تعیین انتشار جغرافیایی *تیلریا اویس*در بزان استان تهران به روش مولکولی

مهدی خداویسی[۱]، صادق رهبری*[۱]، پرویز شایان[۲]، ناصر حقوقی‌راد[۱]

چکیده

تیلریا اویس یکی از عوامل تک یاخته‌ای خونی خوش خیم در گوسفند و بز در بسیاری از مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بوده که توسط کنه‌های خانواده ایکسودیده انتقال می‌یابد. این مطالعه برای تعیین پراکنش *تیلریا اویس* بر روی جمعیت ٤٠٠ راس بز به ظاهر سالم در استان تهران انجام گردید. گسترش‌های خونی تهیه شده پس از رنگ‌آمیزی با روش گیمسا، تحت آزمایشات میکروسکوپی قرار گرفتند. به منظور تشخیص مولکولی، استخراج DNA از خون صورت گرفت و متعاقب آن به منظور تفریق گونه‌های *تیلریا* و *بابزیا* از یکدیگر با آغازگرهای اختصاصی منشعب از ژن کد کننده 18SrRNA (آغازگر۱، آغازگر۲) تکثیر پیدا کرد. به منظور تفریق گونه‌های *تیلریا* از یکدیگر آزمایش Semi-nested PCR با آغازگرهای اختصاصی منشعب از ژن 2-1 ms برای *تیلریا لستوکاردی* (آغازگر٤، آغازگر ٦)، *تیلریا آنولاتا* (آغازگر ٥، آغازگر ٦) و برای *تیلریا اویس* با آغازگر اختصاصی منشعب از ژن 18SrRNA (آغازگر۲، آغازگر۳) انجام شد. نتایج میکروسکوپی نشان داد که ۱/۷٪ (۷ مورد از ٤٠٠ نمونه) به *تیلریا اویس* آلوده بوده در حالی که در بررسی Semi-nested PCR ٦٪ (٢٤ مورد از ٤٠٠ نمونه) برای *تیلریا اویس* مثبت بودند. نتایج این بررسی نشان داد که *تیلریا اویس* در بزان بدون علائم بالینی قابل شناسایی است. بنابراین آنها می‌توانند به عنوان مخازن عفونت برای کنه‌ها و عامل انتقال انگل به گوسفند در نظر گرفته شوند.

واژگان کلیدی: *تیلریا، Semi-nested PCR ، بز، استان تهران*

تاریخ دریافت: ٩٤/١٢/٢٢ تاریخ پذیرش: ٩٥/٣/٢٠

مقدمه

بیماری‌های منتقله از کنه در حیوانات اهلی مجموعه‌ای از عوامل مختلف شامل تک یاخته‌ها، ریکتزیاها، باکتری‌ها و ویروس‌ها می‌باشد. *تیلریا لستوکاردی (T. lestoquardi)* و *تیلریا اویس* به عنوان عوامل تیلریوزیس گوسفندی در ایران شناسایی شده‌اند(۱۰). تیلریوزیس بدخیم گوسفند از دیر باز در مناطق مختلف کشور مورد توجه محققین مختلف قرار گرفته است (۲۳ و ۲۲، ۱۸، ۱۳،۱٦). *تیلریا اویس* به عنوان عامل تیلریوز خوش خیم گوسفند با پراکنش گسترده در کشور نیز مورد مطالعه قرار گرفته است(۱۰). شناسایی فرم اریتروسیتی *تیلریا* معمولاً بر پایه تشخیص ریخت‌شناسی فرم پیروپلاسمی انگل در گسترش خون رنگ‌آمیزی شده با گیمسا انجام می‌گردد، به علت حساسیت پایین این روش جهت تشخیص تفریقی انگل در برخی موارد بررسی‌های اپیدمیولوژیک این بیماری با محدودیت مواجه بوده است(۱۲). واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز برای تشخیص گونه‌های *تیلریا* یکی از روش‌های مناسب مولکولی با حساسیت و ویژگی بالا بوده که می‌تواند برای تعیین گونه‌های *تیلریا* در پارازیتمی‌های پایین مورد استفاده قرار گیرد(۲۵و٦،١٥). علیرغم گزارش‌های متعدد در زمینه انتشار تیلریوز گوسفند، تاکنون مطالعات بسیار اندکی در خصوص تیلریوز در بزها انجام شده است. از آنجایی که پرورش بز در اکثر موارد به صورت توام با گوسفند انجام می گیرد، لذا آلودگی مضاعف کنه‌های ناقل و انتقال انگل بین گوسفند و بز محتمل است. لذا این مطالعه با هدف تعیین و پراکنش *تیلریا اویس* در بزان استان تهران انجام شد.

