



## Genomic detection of *Bartonella* genus in blood samples of stray dogs of Khorramabad city by PCR method

Hanieh Rashidi<sup>1</sup> , Zohreh Soleimani<sup>1</sup> , Farzad Kianmehr<sup>1</sup> , Najva Zivdari<sup>2</sup> 

1. Master student of Bacteriology, Microbiology and food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
2. DVM student in veterinary medicine, Department of Microbiology and Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Iran

---

### ABSTRACT

**Background and Aim:** The aim of this study is to determine the prevalence of *Bartonella* and *henselae* species in blood samples of dogs referred to a veterinary clinic.

**Materials and Methods:** 100 blood samples were collected. Blood samples were collected between 2021 and 2022. DNA was extracted from all blood samples. Then PCR was used to identify *Bartonella* genus based on *I6SrRNA* gene primers with fragment length (522 bp), in the next step, *gltA* specific primers with fragment length (130 bp) and Nested-PCR method were used to identify *B. henselae* species. In this study, software (AmplifiX, made in France) was used to design primers.

**Results:** The results showed that four samples (4%) of the blood samples based on the genus primers were positive for *Bartonella* infection, and also the results showed that out of the four positive samples, three samples with species-specific primers were infected with *B. henselae*.

**Conclusion:** It was concluded that due to the difficult growth of *Bartonella* bacteria, PCR technique can be a suitable method for the diagnosis of this bacterium at the level of genus and species due to its high speed, accuracy and sensitivity. Although the level of contamination was not significant, due to the zoonotic nature of this bacterium, the low level of contamination can be worrying in terms of public health.

**Keywords:** *Bartonella*, PCR, Dogs, Khorramabad city

Received: 13.04.2024

Accept: 23.05.2024

Final Edit: 07.06.2024

Online Publish: 26.06.2024

---

**Corresponding Information:** Master student of Bacteriology, Microbiology and food hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran. Email: [haniehrashidi@gmail.com](mailto:haniehrashidi@gmail.com)



**Cite this article:** Rashidi, Hanieh; Soleimani, Zohreh; Kianmehr, Farzad; Zivdari, Najva. (2024). Genomic detection of *Bartonella* genus in blood samples of stray dogs of Khorramabad city by PCR method. *Animal health and infectious diseases*. 2(1), 65-73.

---



## جست‌وجوی ژنومی جنس *بارتونلا* در نمونه‌های خون سگ‌های ولگرد شهرستان خرم‌آباد به روش PCR

حانیه رشیدی<sup>۱</sup> ID، زهرا سلیمانی<sup>۱</sup> ID، فرزاد کیان‌مهر<sup>۱</sup> ID، نجوا زیوداری<sup>۲</sup> ID

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد باکتری شناسی، گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، ایران
۲. دانشجوی دکتر حرفه‌ای دامپزشکی، گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، ایران

### چکیده

**زمینه و هدف:** مطالعه حاضر برای تعیین شیوع باکتری جنس *بارتونلا* و گونه‌های آن در نمونه‌های خون گرفته‌شده از سگ‌های ولگرد سطح شهرستان خرم‌آباد انجام شده است.

**مواد و روش‌ها:** تعداد ۵۰ نمونه خون در طی سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ جمع‌آوری شد. از همه نمونه‌های خون گرفته‌شده DNA استخراج شد. سپس برای تشخیص جنس *بارتونلا* براساس پرایمرهای ژن *I6SrRNA* با طول قطعه (۵۲۲ جفت باز) از PCR استفاده شد، در مرحله بعد، برای شناسایی گونه *بارتونلا* هنسله از پرایمرهای اختصاصی *gItA* با طول قطعه (۱۳۰ جفت باز) و روش Nested-PCR استفاده شد. در این مطالعه به منظور طراحی پرایمر از نرم‌افزار (AmplifX، ساخت کشور فرانسه) استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج نشان داد که هشت نمونه (۸ درصد) از نمونه‌های خون گرفته‌شده براساس پرایمرهای جنس از نظر آلودگی به *بارتونلا* مثبت بودند و همچنین نتایج نشان داد که از چهار نمونه مثبت، سه نمونه با پرایمرهای اختصاصی گونه آلوده به *بارتونلا* هنسله بودند.

**نتیجه‌گیری:** نتیجه‌گیری شد که با توجه به سخت رشد بودن باکتری *بارتونلا* تکنیک PCR به دلیل سرعت، دقت و حساسیت بالا می‌تواند روشی مناسب در تشخیص این باکتری در حد جنس و گونه باشد. هرچند میزان آلودگی در نمونه‌های خون سگ گرفته‌شده قابل توجه نبود، اما به دلیل زئونوتیک بودن این باکتری میزان کم آلودگی از نظر سلامت عمومی می‌تواند نگران‌کننده باشد.

