

بررسی تغییرات خونی متعاقب عفونت تجربی با بابزیا اویس در بره ها

دکتر حمیدرضا حدادزاده^۱ دکتر پروانه خضرای نی^۲ دکتر صادق رهبری^۱

دکتر موسی توسلی^۳ دکتر فرهاد امینی^۴

Study of haematological changes in experimentally infected lambs by *Babesia ovis*

Haddadzadeh, H.,¹ Khazraii nia, P.,² Rahbari, S.,¹ Tavassoli, M.,³ Amini, F.⁴

¹Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran. ²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran. ³Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran. ⁴Department of Aquatic Animals Health, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.

Objective: This study was conducted to evaluate the pathogenicity of *B. ovis* isolate in Iran under experimentally condition.

Design: Experimental study.

Procedure: The infected blood from Urmia naturally infected sheep was injected to the 7 healthy lambs. The blood samples of the lambs were taken before and at the third, fifth, ninth and eleventh days after injection. Haematological studies were done on these samples. **Statistical analysis:** Analysis of variance, Duncan's multiple range, test. **Results:** The lambs showed clinical symptoms 3-5 days after injection. The comparison between the blood parameter (MCHC, Ht, Hb and RBCs count) before and after injection, showed highly significant decrease and increased The MCV ($P < 0.001$). Total WBC decreased, but differential count had no significant differences.

Conclusion: In this study, it was shown that the *B. ovis* isolate from naturally infected sheep in Iran is able to induce acute babesiosis experimentally. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran*. 57, 2: 57-59, 2002.

Key words: Lamb, Sheep, *Babesia ovis*, Haematology, Iran.

هدف: بررسی تغییرات هماتولوژیک در بابزیوز تجربی، به وسیله ایزوله جدا شده از گوسفندان ارومیه در بره ها.

طرح: مطالعه تجربی.

حیوانات: ۷ رأس بره زیر ۶ ماه.

روش: تزریق خون آلوده به بابزیا اویس (اخذ شده از گوسفندان ارومیه) به ۷ رأس بره زیر ۶ ماه. خونگیری از بره ها قبل از تزریق خون آلوده و در روزهای سوم، پنجم، نهم و یازدهم پس از تزریق خون آلوده به بابزیا و مطالعات هماتولوژیک بر روی نمونه های خون.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمون تجزیه واریانس و مقایسه میانگینها.

نتایج: مقایسه میانگین پارامترهای خونی (شمارش MCHC, Ht, Hb, RBC) کاهش معنی داری را در روزهای بعد از تزریق نشان داد و میزان MCV به طور معنی داری افزایش یافت ($P < 0.001$) در ارتباط با گلبولهای سفید لکوپنی مشاهده شد اما در شمارش تفریقی آنها اختلاف معنی داری وجود نداشت.

نتیجه گیری: در این تحقیق مشاهده گردید که ایزوله های بابزیا اویس موجود در ایران به طور تجربی نیز قادر به آلوده ساختن گوسفندان می باشند و علائم بالینی و تغییرات هماتولوژیک را در گوسفندان ایجاد می نماید. مجله دانشکده دامپزشکی

دانشگاه تهران، (۱۳۸۱)، دوره ۵۷، شماره ۲، ۵۹-۵۷.

واژه های کلیدی: بابزیواویس، هماتولوژی، ایران، گوسفند، بره.

بابزیواویس *Babesia ovis* در اغلب نواحی ایران بخصوص در اواخر بهار بیماری کشنده ای را با عوارض تب، زردی، کمخونی و هموگلوبینوری ایجاد می کند. ناقلین این انگل در طبیعت کنه های خانواده ایکسو دیده می باشند. Delpy در سال ۱۹۳۶ در مؤسسه رازی با تلقیح خون دامهای بیمار به بره های سالم مطالعه اجرام بابزیای گوسفند و بز را آغاز و حضور بابزیاموتازی (*B. motasi*) و بابزیواویس را در ایران مورد مطالعه قرارداد (۳). رفیعی در سال ۱۹۶۶ پراکنندگی بابزیاموتازی را محدود به مناطق شمال غرب دانست (۸). انوار در سال ۱۹۷۴ بابزیوز گوسفندی ناشی از *B. ovis* حاد گوسفندان که در سطح کشور پراکنده است را گزارش نمود (۲).