مواد و روش کار

منطقه مورد مطالعه

استان تهران با ۱۸۹۰۹ کیلومتر مربع مساحت، سطحی معادل ۱/۲٪ مساحت کل کشور را به خود اختصاص داده است. این استان از شمال به استان مازندران، از جنوب به استان قم، از غرب به استان قزوین و از شرق به استان سمنان محدود می‌شود. استان تهران از نظر موقعیت جغرافیایی بین ٣٤ درجه و ٥٢ دقیقه تا ٣٦ درجه و ٢١ دقیقه عرض شمالی و ٥٠ درجه و ١٠ دقیقه تا ٥٣ درجه و ١٠ دقیقه طول شرقی قرار دارد.

* ۱- گروه انگل‌شناسی، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاداسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران
srahbari@ut.ac.ir
۲ - گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

استان تهران را می‌توان به سه بخش اقلیمی تقسیم کرد: اقلیم ارتفاعات شمالی که بر دامنه جنوبی بلندی‌های البرز مرکزی در ارتفاع بالای ۳۰۰۰ متر قرار گرفته و آب و هوایی مرطوب و نیمه مرطوب و سردسیر با زمستان‌های بسیار سرد و طولانی دارد. بارزترین نقاط این اقلیم، دماوند و توچال است. اقلیم کوهپایه که در ارتفاع دو تا هزار متری از سطح دریا قرار گرفته و دارای آب و هوایی نیمه مرطوب و سردسیر و زمستان‌هایی به نسبت طولانی است. فیروزکوه و دماوند در این اقلیم قرار دارند. اقلیم نیمه خشک و خشک: با زمستان‌های کوتاه و تابستان‌های گرم، در ارتفاعات کمتر از ۱۰۰۰ متر واقع شده است. هر چه ارتفاع کاهش می‌یابد، خشکی محیط بیشتر می‌شود. ورامین، پاکدشت، شهریار و ری در این اقلیم قرار گرفته‌اند.

جمع‌آوری نمونه خون

بر اساس جمعیت بزان در استان تهران و با اطمینان ۹۵٪ ، دقت ۰/۰۵ و احتمال شیوع ۳۰٪ طبق مطالعات گذشته، با استفاده از فرمول محاسبه حجم نمونه به روش کوکران(۷) ، نمونه برداری از ٤۰۰ راس بز به ظاهر سالم و بدون علائم بالینی به صورت خوشه‌ای و کاملا تصادفی از دوازده شهرستان واقع در سه اقلیم مختلف استان تهران صورت پذیرفت. نمونه‌های خون از ورید وداج درون لوله‌های حاوی ماده ضد انعقاد EDTA اخذ گردید. از هر نمونه خون گسترش‌های نازک خونی تهیه و برای بررسی میکروسکوپی مورد استفاده قرار گرفت و باقی مانده آنها تا زمان بررسی مولکولی در برودت منهای ۲۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

بررسی میکروسکوپی

گسترش‌های خونی تهیه شده با متانول به مدت ۵ دقیقه ثابت شده و با رنگ گیمسای ۱۰٪ به مدت ۳۰ دقیقه رنگ آمیزی شدند و در تحت شرایط میکروسکوپ نوری با درشت نمایی ابژکتیو ۱۰۰ حداقل ۲۵ میدان میکروسکوپی مورد مشاهد قرار گرفت.

استخراج DNA

مقداری از لخته خون با استفاده از سر سمپلر استریل برداشته شد و در یک تیوب اپندورف استریل ۱/۵ میلی‌لیتری قرار داده شد تا در دمای آزمایشگاه کاملاً خشک گردد. سپس کار استخراج DNA با استفاده از کیت آزمایشگاهی موسسه پژوهشی انتقال سامانه های بیولوژی مولکولی (M.B.S.T)، مرکز توسعه فناوری زیستی پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک تهران طبق دستورالعمل شرکت سازنده آن انجام گردید.