**کلیدواژه‌ها:** *بارتونلا*، PCR، سگ، شهرستان خرم‌آباد

دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۵ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۳/۰۳ ویرایش نهایی: ۱۴۰۳/۰۳/۱۸ انتشار آنلاین: ۱۴۰۳/۰۴/۰۶

**اطلاعات نویسنده مسئول:** حانیه رشیدی، دانشجوی کارشناسی ارشد باکتری شناسی، گروه میکروبیولوژی و بهداشت مواد غذایی، دانشکده

دامپزشکی، دانشگاه لرستان، ایران. Email: [hanihrashidi@gmail.com](mailto:hanihrashidi@gmail.com)

استناد: رشیدی، حانیه؛ سلیمانی، زهرا؛ کیان‌مهر، فرزاد؛ زیوداری، نجوا. (۱۴۰۳). جست‌وجوی ژنومی جنس *بارتونلا* در نمونه‌های خون سگ‌های ولگرد شهرستان خرم‌آباد به روش PCR. بهداشت و بیماری های عفونی دام، ۲ (۱)، ۶۵-۷۳.



## مقدمه

جنس *بارتونلا* با ۴۰ گونه و زیرگونه از باکتری‌های کوچک، گرم منفی، چندشکلی، خون‌دوست و سخت‌رشد هستند که طیف وسیعی از حیوانات اهلی، وحشی و همچنین انسان‌ها را آلوده می‌کنند. این باکتری‌ها بیشتر به‌وسیله بندپایان نظیر شپش‌ها، کک‌ها و کنه‌ها و نیز از طریق خراش و گازگرفتگی به‌وسیله حیوانات آلوده منتقل می‌شوند. اگرچه *بارتونلا* همنسله عامل ایجاد بیماری مشترک خراش‌گره در انسان شناخته‌شده‌ترین گونه این جنس است، اما حداقل ۱۷ گونه و زیرگونه به‌عنوان پاتوژن حیوانات و انسان تأیید شده‌اند. تاکنون ارتباط هفت گونه و زیرگونه از *بارتونلا* شامل *بارتونلا* همنسله، *بارتونلا* وینسونیای زیرگونه برخوفیای، *بارتونلا* کلاریدگیه، *بارتونلا* کوئینتانا، *بارتونلا* کلره، *بارتونلا* روکالمیه و *بارتونلا* واشوئسیس با بیماری در سگ‌ها نشان داده شده است که تمامی آن‌ها پتانسیل بیماری‌زایی در انسان را دارند و نشانه‌هایی از جمله اندوکاردیت، میوکاردیت، تب نورورتنیت و التهاب چشم را ایجاد می‌کنند (۱).

بیماری خراش‌گره یکی از شایع‌ترین بیماری‌های تشخیص‌داده‌شده ناشی از عفونت *بارتونلا*یی در انسان است که بیشتر از طریق گره به انسان منتقل می‌شود. عامل این بیماری *بارتونلا* همنسله است (۲). علائم این بیماری در انسان اختصاصی نیست و با وجود شیوع نسبتاً بالا، در تشخیص تفریقی بیماری‌های مختلف موردتوجه قرار نمی‌گیرد (۳). Wear و همکاران در سال ۱۹۸۳، یک باکتری گرم منفی را در نمونه‌های بیوپسی از غدد لنفاوی بیماران مبتلا به خراش‌گره با رنگ‌آمیزی گرم و رنگ‌آمیزی وارتن-استاری نقره‌ای تشخیص دادند. در طی دهه ۱۹۹۰ میلادی، دو گروه به‌صورت جداگانه یک باکتری گرم منفی میله‌ای شکل را همراه با تب، لنفادنوپاتی و تماس با گره (مثل بیماری خراش‌گره) تشخیص دادند که *رکالمیا* همنسله نامیده شد و سپس مجدداً با نام *بارتونلا* همنسله طبقه‌بندی شد (۴). *بارتونلا* همنسله می‌تواند در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف، به‌ویژه کسانی که به ویروس ایدز مبتالیند، بیماری‌های خطرناکی نظیر باسیلاری آنژیوماتوزیس، باسیلاری پلویزیس، باکتری می و اندوکاردیت ایجاد کند (۵). جداسازی *بارتونلا* همنسله از گره‌های اهلی در نقاط مختلف جهان، از جمله شمال آمریکا، اروپا، ژاپن، استرالیا، فیلیپین، تایلند و اندونزی گزارش شده است (۵، ۶، ۷).

بر مبنای اطلاعات ما تاکنون مطالعه‌ای در جهت جست‌وجوی ژنومی جنس *بارتونلا* در نمونه‌های خون گرفته‌شده از سگ‌های شهرستان خرم‌آباد انجام نشده است. هدف ما از انجام این تحقیق، پر کردن خلأ

موجود در این زمینه است.

