشگاه بیولوژی ملکولی دامپزشکی واقع در مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع‌طبیعی استان اصفهان انجام شده است.

منابع

1. **Aktaş, M., Kısadere, İ., Özübek, S., Cihan, H., Salıkov, R. and Cirak, V.Y., 2019.** First molecular survey of piroplasm species in cattle from Kyrgyzstan. Parasitology Research. 118(8): 2431-2435.
2. **Dantas-Torres, F., Alves, L.C. and Uilenberg, G., 2017.** Babesiosis'. in Arthropod Borne Diseases, Springer). 347-354.
3. **Bock, R., Jackson, L., De Vos, A. and Jorgensen, W., 2008.** Babesiosis of cattle'. in A Bowman & P Nuttall (eds), Ticks: Biology, Disease and Control. 129, Cambridge University Press, Cambridge. UK. 281-307.
4. **Wodaje, A., Adudna, B. and Hamid, M., 2019.** A Review on Bovine Babesiosis. International Journal of Advanced Research in Biological Sciences. 6(1): 63-70.
5. **Yusuf, J.J., 2017.** Review on Bovine Babesiosis and its Economical Importance. Austin Journal of Veterinary Science and Animal Husbandry. 4(2): 1-8.
6. **Noaman, V., 2014.** Comparison of molecular and microscopic technique for detection of *Theileria spp*. in carrier cattle. Journal of Parasitic Diseases. 38(1): 64-67.
7. **Motavalli-Haghii, M., Etemadifar, F., Fakhar, M., Teshnizi, S.H., Soosaraei, M., Shokri, A., Hajihasani, A. and Mashhadi, H., 2017.** Status of babesiosis among domestic herbivores in Iran: A systematic review and meta-analysis. Parasitology research. 116(4): 1101-1109.
8. **Noaman, V., Ghadimipour, R. and Nabavi, R., 2021.** First report of *Babesia occultans* in two symptomatic cows in Iran. Parasitology Research. 120(5): 1915-1919.
9. **Cheshti, B., Razmi, G. and NaghibI, A., 2013.** A comparative study on haemoprotozoa infection in

apparently healthy cattle in different geographical areas of Iran using PCR method. Journal of Veterinary Microbiology. 9(2): 139-145.

