مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۶، شماره۱، ۱۴۰۰، ۱۳-۸
مقاله پژوهشی

تمایز ملکولی تیپ‌های *تریپانوزما اوانسی* در شترهای یک کوهانه (*کملوس دروماداریوس*) در استان سیستان و بلوچستان

فرشته میرشکار[۱]، محمد یخچالی[۲]، فریبرز شریعتی‌شریفی[۳]

[۱] *گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران*
[۲] *گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران*
[۳] *گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران*

تاریخ دریافت: ۱۰ شهریور ماه ۱۳۹۹، **تاریخ پذیرش:** ۷ آبان ماه ۱۳۹۹
10.22059/jvr.2020.275071.2901 https://dorl.net/dor/20.1001.1.20082525.1400.76.1.2.0

چکیده

زمینهٔ مطالعه: تریپانوزوموزیس یکی از بیماری‌های انگلی خونی با اهمیت در دامپزشکی با گسترش جهانی است که توسط *تریپانوزوما اوانسی* (راسته کاینتوپلاستیدا: خانواده تریپانوزوماتیده) با دو تیپ A در شتر، گاو، گاومیش و اسب و B در شتر گزارش شده است.

هدف: تمایز ملکولی آلودگی *تریپانوزما اوانسی* تیپ A و B در شترهای یک کوهانه (*کملوس دروماداریوس*) در استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران بود.

روش‌کار: از ۳۶۹ نفر شتر یک کوهانه در مناطق مختلف استان سیستان و بلوچستان به طور تصادفی نمونه خون ورید وداجی تهیه شد. DNA ژنومی تریپانوزما استخراج شد و به ترتیب قطعات ۲۰۵ جفت‌باز و ۴۳۶ جفت‌باز از ژن‌های RoTat 1.2 VSG (*تریپانوزوما اوانسی* تیپ A) و Minicircle genes (*تریپانوزوما اوانسی* تیپ B) به روش PCR تکثیر گردید.

نتایج: یافته‌های ملکولی نشان داد گونه *تریپانوزوما* عامل آلودگی در تمامی شترهای آلوده استان سیستان و بلوچستان *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A می‌باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: یافته‌های ملکولی نشانگر آن بود که عامل آلودگی در شترهای منطقه مانند اکثر نقاط دنیا فقط *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A می‌باشد.

کلمات کلیدی: فراوانی، *تریپانوزما اوانسی* تیپ A، شتر، *کملوس دروماداریوس*، PCR

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: محمد یخچالی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
پست الکترونیکی: m.yakhchali@urmia.ac.ir

مقدمه

تریپانوزوما اوانسی (راسته کاینتوپلاستیدا: خانواده تریپانوزوماتیده) تک‌یاخته انگل خونی و سالیوارین با اهمیت در دامپزشکی بوده و عامل مهمی در کاهش فرآورده‌های دامی در دنیا می‌باشد (۲۶). تک‌یاخته *تریپانوزوما اوانسی* به دلیل از دست دادن کاینتوپلاست مورد نیاز برای تبدیل به شکل پروسیکلیک از *تریپانوزوما بروسئی* زیر گونه‌ی *تریپانوزوما بروسئی* به نام *تریپانوزوما بروسئی اوانسی* مشتق شده است (۱۳). آلودگی با این انگل از حیوانات اهلی و وحشی از جمله شتر، اسب، گاو، گاومیش، خوک و سگ به اسامی بیماری سورا در آسیا و هندوستان، الدباب یا ال‌جفر در آفریقا و مال دو کادراس یا مورینا در آمریکای مرکزی و جنوبی گزارش شده است (۱۴،۲۰). این تک‌یاخته‌ی انگلی عمدتاً در مناطق صحرایی و نیمه صحرایی و آب و هوای مدیترانه‌ای حضور دارد (۱۱). میزان ابتلا و تلفات ناشی از بیماری تریپانوزوموزیس در شتر به ترتیب بیش از ۳۰ درصد و در حدود ۳ درصد گزارش گردیده است (۲). در ایران، فراوانی آلودگی *تریپانوزوما اوانسی* در شتر ۱۰ درصد گزارش شده است (۳۶). در مطالعات گزارش شیوع *تریپانوزوما اوانسی* در شترهای مناطق جنوب ۴/۷۶-۱/۶ درصد، جنوب شرق ۱۹/۷۵-۶/۲۵ درصد و مرکز ۱۵/۴۵-۴/۸ درصد گزارش شده است (۱،۱۱،۱۷،۱۹،۲۰،۲۳،۳۰،۳۱،۳۴،۳۵).