## مواد و روش کار

## جمع‌آوری نمونه

در این مطالعه از ۵۰ قلاده سگ ولگرد با رعایت اصول اخلاقی رفتار با حیوانات نمونه‌گیری شد. این کار در طی سال‌های ۱۴۰۰ تا ۱۴۰۱ و به‌صورت پی‌درپی و به‌مدت چندین هفته به‌طول انجامید. در این بررسی، اگر حیوانی بیماری عفونی یا درمان آنتی‌بیوتیکی تا یک ماه قبل از نمونه‌گیری داشت، از مطالعه حذف شد. از هر یک از سگ‌های بررسی‌شده، دو میلی‌لیتر خون از ورید سفالیک (Cephalic vein) و با رعایت شرایط ضدعفونی، در لوله‌های حاوی ماده ضدانعقاد سیترات سدیم (Sodium Citrate) برای انجام مراحل آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) جمع‌آوری شد. نمونه‌های گرفته‌شده در شرایط سرد (در مجاورت یخ و کمپرس سرد) به آزمایشگاه میکروبی‌شناسی انتقال داده شدند.

## نحوه نگهداری نمونه

نمونه‌های خون گرفته‌شده از سگ‌ها پس از انتقال به لوله‌های شیشه‌ای حاوی ماده ضدانعقاد سیترات سدیم، در فریزر آزمایشگاه میکروبی‌شناسی دانشکده دام‌پزشکی در دمای تقریبی ۲۰ درجه سانتی‌گراد زیر صفر نگهداری شد تا استخراج DNA از این نمونه‌ها صورت پذیرد.

## استخراج DNA

برای استخراج DNA از روش سانگساوانگ (Saengsawang) و همکاران (۲۰۲۱)، با استفاده از کیت استخراج DNA شرکت یکتا تجهیز آزما ساخت شرکت فاورژن، استفاده شد، آمده است. استخراج DNA از کیت گفته‌شده طبق شیوه‌نامه به ترتیب زیر انجام گرفت:

۱- ابتدا حدود ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه خون (پس از رفع فریز و رسیدن به دمای مناسب) به لوله میکروسانتریفیوژ منتقل و هر نمونه سانترفیوژ شد.

۲- ۲۰ میکرولیتر پروتیناز K (لیزکننده پروتئین‌های سلول) به نمونه‌ها اضافه شد. بعد از تکان دادن نمونه‌ها، ۲۰۰ میکرولیتر بافر FABG به نمونه‌ها اضافه شد. سپس نمونه‌ها در ورتکس (Vortex) قرار داده شد تا محتویات آن‌ها کامل مخلوط شوند.

۳- نمونه‌ها در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه در داخل هیتر انکوبه شدند تا تجزیه سلولی در نمونه اتفاق بیفتد. در طول

آماده ساخت کشور (Ampliqon CO., Denmark) به حجم ۱۲/۵ میکرولیتر، DNA نمونه مشکوک به حجم ۵ میکرولیتر، یک میکرولیتر از هر پرایمر با غلظت ۱۰ پیکومول و مابقی حجم، آب مقطر اضافه شد. در مرحله بعد همه مواد به داخل یک میکروتیوب ۰/۲ میلی‌لیتری منتقل و پس از مخلوط کردن در دستگاه ترموسایکلر (QuantaBiotech England) قرار داده شدند. پرایمرهای استفاده‌شده و سیکل‌های دما در این مطالعه به ترتیب در جدول‌های شماره (۱ و ۲) آمده است.

Protocol	Primer Name	Sequence 5'---3'	PCR product size (bp)
PCR	gltA-F	TGGCCGTCATGATTGCATGTCT	522
	gltA-R	GACCAAAAACCCATAAGGCGGAAAG	

جدول (۱): پرایمرهای استفاده‌شده برای ردیابی ژنومی جنس *بارتوللا* به روش واکنش زنجیره‌ای پرایمرز براساس ژن *gltA*

Protocol	Primer Name	Sequence 5'---3'	PCR product size (bp)
PCR	gltA-F	ATCCACTGTACGTCCTTGCAGGTC	467
	gltA-R	CGACACTGCGTGCTAATGCAAA	
Nested-PCR	gltAN-F	CCAGCTCATGGTGGAGCTAATGAA	130
	gltAN-R	GACCAAAAACCCATAAGGCGGAAAG	

جدول (۲): پرایمرهای استفاده‌شده برای ردیابی ژنومی گونه *بارتوللا* *هنسله* به روش واکنش زنجیره‌ای پرایمرز آشیانه‌ای براساس ژن *gltA*

### الکتروفورز محصولات PCR

در مرحله اول حجم موردنیاز از ژل برای تانک الکتروفورز با اندازه‌گیری ابعاد تانک مشخص شد. سپس با توجه به اندازه فرآورده‌های حاصل از واکنش PCR، ژل آگاروز یک‌درصد تهیه شد که برای این منظور ۰/۴ گرم آگاروز به ۴۰ سی‌سی بافر TBE اضافه و به مدت یک دقیقه در ماکروویو قرار داده شد. پس از سرد شدن، به آن یک میکرولیتر رنگ ژل اضافه شد و آن را به تانک مخصوص ژل منتقل کرده و بعد از سفت شدن به منظور انجام الکتروفورز استفاده شد.