10. **Delavar Sheyda Jalaly, H., Hosseini Khalehjir, S.G., Jamalzadeh, H. and Kami, H.G., 2017.** Biodiversity of Amphibian in Easte of Guilan province. Journal of Animal Environment. 9(2): 131-140. (In Persian)
11. **Seidavi, A.R., Ghanipoor, M., Mirmahdavi, S.A., Hosseinpoor, R. and Ghorbani, A., 2016.** Estimation and Comparison of Economic Values for Productive Characters in Hybrid and Native Cattles of Guilan Province. Journal of Animal Environment. 7(4): 49-58. (In Persian)
12. **Noaman, V., 2013.** A molecular study on Theileria and Babesia in cattle from Isfahan province, Central Iran. Journal of Parasitic Diseases. 37(2): 208-210.
13. **Shayan, P. and Rahbari, S., 2005.** Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. Parasitology Research. 97(4): 281-286.
14. **Gubbels, J., De Vos, A., Van der Weide, M., Viseras, J., Schouls, L., De Vries, E. and Jongejan, F., 1999.** Simultaneous Detection of Bovine Theileria and Babesia Species by Reverse Line Blot Hybridization. Journal of clinical microbiology. 37(6): 1782-1789.
15. **Georges, K., Loria, G.R., Riili, S., Greco, A., Caracappa, S., Jongejan, F. and Sparagano, O., 2001.** Detection of haemoparasites in cattle by reverse line blot hybridisation with a note on thedistribution of ticks in Sicily. Veterinary Parasitology. 99(4): 273-286.
16. **Nabian, S., Rahbari, S., Shayan, P. and Hadadzadeh, H.R., 2007.** Current status of tick fauna in north of Iran. Iranian Journal of Parasitology. 2(1)**:** 12-17.
17. **Khamesipour, F., Doosti, A., Koohi, A., Chehelgerdi, M., Mokhtari-Farsani, A. and Chengula, A.A., 2015.** Determination of the presence of *Babesia* DNA in blood samples of cattle, camel and sheep in Iran by PCR. Archives of Biological Science Belgrade. 63(1): 83-90.
18. **Ghadimipour, R., Noaman, V. and Taghizadeh, M., 2020.** Prevalence and risk factors of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infection in cattle in northwestern Iran. Veterinary Clinical Pathology. 14(54): 155-168. (In Persian)
19. **Vahedi Nouri, N. and Noaman, V., 2020.** The molecular study of *babesia* species in the cattles of Mazandaran province. Journal of Animal Biology. 12(3): 81-90. (In Persian)
20. **Hashemi-Fesharki, R. and Amjadi, A., 1977.** Outbreak of *Babesia bovis* infection in cattle and its control. Archives of Razi Institute. 29(1): 83-86.
21. **Movaseghi, A., 1991.** *Babesiosis of cattle and its status in the city of Rasht*, Tehran University. No of Thesis: 2015.
22. **Nayel, M., El-Dakhly, K.M., Aboulaila, M., Elsify, A., Hassan, H., Ibrahim, E., Salama, A. and Yanai, T., 2012.** The use of different diagnostic tools for *Babesia* and *Theileria* parasites in cattle in Menofia, Egypt. Parasitology Research. 111(3): 1019-1024.
23. **Rajabi, S., Esmaeilnejad, B. and Tavassoli, M., 2017.** A molecular study on *Babesia* spp. in cattle and ticks in West Azerbaijan province, Iran. Veterinary Research Forum. 8(4): 299-306.
24. **Aktas, M. and Ozubek, S., 2015.** Molecular and Parasitological survey of bovine piroplasms in the Black Sea region, including the first report of babesiosis associated with Babesia divergens in Turkey. Journal of medical entomology. 52(6): 1344-1350.
25. **Chaudhry, Z., Suleman, M., Younus, M. and Aslim, A., 2010.** Molecular detection of Babesiabigemina and Babesia bovis in crossbred carrier cattle through PCR. Pakistan Journal of Zoology. 42(2).
26. **Ateaa, R. and Alkhaled, M., 2019.** Microscopic identification, molecular and phylogenetic analysis of *Babesia* species in buffalo from slaughter house in Al-Najaf city of Iraq. Iraqi Journal of Veterinary Sciences. 33(2): 251-258.
27. **OIE. 2012.** 'Bovine anaplasmosis, Section 2.4. Bovinae'. in World Organization for Animal Health. OIE terrestrial manual Paris, France. 589-600**.**
28. **Radostits, O., Gay, C., Blood, D. and Hinchliff, K., 2007.** Veterinary medicine. A text book of the diseases of cattle, sheep, goats and horses'. WB Saunders Ltd., London, UK. 1349-1361.
29. **Bawm, S., Htun, L.L., Maw, N.N., Ngwe, T., Tosa, Y., Kon, T., Kaneko, C., Nakao, R., Sakurai, T. and Kato, H., 2016.** Molecular survey of Babesia infections in cattle from different areas of Myanmar. Ticks and tick-borne diseases. 7(1): 204-207.
30. **Jirapattharasate, C., Moumouni, P.F.A., Cao, S., Iguchi, A., Liu, M., Wang, G., Zhou, M., Vudriko, P., Changbunjong, T. and Sungpradit, S., 2016.** Molecular epidemiology of bovine *Babesia* spp. and *Theileria orientalis* parasites in beef cattle from northern and northeastern Thailand. Parasitology international. 65(1): 62-69.
31. **Swai, E., Karimuribo, E., French, N., Fitzpatrick, J., Bryant, M., Kambarage, D. and Ogden, N., 2007.** Seroprevalence of *Babesia bigeminain* smallholder dairy cattle in Tanzania and associated risk factors. Journal of the South African Veterinary Association. 78(1): 15-20.
32. **Costa, V.M.d.M., Ribeiro, M.F.B., Duarte, A.L.L., Mangueira, J.M., Pessoa, A.F.A., Azevedo, S.S., Barros, A.T.M.d., Riet-Correa, F. and Labruna, M.B., 2017.** Seroprevalence and risk factors for cattle anaplasmosis, babesiosis, and trypanosomiasis in a Brazilian semiarid region. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária. 22(2): 207-213.
33. **Muhanguzi, D., Matovu, E. and Waiswa, C., 2010.** Prevalence and characterization of *Theileria* and *Babesia*

species in cattle under different husbandry systems in western Uganda. International Journal of Animal and Veterinary Advances. 2(2): 51-58.

34. **Simking, P., Yatbantoong, N., Saetiew, N., Saengow, S., Yodsri, W., Chaiyarat, R., Wongnarkpet, S. and Jittapalapong, S., 2014.** Prevalence and risk factors of Babesia infections in cattle trespassing natural forest areas in Salakpra Wildlife Sanctuary, Kanchanaburi Province. Journal of Tropical Medicine and Parasitology. 37(1): 10-19.

35. **Farooqi, S.H., Ijaz, M., Rashid, M.I., Aqib, A.I., Ahmad, Z., Saleem, M.H., Hussain, K., Islam, S., Naeem, H. and Khan, A., 2017.** Molecular epidemiology of *Babesia bovis* in bovine of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. Pakistan Veterinary Journal. 37: 275-280.

36. **Yu, L., Terkawi, M.A., Cruz-Flores, M.J., Claveria, F.G., Aboge, G.O., Yamagishi, J., Goo, Y.K., Cao, S., Masatani, T. and Nishikawa, Y., 2013.** Epidemiological survey of *Babesia bovis* and *Babesia bigemina* infections of cattle in Philippines. Journal of Veterinary Medical Science. 75(7): 995-998.

37. **Lemma, F., Girma, A. and Demam, D., 2016.** Prevalence of bovine babesiosis in and around Jimma Town south western Ethiopia. Advances in biological research. 9: 338-439.