شناسایی *تیلریا اویس* درکنه‌های ناقل با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) در استان لرستان

ناصر حقوقی راد[1]، سعید هاشمی[2*]، محمد عبدی گودرزی[3]

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحدعلوم و تحقیقات، استاد دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تهران، ایران.
۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحدعلوم و تحقیقات، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی،گروه پاتوبیولوژی، تهران، ایران.
۳- موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، استادیار گروه انگل شناسی و بیماری‌های انگلی، کرج، ایران.
*نویسنده مسئول مکاتبات: saeedhashemi2000@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۹۱/۱۱/۲ پذیرش نهایی: ۹۲/۸/۱۹)

چکیده

بیماری تیلریوز ناشی از تک‌یاخته داخل سلولی به نام تیلریا است که باعث خسارت اقتصادی به صنعت دامپروری در نقاط مختلف ایران می‌گردد. مطالعه حاضر با هدف شناسایی *تیلریا اویس* در کنه‌های سخت در استان لرستان انجام گردید. ۲٦۵ نمونه کنه از گوش و سطح بدن و ۱۰۰ لام گسترش خونی از ورید گوش گوسفندانی با تاریخچه تب و کم‌خونی از ۵ منطقه مختلف استان لرستان طی فروردین تا مرداد سال ۱۳۹۱ جمع‌آوری شد. استخراج DNA از غدد بزاقی کنه‌ها صورت گرفت و آزمایش PCR با استفاده از یک جفت پرایمر اختصاصی به منظور تکثیر قطعه ژنی به اندازه ۵۲۰ جفت باز متعلق به ژن *SSurRNA تیلریا اویس* انجام شد. بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی، اشکال پیروپلاسمی گونه‌های تیلریا را در ۱۲ مورد (۱۲٪) نشان داد. نتایج PCR نشان داد که ۳۷ نمونه (۲٤/۳٤٪) از کنه‌های *رییپی‌سفالوس سانگوئینوس*، شامل ۲۱ کنه ماده (۱۳/۸۱٪) و ۱٦کنه نر (۱۰/۵۲٪) واجد ژنوم *تیلریا اویس* بودند، در حالی که در سایر کنه‌ها ژنوم این انگل یافت نشد. از کل ۲٦۵ کنه، جنس *رییپی‌سفالوس سانگوئینوس*، بیشترین (۵۷/۳۵٪) و *همافیزالیس پونکتاتا*، کمترین (۳/۰۱٪) میزان فراوانی را نشان داد. با توجه به گسترش وسیع *رییپی‌سفالوس سانگوئینوس* نسبت به سایر کنه‌ها به نظر می‌رسد که این کنه احتمالاً اصلی‌ترین عامل انتقال *تیلریا اویس* در استان لرستان ایران باشد.

مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۱۳۹۲، دوره ۷، شماره ۲، پیاپی ۲٦، صفحات ۱۸۳٤-۱۸۲۸.

کلید واژه‌ها: ایران، لرستان، *تیلریا اویس*، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز

مقدمه

تیلریوز یکی از بیماری‌های رایج و منتقله توسط کنه در نشخوارکنندگان کوچک مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری جهان از جمله ایران است. *تیلریا لستوکاردی* (*Theileria lestocuardi*) (هیرسی) عامل شکل حاد بیماری و گونه‌های اویس، سپراتا و رکوندیتا عوامل تیلریوز تحت حاد در گوسفندان و بزهای اهلی و وحشی می‌باشند (Alani and Herbert, 1988).

کنه‌های سخت خانواده ایکسودیده ناقل گونه‌های تیلریا بوده و اسپروزوئیت انگل را به میزبان‌های پستاندار خود انتقال می‌دهند. مطالعات اخیر نشان می‌دهد که در ایران *تیلریا اویس و لستوکاردی* توسط کنه‌های جنس ریپی‌سفالوس و هیالوما به گوسفند و بز منتقل می‌گردد (Telmadarraiy et al., 2012; Tavassoli et al., 2011; Sparagano et al., 2004)