### نتایج آزمایش PCR ژن *16SrRNA*

در مجموع از ۵۰ نمونه خون بررسی‌شده با استفاده از روش PCR تعداد هشت نمونه (۸ درصد) از نظر وجود DNA جنس *بارتوللا* مثبت بودند، شکل ۱.

انکوباسیون نیز نمونه‌ها هر ۵ دقیقه یک‌بار (مجموعاً ۳ بار) در ورتکس قرار داده شدند تا محتویات آن‌ها کامل مخلوط شوند.

۴- پس از چرخاندن لوله‌ها (میکروتیوب‌ها) برای خروج قطرات از داخل درب میکروتیوب‌ها و اتمام انکوباسیون، ۲۰۰ میکرولیتر اتانول ۹۶ درصد به نمونه‌ها اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱۰ ثانیه در ورتکس قرار داده شدند.

۵- پس از چرخاندن لوله‌ها (میکروتیوب‌ها) برای خروج قطرات از درب میکروتیوب‌ها، مینی‌ستون‌های FABG در میکروتیوب‌های جدید قرار داده شدند و روی آن‌ها نیز فیلتر گذاشته شد. سپس کل نمونه‌ها با عبور از فیلتر به میکروتیوب‌های جدید انتقال داده شدند و به میزان ۶۰۰۰ دور و مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس محتویات زیر فیلترها دور ریخته شد.

۶- در مرحله بعد ۴۰۰ میکرولیتر بافر W1 به مینی‌ستون‌های FABG اضافه شد و این نمونه‌ها به مدت ۳۰ ثانیه و به میزان ۱۸۰۰۰ دور (با تمام سرعت) سانتریفیوژ شدند و دوباره محتویات زیر فیلترها دور ریخته شد.

۷- سپس ۷۵۰ میکرولیتر بافر شست‌وشو به محتویات مینی‌ستون‌های FABG اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه و به میزان ۱۸۰۰۰ دور (با حداکثر سرعت دستگاه) سانتریفیوژ شدند و محتویات زیر فیلترها و ستون‌ها دور ریخته شد. آنگاه برای جلوگیری از باقی ماندن هرگونه مایع اضافی و جلوگیری از واکنش‌های آنزیمی، ستون‌ها با تمام سرعت به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ شدند تا خشک شوند.

۸- در مرحله آخر مینی‌ستون‌های FABG در تیوب الوشن (Elution tube) قرار داده شدند و حدود ۲۰۰ میکرولیتر بافر الوشن گرم‌شده به مرکز غشای مینی‌ستون‌های FABG افزوده شدند. بعد از سه دقیقه انتظار، نمونه‌ها با حداکثر سرعت و به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ شدند و سپس DNA‌های به دست‌آمده در دمای زیر ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. (شکل ۱-۳ مراحل استخراج را نشان می‌دهد).

### انجام واکنش زنجیره‌ای پرایمرز آشیانه‌ای

DNA استخراج‌شده تا زمان انجام PCR در فریز -۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. به منظور تشخیص و تکثیر جنس *بارتوللا* و گونه *بارتوللا* *هنسله* از پرایمرهای اختصاصی ژن (*gltA*) استفاده شد. همچنین برای طراحی پرایمرها از نرم‌افزار (AmplifX)، ورژن ۱، ۱، ۲، فرانسه) استفاده شد. برای انجام PCR، غلظت بهینه مواد به کار رفت و در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر به صورت زیر استفاده شد. مستر میکس

مطالعه‌ای در آمریکا روی ۶۶۳ قلاده سگ، نشان داد که ۶۱ مورد از آن‌ها آلوده بودند که ۳۰ مورد بارتونلا هنسله، ۱۷ مورد بارتونلا برخوفی، ۷ مورد بارتونلا کلره، ۲ مورد بارتونلا ونس و ۲ مورد نیز بارتونلا بوویس بودند (۹).