با توجه به اهمیت بابزیوز گوسفندان در ایران از آنجایی که تاکنون مطالعه دقیقی در مورد پاتوژنز ایزولیت های جدا شده از ایران صورت نگرفته است مطالعه حاضر به منظور ورود در این مبحث طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش کار

تعداد ۲۰۰ نمونه خون از گوسفندان مشکوک به آلودگی به بابزیا از مناطق مختلف ایران در محلول آلسور به نسبت ۵۰ درصد جمع آوری و در مجاورت یخ به آزمایشگاه ارسال گردید. محلول آلسور شامل ۲۰/۵ گرم دکستروز، ۸ گرم سیترات سدیم، ۰/۵۵ گرم اسید سیتریک، ۴/۲ گرم کلرید سدیم می باشد که با آب مقطر به حجم ۱ لیتر رسانده می شود. این محلول در لوله های ونوجکت به میزان ۵ میلی لیتر توزیع و به مدت ۱۰ دقیقه با ۱۰ پوند فشار اتوکلاو شد.

(۱) گروه آموزشی انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۲) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

(۳) گروه آموزشی انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

(۴) گروه آموزشی بهداشت و بیماریهای آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

از نمونه های ارسالی به آزمایشگاه گسترش نازک تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی شدند. از هر گسترش ۵۰ میدان میکروسکوپی جهت جستجوی اجرام بابزیایی مورد مشاهده قرار گرفت و در موارد مثبت نوع انگل و درصد آلودگی گویچه های قرمز تعیین گردید.

در این بررسی بالاترین میزان پارازیتمی *B. ovis* (۱۲ درصد) مربوط به گوسفندان ارومیه بود که برای آلودگی تجربی انتخاب شد.

خون آلوده به مدت ده دقیقه با ۸۰۰ گرم سانتریفوژ گردید و پلاسما آن جدا شد سپس رسوب گویچه های قرمز سه نوبت با محلول PBS با pH = ۷/۲ شستشو شدند و حجم رسوب با PBS به حجم اولیه رسید. این خون با حداقل میزان آلودگی $2 \times 10^6 / \mu L$ به ۷ رأس بره زیر ۶ ماه سالم تلقیح شد و تا ۱۴ روز پس از تلقیح دامها مورد معاینه بالینی روزانه قرار گرفتند و به طور متناوب خون در لوله های حاوی ماده ضد انعقاد جهت آزمایشات هماتولوژی و تعیین میزان پارازیتمی از حیوانات تحت بررسی اخذ گردید.

نتایج

بره ها ۶ - ۴ روز پس از تلقیح خون آلوده به بابزیواویس علائم کلینیکی را نشان دادند. بیحالی، بی اشتها، تب ۴۲ درجه سانتیگراد افزایش تعداد



جدول ۱ - توزیع تغییرات پارامترهای هماتولوژیک در آلودگی تجربی بره ها به بابزیالوویس

پارامترهای هماتولوژی										
Monocyte%	Eosinophil%	Lymphocyte%	Neutrophil%	WBC × 10 ³ μL	MCHC %	MCVfl	RBC × 10 ⁶ μL	Hbg/dl	Ht %	روزهای خونگیری
۱/۸۶ ± ۰/۴۶a	۱/۸۶ ± ۰/۴۶a	۴۷/۴۳ ± ۴/۵۶b	۴۹ ± ۵/۰۲ab	۲/۹۲۵ ± ۰/۲۲۷a	۴۰/۴۸ ± ۲/۵۶a	۱۹/۵۱ ± ۰/۷۵b	۱۳/۸۴۵ ± ۰/۴۶۷a	۱۰/۷۵ ± ۰/۵۵a	۲۷ ± ۱a	اول
۱ ± ۰/۳۱a	۱/۴۳ ± ۰/۳۷a	۴۲/۵۷ ± ۴/۶b	۵۵ ± ۵ ab	۵/۳۳۱ ± ۰/۴۱۳b	۳۵/۰۹ ± ۲/۲۱a	۲۹/۵۹ ± ۲/۰۸ab	۸/۶۹ ± ۰/۶۷b	۸/۷۵ ± ۰/۵۲a	۲۵ ± ۰/۷۹a	سوم
۱/۴۳ ± ۰/۳a	۲/۱۴ ± ۰/۳۴a	۳۲/۴۳ ± ۲/۸ab	۶۴ ± ۴a	۴/۱ ± ۳/۸۲ab	۳۳/۴۷ ± ۲/۵۳a	۳۸/۲۷ ± ۴/۵۴b	۵/۰۲ ± ۰/۵۱۹c	۶ ± ۰/۴۷c	۱۸ ± ۰/۹۸b	پنجم
۱/۵۷ ± ۰/۳a	۱/۴۳ ± ۰/۴۳a	۵۵ ± ۲/۸۹bc	۴۲ ± ۳/۱۳b	۲/۳۸۵ ± ۰/۲۱۸c	۳۷/۹۱ ± ۲/۸۷a	۲۸/۹۶ ± ۳/۶۶ab	۶/۴۵ ± ۰/۶۳bc	۶/۶۴ ± ۰/۵۶b	۱۷/۵۷ ± ۰/۹۵b	نهم
۱/۴۳ ± ۰/۳a	۱/۵۷ ± ۰/۳a	۵۷ ± ۲/۲۸bc	۴۰ ± ۲/۵۷b	۲/۴۵۰ ± ۰/۲۴۰c	۳۳/۸۱ ± ۲/۶۷a	۳۶/۶۵ ± ۳/۹۷b	۴/۸۹ ± ۰/۴۸c	۵/۷۵ ± ۰/۵۴c	۱۷ ± ۰/۸۲b	یازدهم