تریپانوزوما اوانسی توسط مگس‌های خون‌خوار تابانیده و موسیده از میزبانی به میزبان دیگر به طور مکانیکی منتقل می‌شوند و انتقال عمودی آن نیز در شتر گزارش شده است (۲۳). گونه‌ی *تریپانوزوما اوانسی* دارای دو تیپ A و B است. ابتلا به *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A به دو شکل حاد و مزمن در شتر، گاو، گاومیش و اسب گزارش شده است. در صورتی که بیماریزایی *تریپانوزوما اوانسی* تیپ B تنها محدود به شتر می‌شود (۲۴). *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در دنیا شایع بوده و از کشورهای آفریقای غربی، کلمبیا، چین و کنیا گزارش شده است (۳۳). ولی *تریپانوزوما اوانسی* تیپ B فقط توسط Borst و همکاران در سال ۱۹۸۷، Njiru و همکاران در سال ۲۰۰۶، Salim و همکاران در سال ۲۰۱۱ و Birhanu و همکاران در سال ۲۰۱۶ به ترتیب از شترهای کنیا، اتیوپی، سودان و چاد گزارش گردیده است (۵،۶،۲۵،۳۰). تمایز *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A از تیپ B براساس وجود ژن گلیکوپروتئین واریانت سطحی RoTat1.2 VSG در *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A می‌باشد که توسط آنتی بادی‌های ضد RoTat 1.2 در شترهای آلوده ردیابی می‌شود. در حالی که در شترهای آلوده به *تریپانوزوما اوانسی* تیپ B، این ژن به روش‌های سرمی و ملکولی قابل جستجو نمی‌باشد (۳۴).

امروزه از روش‌های مختلف ملکولی برای شناسایی و تمایز گونه‌های *تریپانوزوما* با حساسیت و ویژگی بالا استفاده می‌شوند (۱۹،۳۵). از آنجایی که اطلاعاتی از آلودگی تیپ‌های مختلف *تریپانوزوما اوانسی* در شترهای ایران از جمله در استان سیستان و بلوچستان وجود نداشت و از طرف دیگر این استان به عنوان یکی از استان‌های مناسب از نظر شرایط آب و هوایی برای پرورش شتر محسوب می‌گردد (۳۵)، بنابراین مطالعه حاضر به منظور تمایز ملکولی آلودگی *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A و B در شترهای یک کوهانه استان سیستان و بلوچستان انجام شد.

مواد و روش کار

منطقه مورد مطالعه: استان سیستان و بلوچستان (۲۵درجه و ۳ دقیقه تا ۳۱ درجه و ۲۷ دقیقه عرض شمالی و ۵۸ درجه و ۵۰ دقیقه تا ۶۲ درجه و ۲۱ دقیقه طول شرقی) شامل دو منطقه سیستان در شمال استان با حوزه مسطح و مسدود که از آبرفت‌های دلتای قدیمی و فعلی رود هیرمند و منطقه وسیع کوهستانی بلوچستان درجنوب است. در این استان میانگین بارندگی سالیانه ۵۱ میلی‌متر، میانگین دما ۱۳-۱۲ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۸۰-۷۰ درصد است.