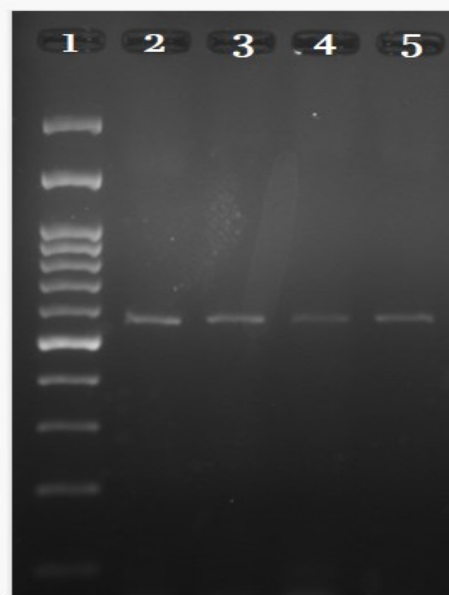
شیوع بارتونلوز در جمعیت سگ‌های شهری و روستایی ترکیه نشان داد که از ۸۵۵ سگ مطالعه‌شده، ۵۶ مورد از آن‌ها آلوده بودند، یعنی شیوع در این منطقه ۶/۶ درصد بوده است (۱۰).

تحقیق دیگری در فرانسه از ۶۴ قلاده سگ و به روش PCR نشان داد که در هیچ‌کدام از سگ‌ها این عامل باکتریایی وجود ندارد. شیوع عفونت ناشی از بارتونلوز در ۳۵۰ قلاده سگ اهلی در تایلند نشان داد که تنها در یکی از سگ‌ها بارتونلا کلاریدگیه جدا شد (۱۱). در مطالعه سانگساوانگ و همکاران (۲۰۲۱)، در کشور تایلند که با استفاده از روش PCR و پرایمرهای اختصاصی ژن‌های (*gltA*)، *groEL* و *rpoB*، *ftsZ* انجام شده است. در مجموع ۲۹۵ نمونه خون سگ و ۵۱۳ نمونه خون گربه میزان آلودگی در سگ‌های بررسی شده صفر درصد و در گربه‌ها ۲/۸۳ درصد بوده است (۱۲). آلوده نبودن به بارتونلا در این مناطق با وضعیت بهداشتی سگ‌ها مرتبط است.

در تحقیق تایی و مختار (Tay and Mokhtar) در سال ۲۰۱۱ روی ۲۰۹ کک (کتوسفالیدس کنیس) سگ‌های خانگی در مالزی و به روش PCR نشان داده شد که DNA بارتونلا هنسله و بارتونلا کلاریدگیه در ۴۰ تا از کک‌ها (۱۹/۱ درصد) حضور داشتند. هم‌زمان ۲ گونه بارتونلا در ۱۰ مورد از کک‌ها (۴/۸ درصد) مشخص شد. تحقیق آن‌ها نشان داد که کک منبع بالقوه‌ای از بیماری خراش گربه در مالزی است. بسیاری از محققان، شیوع سرمی بالا و آلودگی به باکتری بارتونلا هنسله را بدون علائم بالینی، در بین جمعیت گربه‌ها که به‌طور طبیعی مبتلا شده‌اند، گزارش کرده‌اند (۱۳).

تعیین تیتراژ آنتی‌بادی در ایالات متحده و غرب کانادا از ۳۳ منطقه جغرافیایی، نشان داد که شیوع بارتونلوز، با افزایش درجه حرارت هوا و بارش سالانه ارتباط دارد. در ضمن، بیشترین تعداد ناقلان بندپا، در چنین مناطق گرم و مرطوبی حضور داشتند (۱۴).

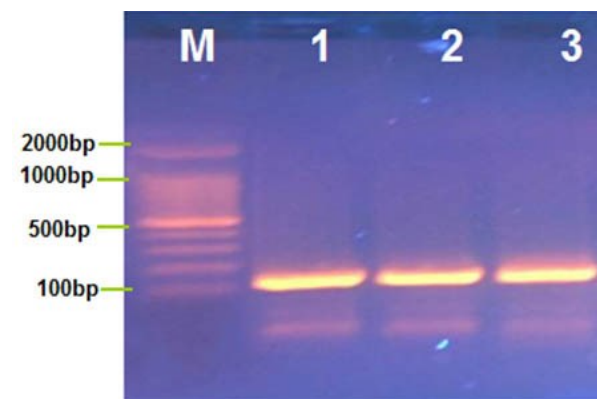
دیگر مطالعات انجام‌شده در نقاط مختلف جهان شامل برزیل (۲۴/۷ درصد، ۱۶ درصد)، یونان (۸/۵ درصد)، ایتالیا (۸۳/۵ درصد، ۲۱ درصد)، آلمان (۱۶/۶ درصد)، عربستان سعودی (۹/۲ درصد) می‌شوند که نتایج متفاوتی با مطالعات دیگر در کشورهایی مانند ایتالیا، اسپانیا،



شکل (۱) جاهک شماره یک مارکر ۱۰۰ جفت بازی، جاهک شماره دو تا پنج نمونه‌های مثبت با پرایمرهای 16S rRNA جنس بارتونلا

### نتایج آزمایش Nested-PCR ژن *gltA* گونه بارتونلا هنسله

در مجموع از تعداد ۴ نمونه مثبت با ژن *16S rRNA*، تعداد سه نمونه با پرایمرهای اختصاصی ژن *gltA* گونه هنسله مثبت بودند، شکل ۲.