واکنش PCR

به منظور تفریق همزمان بین جنس *تیلریا* و *بابزیا* بر روی هر نمونه یک PCR با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۱ و ۲ منشعب از ژن کد کننده 18S rRNA انجام گرفت (جدول۱). بدین‌منظور در داخل هر تیوب ۰/۲ میلی‌لیتری اختصاصی PCR، ۱ میکرولیتر DNA ریخته شد. به هر یک از نمونه‌های DNA نیز میزان ۱۰ میکرولیتر PCR Buffer x10، ۲ میکرولیتر dNTP (10mM each)، 3 میکرولیتر $Mgcl_2$ (50mM)، 0.5 میکرولیتر آنزیم تگ پلی مراز (U/µl)، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، آغازگر۱(20µM) و آغازگر۲(20µM) و آب دوبار تقطیر استریل به اندازه ای که حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر باشد اضافه شده و در دستگاه ترموسایکلر(Bio Rad) با برنامه زیر تکثیر مکرر DNA انجام گرفت. مرحله واسرشت (Denaturation) ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی گراد، سپس ۳٤ سیکل شامل ٤۵ ثانیه در ۹٤ درجه سانتی گراد واسرشت (Denaturation)، ٤۵ ثانیه در ٥٤–٥۲ درجه سانتی گراد اتصال آغازگرها به قسمت مکمل در رشته الگو (Annealing)، ٤۵ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد طویل شدن آغازگرها یا زمان ساخت (Extention) ، ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد زمان ساخت تکمیلی (Extention). ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ با استفاده از تانک الکتروفورز (Bio Rad) حاوی بافر ۰/۵x TBE با ولتاژ ۱۰۰ ، الکتروفورز و جداسازی انجام گرفت. در نهایت ژل با اتیدیوم بروماید به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی و با استفاده از اشعه UV ، باندهای جدا شده قابل روئیت گردیدند.

Semi-nested PCR

بدین منظور محصول تمامی نمونه‌هایی که نتیجه PCR آنها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۱و ۲ منشعب از ژن کد کننده 18S rRNA مثبت شده بود، ابتدا با استفاده از کیت مخصوص خالص سازی محصول PCR، تخلیص و سپس با آغازگر های اختصاصی ۲ به عنوان آغازگر antisense و آغازگر ۳ به عنوان آغازگر sense منشعب از ژن18S rRNA به منظور شناسایی *تیلریا اویس* و با آغازگرهای اختصاصی ٦ به عنوان آغازگر antisense و آغازگر ٤ و ٥ به عنوان آغازگرsense منشعب از ژن ms1-2 به ترتیب به منظور شناسایی *تیلریا لستوکاردی* و *تیلریا آنولاتا* تحت آزمایش Semi-nested PCR قرار گرفتند (جدول۱). بدین منظور در داخل هر تیوب ۰/۲ میلی لیتری اختصاصی PCR، ۲ میکرولیتر محصول PCR تخلیص شده ریخته شد. به هر یک از نمونه‌های DNA نیز میزان ۱۰ میکرولیتر ۱۰x PCR Buffer ، ۲ میکرولیتر dNTP (10mM each) ، ۳ میکرولیتر $Mgcl_2$ (50mM) ، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم تگ پلی مراز (5U/µl) ، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر، آغازگر٦ (20µM) و آغازگر٤ و ٥ (20µM) و آب دوبار تقطیر استریل به اندازه‌ای که حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر باشد اضافه شد و در دستگاه ترموسایکلر(Bio Rad) با برنامه زیر تکثیر مکرر DNA انجام گرفت.

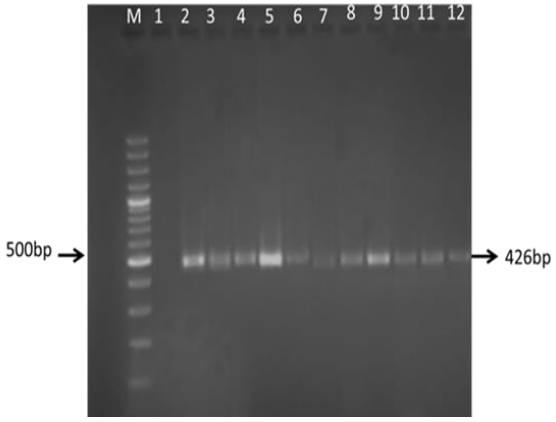
مرحله واسرشت (Denaturation) ۵ دقیقه در ۹۵ درجه سانتی گراد، سپس ۳۲ سیکل شامل ٤٥ ثانیه در ۹٤ درجه سانتی گراد واسرشت (Denaturation)، ٤٥ ثانیه در ٥٨-٥٤ درجه سانتی گراد اتصال آغازگرها به قسمت مکمل در رشته الگو(Annealing)، ٤٥ ثانیه در ۷۲ درجه سانتی گراد طویل شدن آغازگرها یا زمان ساخت (Extention)، ۵ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد زمان ساخت تکمیلی (Extention). ۵ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ با استفاده از تانک الکتروفورز (Bio Rad) حاوی بافر ۰/۵x TBE با ولتاژ ۱۰۰، الکتروفورز و جداسازی انجام گرفت. در نهایت ژل با اتیدیوم بروماید به مدت ۱۰ دقیقه رنگ آمیزی و با استفاده از اشعه UV، باندهای جدا شده قابل روئیت گردیدند(٢٤).