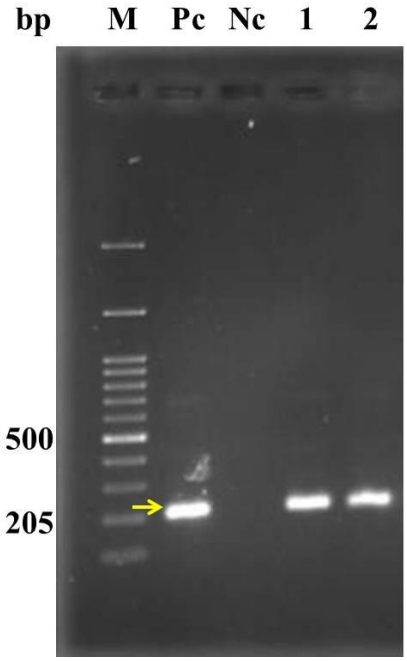
روش جمع آوری نمونه: از هر نفر شتر ۱۰ میلی‌لیتر نمونه‌ی خون از ورید وداج تهیه شد و به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی زابل منتقل گردید.

روش ملکولی (روش استخراج DNA): استخراج DNA ژنومی تریپانوزوما از خون مخلوط شده با EDTA و با استفاده از کیت MBST (DNA extraction kit, MBST, Iran) انجام شد و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد تا انجام PCR نگهداری شد.

روش PCR: برای شناسایی و تمایز آلودگی شترهای تحت مطالعه با *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A از *تریپانوزوما اوانسی* تیپ B به ترتیب از پرایمرهای RoTat1.2 از ژن RoTat 1.2 VSG (RoTat-F:5'-GCGGGGTGTTTAAAGCAATA-3' و RoTat-R:5'-ATTAGTGCTGCGTGTGTTCG-3') و EvaB از ژن Minicircle genes (EVAB-F:5'-CACAGTCCGAGAGATAGAG-3' و EVAB-R: 5'-CTGTACTCTACATCTACCTC-3') استفاده گردید (۷،۲۵). حجم واکنش PCR، ۲۵ میکرولیتر بود که شامل ۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (Hot start PCR Master Mix Blue، شرکت پیشگام ایران)، ۲ میکرولیتر از هر پرایمر، ۲ میکرولیتر از DNA ژنومی (در حدود ۵۰ نانوگرم) و ۸/۵ میکرولیتر آب مقطر بود. هر واکنش یک کنترل منفی (تمامی مواد واکنش به استثنای DNA ژنومی انگل) و یک کنترل مثبت (DNA *تریپانوزوما اوانسی* از بخش انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل) داشت. نمونه‌ها با استفاده از دستگاه ترموسایکلر (MWG, Germany) تکثیر شدند (۷،۲۵). محصولات PCR به ژل آگارز ۱/۵ درصد منتقل شدند و ۷۵ دقیقه در ۸۰ ولت بر سانتی‌متر الکتروفورز گردیدند. پس از رنگ آمیزی ژل با اتیدیوم بروماید با تابش اشعه ماوراء بنفش باندهای DNA بررسی گردیدند.

نتایج

در واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، آلودگی شترهای تحت مطالعه با *تریپانوزوما اوانسی* تیپ B منفی بود و باند ۴۳۶ جفت‌باز حاصل از تکثیر EvaB از ژن Minicircle genes تشکیل نشد. ولی تشکیل باند ۲۰۵ جفت‌باز حاصل از تکثیر ژن RoTat1.2 VSG در شترهای تحت مطالعه در استان سیستان و بلوچستان بیانگر شیوع *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در شترهای تحت مطالعه بود (تصویر ۱).



تصویر ۱. محصولات PCR حاصل از تکثیر قطعه ۲۰۵ جفت‌باز ژن RoTat 1.2 VSG *تریپانوزما اوانسی* تیپ A از خون شترهای استان سیستان و بلوچستان (چاهک M: DNA مارکر ۱۰۰ جفت‌باز، چاهک ۱: کنترل مثبت، چاهک ۲: کنترل منفی، چاهک ۳ و ۴: نمونه‌های مثبت).