شکل (۲) جاهک M مارکر ۱۰۰ جفت بازی، جاهک شماره ۱ تا ۳ نمونه‌های مثبت با پرایمرهای *gltA* جنس بارتونلا

### بحث

در حال حاضر باکتری بارتونلا هنسله به‌عنوان عامل اصلی بیماری خراش گربه و باسیلاری آنژیوماتوزیس در جهان شناخته شده است و طیف نشانه‌های بالینی آن، در حال گسترش است. گربه‌ها بیشتر به‌مثابه مخزن بارتونلا مطرحند (Dehio, 2003).

در گزارش کیم (Kim) و همکاران در سال ۲۰۰۹ از کشور کره، بارتونلا هنسله از ۱۶/۶ درصد نمونه‌های خون سگ‌های خانگی، ۱۸/۵ درصد از بزاق و ۲۹/۶ درصد از ناخن سگ‌ها جدا شد (۸).

اسکاتلند داشتند (۱۵، ۱۶، ۱۷، ۱۸، ۱۹).

در مطالعه‌ای شمشیری و همکاران (۲۰۲۱)، از تعداد ۱۰۰ نمونه خون سگ جمع‌آوری شده از شهرستان‌های همدان و کرمانشاه، تعداد ۱۰ قلاده (معادل ۲۲/۲ درصد) مربوط به سگ‌های شهرستان همدان و تعداد ۴ قلاده (معادل ۷/۲ درصد) مربوط به سگ‌های شهرستان کرمانشاه آلوده به گونه‌های *بارتونلا* بودند (۲۰).

در سال ۲۰۱۹، Greco و همکاران فراوانی آلودگی با گونه‌های *بارتونلا* را در سرم و خون ۶۶ قلاده سگ ولگرد و پناهگاهی در اطراف همدان با استفاده از تست سرولوژی ایمونوفلورسنت آنتی‌بادی غیرمستقیم و آزمون‌های مولکولی را به ترتیب ۷۴/۲ درصد و ۲۴/۲۴ درصد گزارش دادند (۲۱).

در مطالعه دیگری، صمصامی و همکاران (۲۰۲۰)، میزان آلودگی در ۹۸ نمونه خون سگ در منطقه شیراز، با روش مولکولی براساس ژن‌های *ropB* و *ITS* میزان شیوع گونه‌های جنس *بارتونلا* ۱۲/۲ درصد گزارش داده‌اند (۲۲).

در مطالعه اسکویی‌زاده و همکاران (۲۰۱۳) در منطقه اهواز، میزان آلودگی به *بارتونلا* هنسله در خون، ناخن و بزاق سگ‌ها به روش PCR میزان آلودگی را صفر گزارش شد (۲۳).

میزان آلودگی به جنس *بارتونلا* و گونه *بارتونلا* هنسله در مطالعه ما به ترتیب ۴ درصد و ۳ درصد است. مطالعه حاضر نشان داد که جنس *بارتونلا* در سگ‌های شهرستان خراباد وجود دارد. با وجود اهمیت اندکی که عفونت ناشی از *بارتونلا* هنسله در سگ‌ها و گربه‌ها دارد، حذف فارماکولوژیک باکتری *بارتونلا* برای نگهداری از این حیوانات در منزل افرادی که ضعف سیستم ایمنی دارند، اهمیت زیادی دارد. به علت اینکه در اثر درمان رایج بارتونلوز امکان ایجاد مقاومت دارویی وجود دارد، توصیه می‌شود فقط زمانی اقدام به درمان دارویی شود که صاحبان آن‌ها، نقص سیستم ایمنی داشته باشند. نتایج این مطالعات نمایانگر این واقعیت است که سگ می‌تواند نقش اپیدمیولوژیکی مهمی در خصوص بیماری بارتونلوز در ایران داشته باشد. همچنین می‌تواند نشان‌دهنده این باشد که سگ‌های شهرستان خراباد ممکن است در معرض گزش بندپایان آلوده (مانند کنه) قرار گرفته باشند. این بررسی اولین گزارش در خصوص جداسازی ژنومی جنس *بارتونلا* در سگ‌های شهرستان خراباد است.