جدول ۱ـ نام و مشخصات آغازگرهای طراحی شده و استفاده شده

شماره آغازگر	نام آغازگر	شماره دستیابی در بانک ژن	توالی نوکلوتید	محصول تکثیر
آغازگر ۱	18S rRNA gene sense	Hyper variable region V4 of 18S rRNA (Schnittger et al. 2004)	5'CACAGGGAGGTAGTGACAAG3'	bp (*Theil.*)٤٢٦ -٤٣٠
آغازگر ۲	18S rRNA gene antisense	AJ006446 NCBI	5'AAGAATTTCACCTCTGACAG3'	bp (*Bab.*)٣٨٩ -٤٠٢
آغازگر ۳	*T. ovis* sense	AY260171.1 NCBI	5'TTGCTTTTGCTCCTTTACGAG3'	bp٢٣٧
آغازگر ٤	*T. lestoquardi ms1-2sense*	AJ006448.1	5'GTGCCGCAAGTGAGTCA3'	bp٧٦٠
آغازگر ٥	*T.annulata ms1-2sense*	AB917302.1	5'ATGCTGCAAATGAGGAT3'	bp٧٨٠
آغازگر ٦	*T. lestoquardi ms1-2antisense*	AJ006448.1	5'GGAATGATGAGAAGACGATGAG3'	

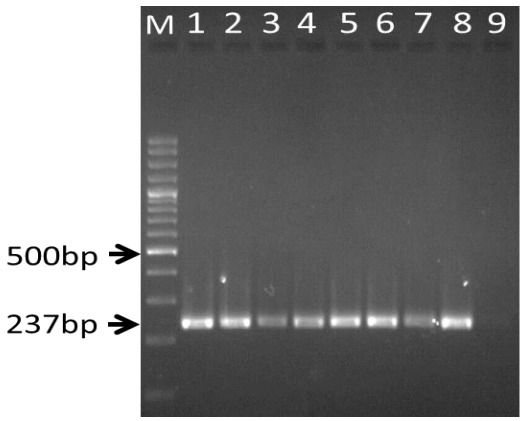
نتایج

نتایج بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی نشان داد که از ٤٠٠ نمونه تهیه شده از بزان استان تهران، تعداد ۷ نمونه (۱/۷٪) به انگل *تیلریا* آلوده تشخیص داده شد. تفریق همزمان آلودگی به *تیلریا* و *بابزیا* با استفاده از روش شایان و رهبری انجام شد (۲۵). که در این مرحله تمایز بین دو جنس مشخص گردید، اندازه محصول PCR برای گونه‌های *تیلریا* ٤٢٦ جفت باز بود (نگاره۱).



نگاره۱ـ نمونه‌های آلوده به *تیلریا* (M مارکر ۱۰۰bp ، ۱ کنترل منفی، ۲ کنترل مثبت، ۳ تا ۱۲ نمونه‌های آلوده به *تیلریا*)

نتایج بررسی مولکولی حاکی از آن است که تعداد نمونه‌های آلوده به *تیلریا* به ٢٤ نمونه (٦٪) افزایش یافت. متعاقبا با استفاده از محصول تمامی نمونه‌هایی که نتیجه PCR آنها با استفاده از آغازگرهای اختصاصی ۱ و ۲ مثبت شده بود با آغازگرهای اختصاصی ۲ به عنوان آغازگر antisense و آغازگر اختصاصی ۳ به عنوان آغازگر sense به منظور شناسایی *تیلریا اویس* مورد آنالیز قرار گرفت و نتایج نشان داد که همگی ٢٤ نمونه به *تیلریا اویس* آلوده هستند. در این مطالعه هیچ نمونه‌ای آلوده به *تیلریا لستوکاردی* و *تیلریا آنولاتا* تشخیص داده نشد. اندازه محصول PCR در این مرحله با آغازگرهای اختصاصی *تیلریا اویس*، ۲۳۷ جفت باز بود(نگاره ۲).