روش‌های سنتی تشخیص تیلریا در میزبان‌های مهره‌دار بر اساس شکل انگل، خصوصیات میزبان و روش انتقال انگل و در میزبان بی‌مهره بر اساس رنگ‌آمیزی غدد بزاقی کنه با روش‌های رنگ‌آمیزی نظیر فولگن یا متیل گیرین پیرونین است. این روش‌ها غیراختصاصی هستند و در مواردی که تشابه انگلی وجود دارد مانند شباهت مرفولوژیکی آنولاتا و لستوکاردی، با این روش‌ها نمی‌توان گونه‌های انگل را از هم تفکیک کرد (Kirvar et al., 1998). در مقابل این، در سال‌های اخیر روش‌های مولکولی نظیر PCR برای تشخیص تک یاخته‌ها در کنه‌های ناقل بکار گرفته شده است زیرا از حساسیت و ویژگی بالایی نسبت به روش‌های سنتی برخوردارند (Aktas et al., 2006). مطالعات اندکی در زمینه تیلریوز گوسفند در لرستان صورت گرفته است. Maleki در سال ۲۰۰۲ در خرم آباد با بررسی کشتارگاهی کبد ۳۰۰ رأس گوسفند با روش رنگ‌آمیزی گیمسا، میزان شیوع تیلریوز را ۱۰٪ گزارش کرده است (Maleki, 2002). در استان‌های شمالی و شرق ایران، بررسی‌های مشابهی در زمینه تیلریوز گوسفند انجام شده است (Telmadarraiy et al., 2012; Tavassoli et al., 2011)، ولی مطالعه قابل توجهی در مورد کنه‌های ناقل صورت نگرفته است. بنابراین، هدف از این مطالعه شناسایی کنه‌های ناقل تیلریوز تحت حاد در استان لرستان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع آوری کنه و گسترش خونی

در مطالعه حاضر از فروردین تا تیر ماه ۱۳۹۱ مجموعا ۲۶۵ نمونه کنه جمع‌آوری و ۱۰۰ لام گسترش خونی نازک گوش از ۱۳۶ رأس گوسفند از ۵ منطقه دام‌خیز و مختلف لرستان شامل خرم آباد (زاغه)، بروجرد (عربان)، دورود (میدانک و عزیز آباد)، الیگودرز (آبشارسفید) و پلدختر (چم چید) تهیه شد. لام‌های خونی به مدت ۵ دقیقه با متانول فیکس شده و با گیمسای ۵٪ به مدت ٤٠ دقیقه رنگ‌آمیزی گردیده و با میکروسکوپ نوری برای جستجوی اشکال پیروپلاسمی بررسی شدند. نمونه‌های کنه در آزمایشگاه با کلید تشخیص استاندارد (Estrada et al., 2004; Hoogstraal et al., 1985) تعیین جنس و گونه شده بعد توسط قیچی و میکرو اسکالپل از ناحیه اسکوتوم برش داده شده و غده بزاقی کنه‌ها جدا گردید و در میکروتیوب‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتری در دمای ۲۰- درجه سلسیوس برای مراحل بعد نگه‌داری گردید.

استخراج DNA از غدد بزاقی کنه‌ها

در تحقیق حاضر، غدد بزاقی کنه‌های جمع‌آوری شده برای استخراج DNA مورد استفاده قرار گرفت. عملیات استخراج با استفاده از کیت استخراج iNtRON Biotechnology, S.Korea و بر اساس پروتکل شرکت سازنده صورت گرفت، بعد نمونه‌های DNA تا مراحل بعدی آزمایش در دمای انجماد ۲۰- درجه سلسیوس نگه‌داری شد.

آزمایش PCR

در تحقیق حاضر، یک جفت پرایمر با توالی *TSsr170F;5'TCGAGACCTTCGGGT3',TSsr670R;5'TCCGGACATTGTAAAACAAA-3'* برای تکثیر یک قطعه ژنی با اندازه ۵۲۰ جفت باز متعلق به ژن *ssurRNA* ریبوزومی *تیلریا اویس*، بر اساس روش کار Durrani و همکاران (Durrani et al., 2011) کار گرفته شد. ابتدا عملیات PCR روی کنترل مثبت انجام گردید، که با پرایمر پاسخ مناسبی به نمونه‌های مثبت داد. به همین دلیل عملیات PCR بر نمونه‌های DNA کنه با استفاده از پرایمر انجام گرفت. واکنش PCR برای حجم ۲۵ میکرولیتر طراحی شده بود که شامل ۱ میکرولیتر MgCl2، ۰/۵ میکرولیتر dNTP، ۲ میکرولیتر بافر، ۲ میکرولیتر DNA نمونه، Taq آنزیم polymerase DNA ۰/۵ میکرولیتر، ۲ میکرولیتر پرایمر R و ۲ میکرولیتر پرایمر F بود و حجم نمونه با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسانده می‌شد و سپس محلول حاصل تحت برنامه‌ای که در جدول ۱ آورده شده است در دستگاه ترمال سیکلر قرار گرفته و PCR انجام می‌گردید.