- حروف نامشابه به معنی تغییرات آماری معنی دار است (P < ۰/۰۵).

متوسط MCV در روز اول 107.5 ± 19.5 fL و با روند افزایش در روز یازدهم به 105.4 ± 38.2 fL لیتر رسید. که حاکی از افزایش میانگین حجم گلبولهای قرمز می باشد. چون کمخونی از نوع جبران پذیر است، افزایش تعداد اریتروسیت‌های نابالغ (ریکولوسیتها) وجود دارد که از نظر اندازه بزرگتر از اریتروسیت‌های بالغ هستند ولی در نشخوارکنندگان حضور ریکولوسیتها در خود محیطی بسیار نادر است حتی اگر در آنمیهای جبران پذیر آنیزوسیتوز یعنی درشتتر بودن بعضی از گلبولهای قرمز در گسترش محیطی مشاهده گردد (۴، ۶). تغییرات MCV از نظر آماری بسیار معنی دار بود ($P < 0.01$).

میانگین میزان MCHC روند کاهش داشت و از $48.4 \pm 2.56\%$ به $43.47 \pm 2.53\%$ رسید که این یافته با کاهش غلظت هموگلوبین و افزایش MCV همخوانی دارد.

در این تحقیق تعداد MCHC روند کاهش را نشان داد ولی شمارش تفریقی لکوسیت ها تغییرات قابل توجهی را نداشت. گزارش Anoz و همکاران در سال ۱۹۷۹ در گوسفندان طحال برداشته که به طور طبیعی به بابزیامبتلا شدند حاکی از وقوع لکوسیتوز، لنفوسیتوز، نوتروفیلی و منوسیتوز ضعیف می باشد که با این تحقیق همخوانی ندارد (۱).

در مورد سایر حیوانات در ابتلا به بابزیور هم لکوسیتوز و هم لکوپنی گزارش شده است. کاهش تعداد گلبولهای سفید ممکن است به علت حضور کمخونی جبران پذیر و هیپرپلازی مغز استخوان در جهت اریتروپویز باشد.

References

1. Anosa, VO., Isoun, TT. and Oladosu, L.A.(1979): Splenectomy in Sheep, technique, haematological changes, and the haematology of the precipitated anaplasmosis and babesiosis. Zentralblatt. Fur. Veterinarmedizin. 26A, 4: 327-336.
2. Anwar, M. (1974): Geographical distribution of blood protozon parasites of ruminant in Iran. Bull. off. Int. Epiz. 81, 9-10: 793-798.
3. Delpy, R.L.P. (1936): Agents en Iran dans le sang des animaux domestiques. Bull path exot (29) 157-161.
4. Feldman, B.F., Zinke, J.G. and Jain, N.C. (2000): Veterinary Haematology, 5th ed. WB.Saunders company, Philadelphia, USA, PP: 112-113.
5. Khalacheva, M., Mechenova, E. (1976): Haematological and biochemical investigations of splenectomized sheep infected with *Babesia ovis*. Veterinario. Meditsinski. Nauki 13, 8: 48-55.