در مطالعه *بارتونلا* در سگ‌ها و گربه‌های خانگی در کشور تایلند

در منطقه بانکوک میزان آلودگی در گربه‌های ولگرد ۲/۵۳ درصد گزارش شده است. در این مطالعه شواهدی از باکتری *بارتونلا* در ۱۳ گربه به دست آمده است. درحالی‌که میزان آلودگی در سگ‌ها مطالعه شده صفر درصد گزارش شده است.

تفاوت در میزان شیوع در مطالعات مختلف می‌تواند به دلیل عواملی مانند تفاوت در مناطق جغرافیایی مورد بررسی، عوامل محیطی و مسائل مدیریتی جمعیت مورد مطالعه مرتبط باشد. همچنین پژوهش ما نشان داد که شیوع *بارتونلا* در سگ‌های مطالعه شده در مقایسه با مطالعه چلبی و همکاران (۲۰۱۰) تفاوت معنی‌داری ندارد (۲۴).

در تحقیقی در آمریکا، گونه‌های *بارتونلا* از بافت قلب ۹ قلاده سگ که اندوکاردیت داشتند، جدا شد (۲۵). در سال ۲۰۱۱ در ایتالیا، *بارتونلا* هنسله از یک قلاده سگ نژاد پومرانین پنج‌ساله که پیوگرانولوماتوز عمومی داشت، جدا شد (۲۶). در مطالعات انجام شده در ایران و کشورهای مختلف بافت‌های قلبی و خون بررسی شدند. این احتمال وجود دارد که حضور *بارتونلا* فقط در بافت قلب مثبت باشد، بنابراین علت تفاوت در میزان شیوع می‌تواند به دلیل نوع بافت مورد مطالعه باشد. علاوه بر این، سگ‌ها میزبان تصادفی محسوب می‌شوند. همچنین باید موقعیت جغرافیایی و نوع میزبان عوامل مرتبط با شیوع *بارتونلا* در نظر گرفته شود. حیوانات ولگرد غالباً شیوع بالاتری از *بارتونلا* را نسبت به حیوانات خانگی نشان می‌دهند.

علاوه بر این، غلظت DNA *بارتونلا* ممکن است بر حساسیت تست PCR و پایین یا بالا رفتن میزان شیوع تأثیر داشته باشد. همچنین برخی از مطالعات نشان داده است به دلیل پایین بودن میزان DNA، real-time PCR می‌تواند حساسیت بیشتری به PCR معمولی داشته باشد. با این حال، زمان و هزینه PCR معمولی در مقایسه با سایر روش‌ها کمتر است. علاوه بر این، پرایمرهای مختلفی برای PCR معمولی در مقایسه با روش real-Time معرفی شده است. در نهایت، نتایج نشان داد که می‌توان روش‌های مولکولی را با استفاده از پرایمرهای اختصاصی برای شناسایی *بارتونلا* استفاده کرد. با توجه به اینکه *بارتونلا* یک باکتری خون‌دوست و همچنین سخت‌رشد است، می‌توان از تکنیک‌های مولکولی مانند PCR معمولی و Nested-PCR که حساس‌تر از روش‌های کشت و سرولوژی هستند، برای شناسایی گونه و زیرگونه برای این باکتری استفاده کرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان ۸ درصد از نمونه‌های خون جمع‌آوری شده از سگ‌های شهرستان خرم‌آباد از نظر ژنومی آلوده به

9. Celebi, B. et al., 2010. Seroprevalence of *Bartonella vinsonii subsp Berkhoffii* in urban and rural dogs in Turkey. *The Journal of veterinary medical science*, 72(11), 1491-1494.
10. Chamberlain, J. S., R. A. Gibbs, J. E. Rainer, P. N. Nguyen and C. Thomas 1988. "Deletion screening of the Duchenne muscular dystrophy locus via multiplex DNA amplification." *Nucleic acids research* 16(23): 11141-11156.
11. Chomel, B. B., H. J. Boulouis and E. B. Breitschwerdt 2004. "Cat scratch disease and other zoonotic *Bartonella* infections." *Journal of the American Veterinary Medical Association* 224(8): 1270-1279.
12. Chomel, B. B., R. W. Kasten, K. Floyd-Hawkins, B. Chi, K. Yamamoto, J. Roberts-Wilson, A. N. Gurfield, R. C. Abbott, N. C. Pedersen and J. E. Koehler., 1996. "Experimental transmission of *Bartonella henselae* by the cat flea." *Journal of clinical microbiology* 34(8): 1952-1956.
13. Chou, Q., M. Russell, D. E. Birch, J. Raymond and W. Bloch 1992. "Prevention of pre-PCR mis-priming and primer dimerization improves low-copy-number amplifications." *Nucleic acids research* 20(7): 1717-1723.
14. Clarridge 3rd, J., T. J. Raich, D. Pirwani, B. Simon, L. Tsai, M. C. Rodriguez-Barradas, R. Regnery, A. Zollo, D. C. Jones and C. Rambo 1995. "Strategy to detect and identify *Bartonella* species in routine clinical laboratory yields *Bartonella henselae* from human immunodeficiency virus-positive patient and unique *Bartonella* strain from his cat." *Journal of Clinical Microbiology* 33(8): 2107-2113.
15. Dehio, C., 2001. "Bartonella interactions with endothelial cells and erythrocytes." *Trends in microbiology* 9(6): 279-285.
16. Dehio, C., 2003. Recent progress in understanding *Bartonella*-induced vascular proliferation. *Curr Opin Microbiol*, 6(1), 61-65.
17. Don, R., P. Cox, B. Wainwright, K. Baker and J. Mattick 1991. "'Touchdown'PCR to circumvent spurious priming during gene amplification." *Nucleic acids research* 19(14): 4008.
18. Erlich, H. A. 1989. *PCR technology*, Springer.
19. Ettinger, S. and E. Feldman 2005. *Textbook of veterinary internal medicine*. 6th Edn., St. Louis, Missouri, USA, Elsevier Saunders. P.
20. Fenimore, A. et al., 2011. *Bartonella spp.* DNA in Cardiac tissues from dogs in Colorado and Wyoming. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(3), 613-616.
21. Fleige, S., V. Walf, S. Huch, C. Prgomet, J. Sehm and M. W. Pfaffl 2006. "Comparison of relative mRNA quantification models and the impact of RNA integrity in quantitative real-