بحث

شتر به لحاظ اقتصادی در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا و از جمله ایران دارای اهمیت زیادی می‌باشد. در ایران با توجه به میزان شیوع و تلفات ناشی از آلودگی *تریپانوزما اوانسی* در شتر، یکی از آلودگی‌های انگلی متداول می‌باشد. اهمیت پرورش شتر در استان سیستان و بلوچستان و ضررهای اقتصادی ناشی از تریپانوزوموزیس (کاهش گوشت و تولید مثل) و نیز شایع بودن شکل مزمن بیماری، شتر را به یکی از حاملین تک‌یاخته‌ی *تریپانوزوما* و عامل تداوم چرخه‌ی انتقال بیماری در منطقه تبدیل کرده است (۳).

تک‌یاخته *تریپانوزوما* دارای گونه‌های هتروژن و متعددی در انسان و حیوانات است (۸). در بررسی‌های همه‌گیری‌شناسی، تشخیص دقیق و به موقع حاملین بدون علایم بالینی می‌تواند ابزار مهمی در تشخیص به موقع بیماری سورا باشد. بنابراین استفاده از روش‌های ملکولی می‌تواند در محدود کردن مخازن آلودگی و خطر انتقال آن‌ها از یک گله به گله دیگر و یا سایر افراد یک گله مفید باشد. باتوجه به اهمیت بیماریزایی *تریپانوزوما اوانسی* و مطالعات اندکی که در این زمینه در ایران شده است، شناخت دقیق مخازن آلودگی یک ضرورت می‌باشد (۳۵). در این مطالعه، *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A گونه‌ی مطرح در شترهای استان سیستان و بلوچستان بود. Zangooie و همکاران در سال ۲۰۱۸ با مطالعه توالی نوکلئوتیدی قطعه ژنی ITS-1 نشان دادند که گونه *تریپانوزوما اوانسی* انگل شترهای استان سیستان و بلوچستان مشابهت قابل توجهی (۹۹ درصد) با گونه‌های گزارش شده از سایر نقاط دنیا داشت (۳۵). در ایران، تاکنون گزارشی در خصوص تمایز ملکولی دو تیپ A و B *تریپانوزوما اوانسی* نشده است. شیوع تک‌یاخته‌ی *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در آفریقا، آسیا و آمریکای لاتین می‌باشد (۵). فراوانی آلودگی *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در شترهای منطقه با مطالعه Tehseen و همکاران در سال ۲۰۱۵ در شترهای پاکستان (۳۰/۵ درصد) مشابه بود ولی کمتر از میزان فراوانی گزارش شده توسط Njiru و همکاران در سال ۲۰۰۴ در کنیا (۴۵/۹ درصد) بود (۲۴،۳۳). نتایج مطالعه Elhaig و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مصر نیز با نتایج این مطالعه همخوانی داشت (۱۲). یکی از علل شایع بودن *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در شترها، مقاومت دارویی گزارش شده است (۴). نتایج بدست آمده در این مطالعه نشانگر شیوع قابل توجه *تریپانوزوما اوانسی* تیپ A در شترهای استان سیستان و بلوچستان بود.

سپاسگزاری

بدینوسیله نویسندگان از همکاری دامداران استان سیستان و بلوچستان و نیز کارشناسان بخش انگل‌شناسی و آزمایشگاه ملکولی دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل قدردانی و سپاسگزاری می‌نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Ahmadi-Hamedani, M., Ghazvinian, K., Darvishi, M.M. (2014). Hematological and serum biochemical aspects associated with a camel (*Camelus dromedarius*) naturally infected by *Trypanosoma evansi* with severe parasitemia in Semnan, Iran. Asian Pac J Trop Biomed, 4, 743-745. https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0053