تنفس و ضربان قلب و تنفس شکمی کاملاً محسوس بود. کمخونی، زردی مختصر مخاطات، لاغری و زمینگیری نیز مشاهده گردید. دوره کمون بیماری ۳ - ۵ روز و دوران پارازیتی از روز پنجم تا چهاردهم بعد از عفونت ادامه داشت و تمامی حیوانات تلقیح شده پس از طی دوره نقاهت خود به خود بهبود یافتند. پارازیتی در زمان اوج خود از ۱ تا ۱۰ درصد متغیر بود. علائم بالینی در روز ششم به اوج خود رسید و با روند ثابتی تا روز دهم ادامه یافت از روز دهم به بعد سیر نزولی داشت. تغییرات فاکتورهای خونی در جدول ۱ نشان داده شده است.

بحث

چهار الی شش روز پس از تلقیح خون آلوده، بره ها علائم کلینیکی ابتلا به بابزیالوویس را نشان دادند که با منابع همخوانی دارد (۳، ۷، ۹). میانگین هماتوکریت روز اول قبل از تلقیح 27 ± 1 درصد بود و با روند کاهش در روز پنجم به 18 ± 0.98 درصد رسید. میانگین هموگلوبین نیز روز اول قبل از تلقیح خون آلوده 107.5 ± 19.5 و تا روز پنجم پس از تلقیح به 105.4 ± 38.2 g/dl رسید. میانگین تعداد RBC از $13.845 \times 10^6 \pm 0.467 \times 10^6 / \mu L$ به $8.69 \times 10^6 \pm 0.67 \times 10^6 / \mu L$ کاهش یافت. کاهش میانگین هماتوکریت، هموگلوبین و تعداد RBC قبل و بعد از تلقیح خون آلوده از نظر آماری بسیار معنی دار بود ($P < 0.01$). کاهش تعداد RBC، میزان هموگلوبین و هماتوکریت در مطالعات Obi و Akinboade در سال ۱۹۸۴ که بر روی آلودگی طبیعی گوسفندان به بابزیالوویس کار کرده بودند نیز گزارش شده است (۷). تغییرات هماتولوژیک در گوسفندانی که طحال آنها برداشته شده بود و به طور طبیعی آلوده به بابزیالوویس شده بودند در گزارش Anosa و همکاران در سال ۱۹۷۹ با تحقیق حاضر همخوانی دارد.

در بررسی Anosa هماتوکریت از 27.2 ± 2.6 درصد در طی ۷ روز پس از آلودگی به 4.2 ± 11.4 درصد رسید. او در بررسی مغز استخوان هیپرپلازی اریتروئید که حاکی از علائم جبرانی بود مشاهده کرد (۱). در مطالعات Mechenova و Khalacheva در آلودگی تجربی به بابزیالوویس در گوسفندان بالغ و بره ها کاهش تعداد اریتروسیت و میزان هموگلوبین، افزایش اوره و بیلی روبین گزارش گردید. تغییرات این پارامترها در گوسفندان بالغ شدیدتر از بره ها بود. تغییرات خونی در روزهای ششم، هفتم و هشتم بعد از تلقیح خون آلوده بارزتر بود که با تحقیق حاضر همخوانی دارد (۵).

در مطالعات Voyvoda و همکاران در سال ۱۹۹۷ علاوه بر بررسی تغییرات هماتولوژیک در عفونت طبیعی گوسفندان نژاد White Karaman که با این تحقیق همخوانی دارد تغییرات غلظت آهن سرم، مس و TIBC نیز مورد بررسی قرار گرفت (۹).



6. Meyer, D.Y. and Harvey, Y. W. (1998): Veterinary Laboratory Medicine Interpretation and Diagnosis. 2nd ed. WB.Saunders, Philadelphia, USA, PP:53.
7. Obi, Tu. and Akinboade, OA. (1984): West African Dwarf Sheep clinical syndrome, packed cell volume, erythrocyte and haemoglobin levels in naturally occurring babesiosis and anaplasmosis. International Goat and Sheep Research 2, 3: PP:197-201.
8. Rafyi, A. and Meghami. (1966): Contribution aletude de quelques parasites du sang du mouton Rapport presente a la Reunion internationale F.A.O. -O.I.E. Surles Maladies du Mouton Rome 19-24 sep.
9. Voyvoda, H., Sekin, S., Kaya, A., Bildik, A. (1997): Modification in serum iron and copper concentrations, total and latent iron binding capacity (TIBC-LIBC) and transferrin saturation (TS) in natural Babesia ovis infections in sheep. Turk. Veterinerlike. Ve Hayvancilik. Dergisi, 21: 31-37.