باکتری *بارتونلا* هستند. همچنین نتایج نشان داد که تکنیک مولکولی PCR به دلیل سریع، حساس و دقیق بودن می‌تواند در شناسایی *بارتونلا* در حد گونه استفاده شود. در نهایت با توجه به سخت رشد بودن باکتری *بارتونلا* و نیاز به تجهیزات خاص مانند انکوباتور CO<sub>2</sub> دار برای کشت و همچنین با توجه به اینکه در مواردی که درمان انجام شده ممکن است نتیجه کشت منفی باشد، تکنیک‌های مولکولی مانند PCR بهترین جایگزین برای تشخیص این باکتری‌اند.

### تضاد منافع

نویسندگان تصریح می‌کنند که هیچگونه تضاد منافی در مطالعه حاضر وجود ندارد.

### منابع

1. Avidor, B., M. Graidy, G. Efrat, C. Leibowitz, G. Shapira, A. Schattner, O. Zimhony and M. Giladi 2004. "*Bartonella koehlerae*, a new cat-associated agent of culture-negative human endocarditis." *Journal of Clinical Microbiology* 42(8): 3462-3468.
2. Bajinka, O. Ozdemir, G., 2017. The validity of singleplex and multiplex Real-time PCR detection and quantification of waterborne pathogens from domestic to industrial water. *Research journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Science*, 3(1), 25.
3. Bartlett, J. M. and D. Stirling., 2003. *PCR Protocols: Methods in Molecular Biology*. 226 vol, 2<sup>nd</sup> ed. New Jersey: Humana Press.
4. Batterman, H., J. Peek, J. Loutit, S. Falkow and L. Tompkins 1995. "*Bartonella henselae* and *Bartonella quintana* adherence to and entry into cultured human epithelial cells." *Infection and Immunity* 63(11): 4553-4556.
5. Boulouis, H.-J. et al., 2005. "Factors associated with the rapid emergence of zoonotic *Bartonella* infections." *Veterinary research* 36(3): 383-410.
6. Breitschwerdt, E. B. and D. L. Kordick 2000. "*Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection." *Clinical microbiology reviews* 13(3): 428-438.
7. Butler, J. M. 2005. *Forensic DNA typing: biology, technology, and genetics of STR markers*, Elsevier.
8. Carracedo, A. 2005. *Forensic DNA typing protocols*, Springer Science & Business Media.

- time RT-PCR." *Biotechnology letters* 28(19): 1601-1613.
22. Gachon, C., A. Mingam and B. Charrier 2004. "Real-time PCR: what relevance to plant studies?" *Journal of experimental botany* 55(402): 1445-1454.
23. Greco, G. et al., 2019. High prevalence of *Bartonella* sp. in dogs from Hamedan, Iran. *The American journal of tropical medicine and hygiene*, 101(4), 749-752.
24. Greene, C.E., 2007. *Infectious Diseases of Dog and Cat*. 3<sup>rd</sup>. ed. Philadelphia: W.B. Saunders Co.
25. Haff, L. A. 1994. "Improved quantitative PCR using nested primers." *Genome Research* 3(6): 332-337.
26. Hayden, M. J., T. M. Nguyen, A. Waterman and K. J. Chalmers 2008. "Multiplex-ready PCR: a new method for multiplexed SSR and SNP genotyping." *BMC genomics* 9(1): 1-12.