جدول ۱- برنامه PCR *تیلریا اویس*

مشخصه	دناتوره شدن اولیه	۴۰چرخه			بسط نهایی
		D	A	E	
دما (سلسیوس)	۹۶	۹٤	٦۰	۷۲	۷۲
زمان (دقیقه)	۳	۰/۵	۰/۵	۲	۱۰

D: Denaturation
A: Annealing و E: Extention

در پایان محصول PCR روی ژل آگاروز ۱ درصد الکتروفورز شده، سپس ژل با اتیدیوم بروماید رنگ‌آمیزی و با دستگاه UV لومیناتور با اشعه UV بررسی و عکسبرداری می‌گردید.

یافته‌ها

میزان فراوانی کنه

از مجموع ۲٦۵ کنه جمع‌آوری شده از ۵ منطقه لرستان پس از شناسایی با کلید تشخیص، جنس *ریپی سفالوس سانگوئینوس* (*Rhipicephalus sanguineus*) با ۱۵۲ مورد (۵۷/۳۵٪) بیشترین و *همافیزالیس پونکتاتا* (*Haemaphysalis punctata*) با ۸ مورد (۳/۰۱٪) کمترین میزان فراوانی را در گوسفندان لرستان نشان داد و در مورد سایر کنه‌ها، *هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم* با ۵۳ مورد (۲۰٪)، *هیالوما آناتولیکوم آسیاتیکوم* با ۲۳ مورد (۸/٦۷٪)، *هیالوما مارژیناتوم* با ۱٦ مورد (٦/۰۳٪) و *ریپی سفالوس بورسا* با ۱۳ مورد (٤/۹۰٪) فراوانی همراه بود.

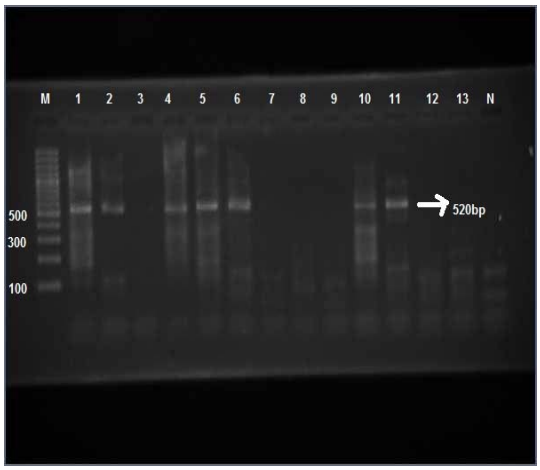
بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی

در بررسی ۱۰۰ لام گسترش نازک خون با میکروسکوپ نوری، اشکال پیروپلاسمی گونه‌های تیلریای موجود در گلبول‌های قرمز، در ۱۲ مورد لام‌ها (۱۲٪) دیده شد.

یافته‌های PCR

در آزمایش PCR با پرایمر اختصاصی به‌کار رفته، از مجموع ۱۵۲ کنه *ریپی سفالوس سانگوئینوس*۳۷ نمونه (۲۲/۳٤٪) شامل ۲۱ کنه ماده (۱۳/۸۱٪) و ۱٦ کنه نر (۱۰/۵۲٪)، واجد ژنوم انگل *تیلریا اویس* به اندازه ۵۲۰ جفت باز بودند ولی در سایر کنه‌ها ژنوم این انگل یافت نشد. در شکل ۱ در روی ژل اندازه باند مذکور نشان داده شده است (شکل ۱).

میزان آلودگی به *تیلریا اویس* در کنه ریپی سفالوس برحسب منطقه در جدول ۲ نشان داده شده است. در بین کنه‌های آلوده، بیشترین میزان آلودگی در الیگودرز ۱٦ مورد (۳۲/٦۵٪) و کمترین میزان آلودگی در بروجرد ۳ مورد (۱۸/۷۵٪) مشاهده گردید.