نگاره۲ـ نتایج تکثیر DNAهای استخراج شده با آغازگرهای ۲ و ۳ (M مارکر ۱۰۰bp ، ۱ کنترل مثبت، ۹ کنترل منفی، ۲ تا ۸ نمونه‌های آلوده به *تیلریا اویس*)

نتایج نمونه‌ها بر اساس تفکیک هر شهرستان استان تهران در جدول ۲ خلاصه شده است. نتایج این بررسی حاکی از آن است که در پنج منطقه، تهران، شمیرانات، اسلامشهر، رباط کریم و پیشوا هیچ موردی از آلودگی مشاهده نشد. حال آن که هفت منطقه واجد آلودگی بوده که در آن میان شهریار با سطح آلودگی ۱۸/۱٪ بیشترین میزان آلودگی و شهرستان ورامین با میزان ۵/۳٪ حداقل آلودگی را نشان داده است.

جدول ۲ـ نتایج بررسی میکروسکوپی و تکثیر محصول PCR اولیه با آغازگرهای اختصاصی ۲ و ۳ برای تعیین *تیلریا اویس* به تفکیک شهرستان

شهرستان	تعداد نمونه	تعداد نمونه مثبت مولکولی	درصد آلودگی	تعداد نمونه مثبت میکروسکوپی	درصد آلودگی
تهران	۲۲	۰	۰	۰	۰
شمیرانات	٢٤	۰	۰	۰	۰
ورامین	۱۱۳	٦	۵/۳	۳	۲/٦
شهریار	۲۲	٤	۱۸/۱	۲	۹
اسلامشهر	۱۱	۰	۰	۰	۰
رباط کریم	۱۰	۰	۰	۰	۰
پاکدشت	٦۵	۲	۳	۱	۱/۵
فیروزکوه	۳۷	۳	۸	۰	۰
دماوند	١٦	۲	۱۲/۵	۰	۰
ملارد	۲۹	٤	۱۳/۲	۱	۳/٤
پیشوا	۲۱	۰	۰	۰	۰
ری	۳۰	۳	۱۰	۰	۰
مجموع	٤۰۰	٢٤	٦	۷	۱/۷

بحث

مشاهدات میکروسکوپی گسترش‌های خونی بزانی که از مناطق مختلف استان تهران اخذ گردید حاکی از آن است که اشکال پیروپلاسمی انگل در۷ مورد از ٤٠٠ مورد نمونه‌ها (۷ /۱٪) قابل تشخیص بوده اند. در حالی که با استفاده از روش بیولوژی مولکولی سطح آلودگی به ٢٤ مورد افزایش یافته است (٦٪). به علاوه در روش میکروسکوپی به سختی می‌توان با قاطعیت تعیین گونه را اعلام نمود. این مشاهدات موید آن است که روش‌های بیولوژی مولکولی در مقایسه با روش‌های متداول تشخیص آزمایشگاهی از حساسیت و ویژگی بسیار بالایی برخوردار می‌باشد(۲۹و۱،۲٤).