2. Allam, L., Ogwu, D., Agbede, R.I.S. (2011). Hematological and serum biochemical changes in gilts experimentally infected with *Trypanosoma brucei*. Vet Arhiv, 81, 597-609.
3. Aminifard, M. (1999). Camel Husbandry. (1st ed.) Yazd Publisher, Yazd, Iran, p. 5-8.
4. Boid, R., Amin, E.A., Mohmoud, M.M., Luckins, A.G. (1981). *Trypanosoma evansi* infections and antibodies in goats, sheep and camels in the Sudan. Trop Anim Health Prod, 13, 141-146.
5. Birhanu, H., Gebrehiwot, T., Goddeeris, B.M., Büscher, P., Van Reet, N. (2016). New *Trypanosoma evansi* type B isolates from Ethiopian dromedary camels. PLoS Negl Trop Dis, 10(4), 45-56. https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0004556.t001
6. Borst, P., Fase-Fowler, F., Gibson, W.C. (1987). Kinetoplast DNA of *Trypanosoma evansi*. Mol Biochem Parasitol, 23(1), 31-38.
7. Claes, F., Radwanska, M., Urakawa, T., Majiwa, P.A., Goddeeris, B., Büscher, P. (2004). Variable surface glycoprotein RoTat 1.2 PCR as a specific diagnostic tool for the detection of *Trypanosoma evansi* infections. Kinetoplastid Biol Dis, 3(1), 3. https://doi.org/10.1186/1475-9292-3-3 PMID: 15377385
8. Coura, J.R., Borges-Pereira, J. (2010). Chagas disease: 100 years after its discovery, a systemic review. Acta Trop, 115, 5-13. https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2010.03.008
9. Delafosse, A., Doutoum, A.A. (2004). Prevalence of *Trypanosoma evansi* infection and associated risk factors in camels in eastern Chad. Vet Parasitol, 119, 155-164. https://doi.org/10.1017/S0031182000060819
10. Derakhshanfar A., Mozaffari A.A., Mohaghegh Zadeh A. (2010). An outbreak of trypanosomiasis (surra) in camels in the southern Fars Province of Iran: clinical, hematological and pathological findings. Res J Parasitol, 5, 23-26. https://doi.org/10.3923/jp.2010.23.26
11. Desquesnes, H.P., Lai, D.H., Dargantes, A., Lun, Z.R., Jittaplapong, S. (2013). *Trypanosoma evansi* and surra: a review and perspectives on origin, history, distribution, taxonomy, morphology, hosts, and pathogenic effects. Bio Med Res Int, 2, 1-22. http://doi.org/10.1155/2013/194176
12. 13. Elhaig, A.I., El-Gayar, A.K. (2013). Molecular and parasitological detection of *Trypanosoma evansi* in camels in Ismailia, Egypt. Vet Parasitol, 198, 214-218. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2013.08.003
13. 12. Eshetu, Z., Desta, B., Amare, L.B. (2013). Prevalence of *Trypanosoma evansi* infection in the one-humped camel (*Camelus dromedarius*) in Jijiga administrative zone of the Ethiopian Somali region. Global Veterinaria, 10, 233-238. https://doi.org/10.5829/idosi.gv.2013.10.2.65167
14. Gutierrez, C., Corbera, J.A., Doreste, F., Büscher, P. (2004). Use of the miniature anion exchange centrifugation technique to isolate *Trypanosoma evansi* from goats. Ann NY Acad Sci, 1026, 149-151. https://doi.org/10.1196/annals.1307.020
15. Hamedani MA, Ghazvinian KH, Darvishi M.M., Javaheri-Vaghian A., Masoum M.A., Karkeh-Abadi M., Rameshgar A. (2012). Evaluation of the *Trypanosma evansi* and its prevalence in camels of Semnan. J Vet Lab Res, 4, 236-241. https://doi.org/10.1016/j. prevetmed.2019.04.013
16. Hosseininejad, M., Shirani, D., Nabian, S., Nassiri, S.M., Mazaheri, R. (2007). *Trypanosoma evansi* in three dogs in Iran. Comp Clin Path, 16, 69–71. https://doi.org/10.1007/s12639-017-0905-7
17. Karimi, A., Rahbari, S., Yousefi, A. (2015). Blood parasites of camels from central regions of Iran: comparative evaluation of various detection techniques and serum protein components. Adv Parasitol, 2, 1-4. https://doi.org/10.14737/journal.jap/2014/2.1.1.4