شکل ۱- تعیین *تیلریا اویس* در کنه‌های ریپی سفالوس: لاین M مارکر 100 bp DNA، لاین ۱ کنترل مثبت *تیلریا اویس* با اندازه ۵۲۰ جفت باز، لاین‌های ۲، ۴، ۵ و۶ کنه *ریپی سفالوس سانگوئینوس* ماده و لاین‌های ۱۰ و ۱۱ *ریپی سفالوس سانگوئینوس* نر و لاین N کنترل منفی است.

جدول ۲- میزان آلودگی کنه‌های جنس ریپی سفالوس به *تیلریا اویس* با روش PCR در گوسفندان لرستان

مناطق نمونه‌گیری شده	*R. sanguineus*				*R.bursa*		
	تعداد کنه	تعداد کنه‌های آلوده (٪)	کنه ماده آلوده (٪)	کنه نر آلوده (٪)	تعداد کنه	کنه ماده آلوده (٪)	کنه نر آلوده (٪)
الیگودرز (آبشار سفید)	٤۹	۱٦(۳۲/٦۵)	۲۰/٤۰	۱۲/۲٤	۱۰	۰	۰
دو رود (میدانک و عزیز آباد)	۳۲	۷ (۲۱/۸۷)	۹/۳۷	۱۲/۵۰	۳	۰	۰
بروجرد (عربان)	۱٦	۳ (۱۸/۷۵)	۱۲/۵۰	٦/۲۵	۰	۰	۰
خرم آباد (زاغه)	۳٦	۷ (۱۹/٤٤)	۱۱/۱۱	۸/۳۳	۰	۰	۰
پلدختر (چم چید)	۱۹	٤ (۲۱/۰٤)	۱۰/۵۲	۱۰/۵۲	۰	۰	۰
جمع	۱۵۲	۳۷ (۲٤/۳٤)	۲۳/۰۷	۲٦/۲۲	۱۳	۰	۰