بررسی های انجام یافته در متون انگل شناسی نشان می‌دهد اطلاعات اندکی در مورد اجرام تیلریایی در بز وجود دارد، Alousi و همکاران در بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی بزها میزان عفونت به گونه‌های *تیلریا* را ۱۹/۵٪ در عراق گزارش کردند (۳). همچنین Amery در مطالعه گسترش‌های خونی بزها در عراق میزان عفونت به *تیلریا لستوکاردی* را ۳۳/۸٪ گزارش نمودند(٤). Altay و همکاران با استفاده از روش میکروسکوپی میزان عفونت بزها به گونه‌های *تیلریا* را در منطقه آناتولیا ترکیه ۲/۸٪ تعیین نمودند در حالی که در بررسی مولکولی میزان عفونت به *تیلریا اویس* ۱۱/۲٪ تعیین گردید(٦ و ٥). Gebrekidan و همکاران در بررسی میکروسکوپی در بز در شمال اتیوپی میزان آلودگی به گونه‌های *تیلریا* را ۲٪ عنوان کردند که به عنوان *تیلریا اویس* گزارش گردید(۸). همان گونه که شواهد تحقیقات مختلف نشان می‌دهد چنین به نظر می رسد که بز میزبان مناسبی برای *تیلریا لستوکاردی* نبوده و از سوی دیگر چنین به نظر می رسد که فراوانی آلودگی با *تیلریا اویس* با تفاوت اندکی در مناطق مختلف جغرافیایی حضور دارد که با یافته های این بررسی همخوانی بسیاری دارد. شواهد گله داری در ایران موید این نظر است که در غالب موارد گوسفندان و بزان در سطح یک مرتع در مجاور یکدیگر چرا می نمایند. لیکن نتایج تحقیقات انجام یافته حاکی از آن است که گوسفندان بیشتر تحت تاثیر عوامل تک یاخته های خونی در قیاس با بزان قرار می‌گیرند(۱۳). بر همین اساس مطالعات سال های اخیر در بیان گسترش آلودگی تک یاخته *تیلریا* در گوسفندان انجام گردیده است. حبیب پور و همکاران، در بررسی گسترش‌های خونی گوسفندان در منطقه ورامین استان تهران، میزان آلودگی به گونه‌های *تیلریا* را ۲٪ گزارش کرده اند(۲٦). حال آن که رزمی و همکاران میزان آلودگی به گونه‌های *تیلریا* را در گوسفندان استان خراسان جنوبی ۱۱/۹٪ عنوان کردند(۲۳). همچنین در این ارتباط می‌توان نتایج مطالعه حیدرپور بمی که از طریق بیولوژی مولکولی میزان آلودگی به *تیلریا اویس* را ۱۲/۵٪ در گوسفندان در نیمه شرقی ایران اعلام نموده اند را مورد مطالعه قرار داد(۱۱). این در حالی است که رشیدی و رزمی با استفاده از روش Semi nested PCR میزان آلودگی به *تیلریا* را ٤۱/۱٪ نشان دادند(۲۱). نتایج نامبردگان حاکی از آن است که سهم *تیلریا اویس*۷۰٪ از میزان آلودگی گوسفندان استان خراسان شمالی می‌باشد، و یا آن که زعیمی و همکاران *تیلریای* گوسفندی در مناطق شمال و شمال غرب ایران را با استفاده از روش Nested PCR-RFLP مورد بررسی قرار داده و مشخص نمودند که میزان آلودگی *تیلریا اویس* تنها گونه شناسایی شده در این مطالعه در سطح ٤۰/۱۲٪ می‌باشد(۲۹). همچنین می‌توان به نتایج بررسی جلالی و همکاران اشاره کرد که با استفاده از روش PCRRFLP مشخص نمودند ۹۱/۵٪ از گونه‌های *تیلریا* در گوسفند اختصاص به *تیلریا اویس* دارد(۱٤). همان گونه که نتایج بررسی‌های به عمل آمده در مورد *تیلریا اویس* در گوسفندان با عنایت به روش مورد مطالعه نشان می‌دهد، پراکنش این تک یاخته حداقل مرتبط به پراکنش دو گونه کنه ناقل می‌باشد. رشیدی و رزمی کنه *ریپی سفالوس تورانیکوس* را به عنوان ناقلین *تیلریا اویس* در خراسان شمالی اعلام نمودند(۲۱). این در حالی است که Aktas و همکاران *ریپی سفالوس بورسا* را به عنوان ناقل تک یاخته *تیلریا اویس* در