18. Khosravi, A., HakimiParizi, M., Bamorovat. M., Borhani-Zarandi, M., Mohammadi, M.A. (2015). Prevalence of *Trypanosoma evansi* in camels using molecular and parasitological methods in the southeast of Iran, 2011. J Parasit Dis, 39, 422-425. https://doi.org/10.1007/s12639-013-0355-9
19. Konnai, S., Mekata, H., Mingala, C.N., Abes, N.S., Gutierrez, C.A., Herrera, J.R.V., Dargantes, A.P., Witola, W.H., Cruz, L.C., Inoue, N., Onuma M., Ohashi K. (2009). Development and application of a quantitative real-time PCR for the diagnosis of surra in water buffaloes. Infect Genet Evol, 9, 449-452. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2009.01.006
20. Lai, D.H., Hashimi, H., Lun, Z.R., Ayala, F.J., Lukes, J. (2008). Adaptations of *Trypanosoma brucei* to gradual loss of kinetoplast DNA: *Trypanosoma equiperdum* and *Trypanosoma evansi* are petite mutants of *T. brucei*. Proc Natl Acad Sci USA, 105, 1999-2004. https://doi.org/10.1073/pnas. 0711799105
21. Mirshekar, F., Yakhchali, M., Shariati-Sharifi, F. (2017). *Trypanosoma evansi* infection and major risk factors for Iranian one-humped camels (*Camelus dromedarius*). J Parasit Dis, 41, 854-858. https://doi.org/10.1007/s12639-017-0905-7
22. Moghaddar, N., Diantpour, V. (2009). Distribution pattern of *Trypanosoma evansi* in camels (*Camelus dromedarius*) in Iran. J Camel Pract Res, 16, 73-75.
23. Narnaware, S.D., Ghorui, S.K., Kumar, S., Patil, N.V. (2016). Vertical transmission of *Trypanosoma evansi* in dromedary camels and studies on fetal pathology, diagnosis and treatment. Acta Parasitol, 61(2), 329-336. https://doi.org/10.1515/ap-2016-0043
24. Njiru, Z.K., Constantine, C.C., Ndung'u, J.M., Robertson, I., Thompson, R.C.A. (2004). Detection of *Trypanosoma evansi* in camels using PCR and CATT/*T. evansi* tests in Kenya. Vet Parasitol, 124, 187-199. https://doi.org/10.1186/s13071-015-1002-3
25. Njiru, Z.K, Constantine, C.C., Masiga, D.K., Reid, S.A., Thompson, R.C.A., Gibson, W.C. (2006). Characterization of *Trypanosoma evansi* type B. Infect Genet Evol, 6, 292-300. https://doi.org/10.1016/j.meegid.2005.08.002 PMID: 16157514
26. Pourjafar, M, Badiei, K., Sharifiyazdi, H., Chalmeh, A., Naghib, M., Babazadeh, M., Mootabi-Alavi, A., Hosseinijoshani-Zadeh, N. (2012). Genetic characterization and phylogenetic analysis of *Trypanosoma evansi* in Iranian dromedary camels. Parasitol Res, 112(2), 899-903. https://doi.org/10.1007/s00436-012-3121-5 PMID: 23007725
27. Radfar, M.H., Ebrahimy Maimand, A., Sharifi, A. (2006). A report of parasitic infections of camel (*Camelus dromedarius*) of Kerman slaughterhouse. J Vet Res, 61, 165-168.
28. Ranjbar-Bahadori, S.H., Afshari-Moghadam, A. (2009). Study on the prevalence of blood parasites in camels of Zabol in 2008. Tabriz Vet J, 3, 503-507.
29. Reid, S.A. (2002). *Trypanosoma evansi* control and containment in Australasia. Trends Parasitol, 18, 219-224.
30. Salim, B., Bakheit, M.A., Kamau, J., Nakamura, I., Sugimoto, C. (2011). Molecular epidemiology of camel trypanosomiasis based on ITS1 rDNA and RoTat 1.2 VSG gene in the Sudan. Parasit Vectors, 4, 31. PMID: 21375725
31. Sazmand, A.R., Rasooli, A., Nouri, M., Hamidinejat, H., Moghaddam Hekmati, S.H. (2011). Serobiochemical alterations in subclinically affected dromedary camels with *Trypanosoma evansi* in Iran. Pak Vet J, 31, 223-226.
32. Singh, N., Pathak, K.M.L., Kumar, R. (2004). A comparative evaluation of parasitological, serological and DNA