بحث و نتیجه‌گیری

تیلریوز تحت بالینی یک بیماری انگلی منتقله توسط کنه‌های سخت در نشخوارکنندگان کوچک ایران و لرستان در فصول گرماست. شناسایی کنه‌های ناقل تیلریا و میزان شیوع و پراکندگی آنها در تعیین اپیدمیولوژی تیلریوز بسیار حیاتی است (Alani and Herbert, 1988). در لرستان به خاطر تفاوت آب و هوایی زیاد در نقاط مختلف آن، میزان شیوع و پراکندگی کنه‌های سخت بسیار متفاوت است و مطالعات قابل توجهی در رابطه با ناقل بودن این کنه‌ها در این استان صورت نگرفته است. لذا مطالعه حاضر اولین گزارش در رابطه با نقش کنه‌های ایکسودیده در انتقال گونه‌های تیلریوز نشخوارکنندگان کوچک در نقاط مختلف این استان می‌باشد در این بررسی با پرایمرهای اختصاصی، قطعه ژن با اندازه ۵۲۰ جفت باز تکثیر داده شد و مشخص شد *ریپی سفالوس سانگوئینوس* بیشترین آلودگی را به *تیلریا اویس* در لرستان دارد. مطالعات مشابهی در ایران و جهان صورت گرفته. در مازندران Telmadarraiy و همکاران *ریپی سفالوس سانگوئینوس* را مهمترین ناقل *تیلریا اویس* در گوسفندان شمال بیان کرده است ولی میزان آلودگی آنها ۵۵٪ بوده که حاکی از تفاوت آب و هوای آنجا با لرستان است. Razmi و همکاران با روش PCR بر نمونه‌های خون گوسفند، میزان آلودگی به گونه‌های تیلریا در گوسفندان جنوب خراسان را ۱۱/۹٪ نشان داده و بیش از ۵۰ درصد کنه‌ها *ریپی سفالوس سانگوئینوس* بوده است (Razmi et al., 2006). گرچه در مطالعه حاضر میزان آلودگی کنه مذکور به این انگل در لرستان کمتر از خراسان است ولی این ممکن است به خاطر تفاوت آب و هوایی این دو منطقه از کشور باشد. همین‌طور HeidarpourBami وهمکاران با روش PCR میزان شیوع *تیلریا اویس* در گوسفندان را ۴۰/۲٪ گزارش داده است (HeidarpourBami et al., 2010). Razmi و همکاران با روش رنگ‌آمیزی غدد بزاقی کنه *ریپی سفالوس سانگوئینوس* با فولگن میزان آلودگی این کنه به *تیلریا اویس* را ٤٪ نشان داده است. بنابراین روش مولکولی بیشترین حساسیت در تشخیص و تفکیک گونه‌های انگل را دارد (Razmi et al., 2003). Abdigoudarzi با روشی مشابه تحقیق حاضر ولی با پرایمرهای اختصاصی دیگر، نشان داده که کنه *هیالوما آناتولیکوم آناتولیکوم* جمع‌آوری شده از فارس، و کنه *هیالوما دتریتوم* (H. detritum) از آب باریکه الیگودرز، ناقل *تیلریا لستوکاردی* است (Abdigoudarzi, 2013). به هر حال در ایران چنین مطالعاتی اندک و بیشتر بر روی نمونه‌های خون دام انجام شده و کمتر به کنه‌های ناقل توجه شده است. در ترکیه Aktas و همکاران با پرایمرهای مشابه تحقیق ما *ریپی سفالوس بورسا* را مهمترین ناقل تیلریوز تحت کلینیکی در ترکیه معرفی کرده است (Aktas et al., 2005). در پاکستان Durrani با پرایمرهای مشابه تحقیق حاضر *ریپی سفالوس سانگوئینوس* را مهمترین ناقل تیلریوز تحت کلینیکی گزارش داده است. گرچه درصد آلودگی کنه‌های مذکور در پاکستان نسبت به نتایج ما بیشتر است ولی روش کار مشابهی با ما داشت (Durrani et al., 2011). به هر حال در اکثر این مطالعات کنه *ریپی سفالوس سانگوئینوس* به عنوان ناقل اصلی تیلریوز تحت حاد در نقاط مختلف ایران و خاور میانه معرفی شده که با نتایج ما هم‌خوانی دارد.

سپاسگزاری

نویسندگان از آقای دکتر کریمی رئیس بخش انگل شناسی و بیماری‌های انگلی موسسه سرم‌سازی رازی کرج و مهندس جنگجو کارشناس آزمایشگاه مولکولی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران به خاطر همکاری در اجرای این تحقیق، کمال تشکر را دارند.