برخی از نقاط ترکیه اعلام نمودند(۲). یغفوری و همکاران نشان دادند که *تیلریا اویس* در غدد بزاقی کنه *ریپی سفالوس تورانیکوس* در استان فارس وجود دارد(۲۸). رهبری و همکاران نشان دادند که کنه *ریپی سفالوس تورانیکوس* به میزان کمتری نسبت به سایرگونه‌های کنه *ریپی سفالوس* در مناطق مختلف ایران انتشار یافته است و اکثرا در مناطق نیمه گرمسیر پراکنده بوده و با وقوع کمتر در مناطق کوهستانی زاگرس حضور دارد(۲۰). تلمادارایی و همکاران در شمال ایران *تیلریا اویس* را از غدد بزاقی کنه *ریپی سفالوس سانگوئینوس* در مناطق حاشیه دریای خزر جدا نموده اند(۲۷). مظلوم عنوان کرد که *ریپی سفالوس بورسا* در ایران در نواحی غربی ایران مانند استان های کرمانشاه، کردستان، آذربایجان، لرستان و مناطق دیگر مانند سواحل دریای خزر، استان تهران و خراسان یافت می‌شود و در انتقال *تیلریا اویس* نیز نقش دارد(۱۷). رهبری و همکاران نشان دادند که *ریپی سفالوس سانگوئینوس* و *تورانیکوس* در مناطق شمال کشور حضور دارند(۱۹). در این بررسی بیشترین میزان آلودگی به *تیلریا اویس* مربوط به منطقه شهریار با میزان آلودگی (۱۸/۱٪) می‌باشد و بعد از آن ری و ملارد بیشترین میزان آلودگی را نشان می‌دهند و کمترین میزان آلودگی به *تیلریا* مربوط به منطقه پاکدشت با ۳٪ آلودگی است. این در حالی است که این مناطق در اقلیم گرمسیر و نیمه گرمسیر استان تهران قرار دارند و اختلاف در فراوانی آلودگی در برخی از این مناطق مانند ملارد، ری و شهریار در مقایسه با مناطقی مانند ورامین و پاکدشت می‌تواند به احتمال زیاد به دلیل عدم حضور کنه ناقل فعال در این مناطق باشد. چنانچه حدادزاده و همکاران آلودگی به *تیلریا لستوکاردی* را بیشتر به تغییرات درجه حرارت وابسته دانسته تا سویه کنه و عنوان کردند که در مناطق شمالی درجه حرارت پایین فاکتور محدودکننده در رشد تک یاخته در غدد بزاقی بوده در حالی که در مناطق دیگر درجه حرارت بالا می‌تواند فاکتور تحریک کننده رشد تک یاخته در غدد بزاقی کنه باشد و نامبردگان پراکنش کانونی تیلریوز بدخیم گوسفندی را بدین علت مورد بحث قرار داده‌اند(۹). اغلب مطالعات انجام شده در مورد شیوع این انگل معطوف به بخش های شمال، شمال شرقی و شمال غربی و نیز اغلب مطالعات بر روی گوسفند انجام شده و بررسی بر روی بز کمتر صورت گرفته است. لذا بررسی‌های بیشتر ضروری به نظر می‌رسد، تا بتوان چنین نتیجه گرفت که *تیلریا اویس* در بزهای بدون علائم کلینیکی می‌تواند به عنوان مخزن عفونت برای کنه‌ها در نظر گرفته شود. علیرغم آن که ارزیابی نتایج این مطالعه نشان داد که هیچ آلودگی به *تیلریا لستوکاری*، *تیلریا آنولاتا* در بزهای مناطق مورد مطالعه وجود ندارد، لیکن بررسی‌های بیشتری نیاز است تا بتوان اثبات نمود که آیا بز را می‌توان به عنوان یک حیوان مقاوم در برابر آلودگی‌های تک یاخته‌ای خونی در نظر گرفت.

فهرست منابع

1. Aktas, M., Dumanli, N., Cetinkaya, B., Cakmak, A. (2002): Field evaluation of PCR in detecting *Theileria annulata* infection in cattle in eastern Turk. Vet. rec. 150: 548-549.
2. Aktas, M., Altay, K., Dumanli, N. (2006): PCR-based detection of *Theileria ovis* in *Rhipicephalus bursa* adult ticks. Vet.Parasitol. 140: 259–263.
3. Al-Alousi, T.L., Hayatee, Z.G., Latif, BMA. (1988): Incidence of Theileriasis in sheep of Mosul area in Iraq. J. Vet. Parasitol. 2:149–150.
4. Al-Amery, M., Hasso, S. (2002): Laboratory diagnosis of novel species of *Theileria hirci*, *Eimeria caprovina* and *Eimeria pallida* in goats in Iraq. Small. Ruminant. Res. 44: 163-166.
5. Altay, K., Dumanli, N., Holman, P.J., Aktas, M. (2005): Detection of *Theileria ovis* in naturally infected sheep by nested PCR. Vet. Parasitol. 127: 99-104.
6. Altay, K., Aktas, M., Dumanli, N. (2007): *Theileria* infections in small ruminants in the east and southeast Anatolia.Turk. J. Vet. Anim. Sci. 31: 268-271.