amplification methods for diagnosis of natural *Trypanosoma evansi* infection in camels. Vet Parasitol, 126, 365-373. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2004.08.013 366

33. Tehseen, S., Jahan, N.N., Fiaz Qamar, M., Desquesnes, M., Imran Shahzad, M., Deborggraeve, S., Büscher, P. (2015). Parasitological, serological and molecular survey of *Trypanosoma evansi* infection in dromedary camels from Cholistan Desert, Pakistan. Parasit Vectors, 8, 415. https://doi.org/10.1186/s13071-015-1002-3
34. Verloo, D., Magnus, E., Büscher, P. (2001). General expression of RoTat 1.2 variable antigen type in *Trypanosoma evansi* isolates from different origin. Vet Parasitol, 97, 183–189. PMID: 11390070
35. Zangooie, F., Ganjali, M., Keighobadi, M., Nabavi, R. (2018). Molecular detection of *Trypanosoma evansi* based on ITS1 rDNA gene in *Camelus dromedarius* in Sistan Region, Iran. Trop Biomed, 35(4), 1140–1147.
36. Zarif-Fard, M., Hashemi-Fesharki, R. (2000). Study on tissue and blood protozoa of camels in southern Iran. J Camel Pract Res, 7, 193-194.

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 76, Number 1, 2021
Original Article

Molecular Discrimination of Different Types of *Trypanosoma Evansi* in One-Humped Camels (*Camelus dromedarius*) in Sistan-va-Baluchestan Province, Iran

Fereshte Mirshekar[1], Mohammad Yakhchali[2], Fariborz Shariati-Sharifi[3]

[1] *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[2] *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran*
[3] *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Parasitology Division, ZabolUniversity, Zabol, Iran*

10.22059/jvr.2020.275071.2901

Received: *31 August 2020*, ***Accepted:*** *28 October 2020*

Abstract

BACKGROUND: Trypanosomosis is a blood parasitic disease with veterinary and cosmopolitan importance due to *Trypanosoma evansi* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) type A in camels, cattle, buffaloes, and equine and type B in camels.

OBJECTIVES: We conducted the present study to discriminate *Trypanosoma evansi* type A and B infection in one-humped camels (*Camelus dromedarius*) in Sistan-va-Baluchestan Province, south eastern Iran.

METHODS: A total number of 369 blood samples were randomly taken from jugular vein of the examined one-humped camels from different parts of the region. Genomic DNA was extracted and polymerase chain reaction (PCR) was performed to amplify 205bp-fragment-length and 436bp-fragment-length of RoTat 1.2 VSG gene (*T. evansi* type A) and Minicircle gene (*T. evansi* type B), respectively.

RESULTS: Molecular findings revealed that all the infected camels were affected by *T. evansi* type A.

CONCLUSIONS: Based on the results of the current study, we could conclude that the cause of infection in the examined camels of the region, like other parts of the world, was *T. evansi* type A.

Keywords: Prevalence, *Trypanosoma evansi* type A, Camel, *Camelus dromedarius*, PCR

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: m.yakhchali@urmia.ac.ir Tel/Fax: 044-32771926/044-32772655

How to cite this article:

Mirshekar, F., Yakhchali, M., Shariati-Sharifi, F. (2021). Molecular Discrimination of Different Types of *Trypanosoma Evansi* in One-Humped Camels (*Camelus dromedarius*) in Sistan-va-Baluchestan Province, Iran. J Vet Res, 76(1), 8-13. https://doi.org/10.22059/jvr.2020.275071.2901

Figure Legends and Table Captions

Figure 1. PCR amplified 205-bp-fragment-length RoTat 1.2 VSG gene of *Trypanosoma evansi* type A, Lanes 1-2; M, DNA marker 100bp; Nc, negative control; Pc, positive control.