منابع

- Abdigoudarzi, M. (2013). Detection of Naturally Infected Vector Ticks (Acari: Ixodidae) by Different Species of *Babesia* and *Theileria* Agents from Three Different Enzootic Parts of Iran. Journal of Arthropod-Borne Disease [In Press].
- Alani, A.J. and Herbert, I.V. (1988). pathogenesis of infection with *theileriarecondita* isolated from *Haemaphysalispunctate* from NorthWales. Veterinary Parasitology, 4: 293-301.
- Aktas, M., Altay, K. and Dumanli, N. (2005). Survey of *Theileria* parasites of sheep in eastern Turkey using polymerase chain reaction. Small Ruminant Research, 60: 289–293.
- Aktas, M., Altay, K. and Dumanli, N. (2006). PCR-based detection of *Theileriaovis* in *Rhipicephalusbursa* adult ticks. Veterinary Parasitology, 140: 259-263.
- Durrani, A.Z., Younus, M., Kamal, N., Mehmood, N. and Shakoori, A.R. (2011). Prevalence of *ovine Theileria* species in District Lahore, Pakistan. Pakistan Journal of Zoology, 43(1): 57-60.
- Estrada-Pena, A., Bouattour, A., Cam-icas, J.L. and Walker, A.R. (2004). Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region. 1st ed. University of Zaragoza, Spain, pp.131.
- Hashemi-Fesharaki, R. (1997). Tick-borne disease of sheep and goats and their related vectors in Iran. Parassitologia, 39: 115-117.
- Hoogstraal, H. and Wassef, Y.H. (1985). Hyalmomaanaolicuman Indian Pakistani cattle tick parasitizing bovine in Oman. Veterinary Parasitology, 71(1): 129-130.
- HeidarpourBami, M., Khazraiinia, P., Haddadzadeh, H. and Kazemi, B. (2010). Identification of *Theileria* species in sheep in the eastern half of Iran using nested PCR-RFLP and microscopic techniques. Iranian Journal of Veterinary Research, 11(3): 262-266.
- Kirvar, E., Iihan, T., Katzer, F., Wilkie, G., Hooshmand-Rad, P. and Brown, C.G.D. (1998). Detection of *Theilerialestoquardi* (hirci) in ticks, sheep, goats using polymerase chain reaction. Annals of the New York Academy of Sciences, 894: 52-62.
- Maleki, S.H. (2002). Case study of *Theileria* contamination in liver of disease sheep perished and slaughtered in the slaughter house of khorramabad. Journal of Veterinary Research, 57(1): 97-99.
- Rahbari, S., Nabian, S. and Shayan, P. (2007). Primary report on distribution of tick fauna in Iran. Parasitology Research, 101(2): 175-177.
- Razmi, G.R., Eshrati, H. and Rashtibaf, M. (2006). Prevalence of *Theileriaspp* infection in sheep in South Khorasan province, Iran. Veterinary Parasitology, 140(3-4): 239-243.
- Razmi, G.R., Hosseini, M. and Aslani, M.R. (2003). Identification of tick vectors of ovine theileriosis in an endemic region of Iran. Veterinary Parasitol, 116: 1-6.
- Telmadarraiy, Z., Oshaghi, M.A., HosseiniVasoukolaei, N., YaghoobiErshadi, M.R., Babamahmoudi, F. and Mohtarami, F. (2012). First molecular detection of *Theileriaovis* in *Rhipicephalussanguineus* tick in Iran. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine, 4: 29-32.
- Tavassoli, M., Tabatabaei, M., Esmaeil Nejad, B., Tabatabaei, M.H., Najabadi, A. and Pourseyed, S.H. (2011). Detection of *Theileria annulata* by the PCR-RFLP in ticks (Acari, Ixodidae) collected from cattle in West and North-West Iran. Acta parasitologica, 56(1): 8-13.

- Sparagano, O., Spitalska, E., Namavari, M.M., Hosseini, M.H., Shad-de, F., Seghatolesla, F. and Amabadi, O.R. (2004). Screeningtick-borne diseasesin sheep. Epidémiologieet Sante Animale, 45: 73-75.

Detection of *Theileriaovis* in vector ticks by Polymerase Chain Reaction method (PCR) in Lorestan province

Hoghooghi-Rad, N.[1], Hashemi, S.[2*], Abdigoudarzi, M.[3]

1-Department of Pathobiology, Faculty of Specialized Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
2- Department of Pathobiology, School of Specialized Sciences of Veterinary Medicine, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.
3-Department of Parasitology, Razi Vaccine and Serum Research Institute, Karaj, Iran.
[*] Corresponding author email: saeedhashemi2000@yahoo.com
(Received: 2013/1/21 Accepted: 2013/11/10)

Abstract

Theileriosis is caused by an intracellular protozoan that causes great economical losses to animal husbandry in different regions of Iran . The present study was done in order to identify of *Theileriaovis* in hard ticks in Lorestanprovince . Amongst five different regions in Lorestan, and during the April-to-july period of the year 2012, 265 cases of hard ticks were collected from the ear and the body surface and 100 blood smears from ear veins of anemic and feverish sheep. DNA extraction was done from the salivary glands of collected ticks and PCR test was performed using a pair of 520 bp specific primer of SSurRNA gene of *T. ovis* . The microscopic examinations of blood smears showed that 12 samples of blood smears (12 %) contained the piroplasmic forms of *Theileria*spcies. The PCR revealed that 37 out of 152 *Rhipicephalussanguineus* (24/34 %) were positive for *T. ovis*genum including 21 female (13/81%) and 16 male (10/52%) ticks while the other ticks were not infected by this parasite. Out of total of 265 tick samples, *R.sanguineus* was highest (38.35%) and *Haemaphysalispunctata*had the lowest (3/01%) frequencies. Regarding the vast distribution of *R.sanguineus* in the area, it seems that this tick may be the main vector of *T.ovis* in Lorestan province, Iran.

Key words: Iran, Lorestan, Theileriaovis, Polymerase Chain Reaction