7. Cochran, W. G. (1963): Sampling Techniques, 2nd Ed., New York: John Wiley and Sons, Inc.
8. Gebrekidan, H., Hailu, A., Kassahun, A., Rohoušová, I., Maia, C., TalmiFrank, D., Warburg, A., Baneth, G. (2014): *Theileria* infection in domestic ruminants in northern Ethiopia. Vet. Parasitolo. 200 :31–38.
9. Haddadzadeh, H.R., Rahbari, S., Khazraiinia, P., Nabian, S. (2004): New concept on limiting factors of ovine and caprine malignant Theileriosis. Iran. J. Vet. Res. 5:43-46
10. HashemiFesharki, R. (1997): Tick-borne diseases of sheep and goats and their related vectors in Iran. Parassitologia. 39: 115-117.
11. Heidarpour Bami, M., Haddadzadeh, H.R. (2009): Molecular identification of ovine *Theileria* species by a new PCR–RFLP method. Vet. Parasitol. 161: 171-177.
12. Hooshmand Rad, P., Hawa, N. (1973): Malignant theileriosis of sheep and goats. Trop. Anim. Health. Prod 5: 97-102.
13. Hooshmand Rad, P., (1974): Blood protozoan disease of ruminants. Bull. Int. Eoiz. 81:779-792.
14. Jalali, SM., Khaki, Z., Kazemi, B., Rahbari, S., Shayan, P., Bandehpour, M., Yasini, SP. (2014): Molecular Detection and Identification of *Theileria* Species by PCR-RFLP Method in Sheep from Ahvaz, Southern Iran. Iranian. J. Parasitol. 9: 99-106.
15. Kirvar, E., Ilhan, T., Katzer, F., Wilkie, G., HooshmandRAD, P., Brown, D. (1998): Detection of *Theileria lestoquardi (hirci)* in Ticks, Sheep, and Goats Using the Polymerase Chain Reaction a. Ann. N. Y. Acad. Sci. 849: 52-62.
16. Maleki, S. (2002): Case study of *Theileria* contamination in liver of sheep perished and slaughtered in the slaughterhouse of Khorramabad. Journal of the Faculty of Vet. Medicine. Uni. Tehran. 57: 99-101.
17. Mazlum, Z. (1971): Ticks of domestic animals in Iran: geographic distribution, host relation, and seasonal activity. J. Vet. Fac. Uni. Tehran. 27:1–32
18. Navidpour, S. (1996): A study of *Theileria* infection in liver of sheep slaughtered in Ahwaz abattoir. Pajouhesh and Sazandegi 9: 78-81.
19. Rahbari, S., Nabian, S., Shayan, P. (2007). Primary report on distribution of tick fauna in Iran. Parasitol. Res. 101: 175-177.
20. Rahbari, S., Nabian, S., Shayan, P., Sadaghian, M. (2008): A study of *Rhipicephalus* species in Iran. J. Vet. Res. 4: 195-198.
21. Rashidi, A., Razmi, G.R. (2012): Molecular detection of *Theileria* spp. in sheep and vector ticks in the North Khorasan Province, Iran. Trop. Anim. Health. Prod. 45:299–303.
22. Razmi, G.R., Hosseini, M., Aslani, M. (2003): Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran. Vet. Parasitol. 116: 1-6.
23. Razmi, G., Eshrati, H., Rashtibaf, M. (2006): Prevalence of *Theileria* spp. infection in sheep in South Khorasan province, Iran. Vet. Parasitol. 140: 239-243.
24. Razmi, G.R., Pourhosseini, M., Yaghfouri, S., Rashidi, A., Seidabadi, M. (2013): Molecular detection of *Theileria* spp. and *Babesia* spp. in sheep and ixodid ticks from the northeast of Iran. J. parasitol. 99: 77-81.
25. Shayan, P., Rahbari, S. (2005): Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. on stained blood smear using PCR. Parasitol. Res. 97: 281-286.
26. Tahamtan, M.H., Nabian, S., Khodaveisi, M., Ronaghi, H., Sadeghian, A.G. (2013): Study on prevalence of blood parasites of sheep and detection of their vectors using methyl green pyronin in Varamin. Euro. J. Exp. Bio.3:11-15.
27. Telmadarraiy, Z., Oshaghi, M.A., Hosseinivasoukolaei, N., Yaghoobiershadi, M.R., Babamahmoudi, F., Mohtarami, F. (2012): First molecular detection of *Theileria ovis* in *Rhipicephalus sanguineus* tick in Iran. Asian. Pacific. J. Tropical.Medicine. 5: 29–32.
28. Yaghfoori, S., Razmi, G.R., Heidarpour, M. (2013): Molecular detection of *Theileria* spp. in sheep and vector ticks in Fasa and Kazeroun areas, Fars Province, Iran. Archives of Razi Institute 68: 159-164.
29. Zaeemi, M., Haddadzadeh, H.R., Khazraiinia, P., Kazemi, B., Bandehpour, M. (2011): Identification of different *Theileria* species (*Theileria lestoquardi*, *Theileria ovis*, and *Theileria annulata*) in naturally infected sheep using nested PCR–RFLP. Parasitol. Res. 108: 837-843.