مقاله تحقیقی

مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۹۴، دوره ۷۰، شماره ۱، ۵-۱

Original Article

Journal of Veterinary Research. 70,1:1-5, 2015

شناسایی کنه‌ها و گونه‌های تیلریا و بابزیا در بزها با دو روش بیولوژی ملکولی و گسترش خونی: مطالعه استانی در شهرستان مشهد

مجید خداوردی ازغندی[۱] غلامرضا رزمی[۲*]

۱) دانش آموخته، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران

۲) گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد- ایران

(دریافت مقاله: ۲۴ آبان ماه ۱۳۹۳، پذیرش نهایی: ۲۰ دی ماه ۱۳۹۳)

چکیده

زمینه مطالعه: بابزیوز و تیلریوز از بیماریهای مهم انگلی تک یاخته‌ای هستند که توسط کنه‌های سخت منتقل شده و باعث بروز زیان‌های اقتصادی در صنعت دامپروری می‌گردند. **هدف:** این مطالعه با هدف شناسایی مولکولی آلودگی بابزیا و تیلریا در بزها و کنه‌های ناقل در شهرستان مشهد انجام گرفت. **روش کار:** ۱۰۰ نمونه خون بز و همچنین تعداد ۲۴۹ کنه سخت از گله‌های با تاریخچه آلودگی به پیروپلاسموز، جمع‌آوری شدند. نمونه‌ها در شرایط سرد به آزمایشگاه منتقل گردید. از نمونه‌های خون گسترش تهیه شده و با گیمسا رنگ‌آمیزی گردید و با میکروسکوپ نوری مورد آزمایش قرار گرفتند. کنه‌ها با استفاده از کلیدهای تشخیص موجود شناسایی شدند. کنه‌ها بر حسب جنس وگونه و جنسیت به مجموعه‌های ۵ تایی تقسیم گردید. نمونه‌های خون؛ غدد بزاقی و تخمدان کنه‌ها . با استفاده از پرایمرهای اختصاصی دو تک یاخته تیلریا و بابزیا مورد آزمایش PCR قرار گرفتند. **نتایج:** در این مطالعه، در بررسی میکروسکوپی گسترش های خونی، هیچگونه نمونه مشکوک به اجرام پیروپلاسمایی مشاهده نشد. از مجموع ۲۴۶ کنه به ترتیب ریپی سفالوس تورانیکوس ۱۲۷ (۵۱/۶٪)، درماسنتور مارژیناتوس ۶۷ (۲۷/۲٪)، هیالوما مارژیناتوم ۴۴ (۱۷/۹٪)، ریپی سفالوس سنگوئینوس ۴ (۱/۶٪)، هیالوما آناتولیکوم ۲ (۰/۸٪)، هیالوما آسیاتیکوم ۱ (۰/۴٪)، همافیزالیس سولکاتا ۱ (۰/۴٪) شناسایی شدند. کنه غالب در منطقه ریپی سفالوس تورانیکوس تشخیص داده شد. نتایج آزمایشات ملکولی نشان دهنده عدم آلودگی همه نمونه‌های خون بز به تیلریا و بابزیا بودند. تنها در غدد بزاقی کنه هیالوما مارژیناتوم آلودگی به تیلریا تشخیص داده شد. **نتیجه‌گیری نهایی:** بر اساس نتایج میکروسکوپی و ملکولی هیچگونه آلودگی تیلریایی و بابزیایی در بزهای شهرستان مشهد بدست نیامد. همچنین در این مطالعه کنه ریپی سفالوس تورانیکوس کنه غالب آلوده کننده در بزهای این شهرستان بود. نتایج ملکولی فقط آلودگی غدد بزاقی هیالوما مارژیناتوم را به تیلریا تأیید نمود.

واژه‌های کلیدی: بابزیا، بز، شناسایی ملکولی، تیلریا

مقدمه

دو بیماری تیلریوز و بابزیوز در اغلب نواحی ایران در بین نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ شایع بوده و تعدادی از کنه‌های سخت بعنوان ناقلین اصلی مطرح هستند(۲،۵). بیماریهای مزبور با علائم تب بی اشتهایی، ضعف، کم خونی در نشخوارکنندگان همراه است. زردی و هموگلبینوری کمتر در بزها رخ می‌دهد. تورم غدد لنفاوی یکی از علائم بارز تیلریوز است. درجات مرگ و میر و واگیری می تواند بالا باشد (۱۷). دوگونه اصلی بابزیا اویس و بابزیا موتازی در گوسفند، باعث آلودگی بزها می‌گردند. بابزیا کراسا در ایران و بعضی کشورها از جمله ترکیه گزارش شده که عفونت زا است اما احتمالاً برای بزها غیر بیماریزا می‌باشد (۴). بابزیا تیلوری از هند گزارش شده که برای بزها بیماریزا است (۱۷). گونه‌های بابزیا اویس و بابزیا موتازی از گونه های بیماریزا و شایع گوسفند و بز ایران است (۴،۹،۱۱).

تیلریوز در بزها کمتر مورد مطالعه قرار گرفته است و بیشتر تحقیقات درباره تیلریوز در گوسفند انجام شده است. آلودگی بزها با گونه‌های تیلریا نشخوارکنندگان کوچک کمتر معمول بوده و بزها نسبت به بعضی گونه‌های بیماریزا در گوسفند مقاوم هستند (۲،۱۷،۱۸). گونه‌های بیماریزا در گوسفند و بز شامل تیلریا گونه چین، تیلریا لستوکاردی (هیرسی) و گونه‌های غیر بیماریزا شامل تیلریا سپراتا، تیلریا اویس است. در ایران دو گونه تیلریا اویس و تیلریا لستوکاردی (تیلریا هیرسی) در گوسفند گزارش شده است. عفونت به تیلریا لستوکاردی بیماری شدیدی در گوسفند ایجاد نموده به طوری که میزان واگیری و تلفات خیلی بالا می‌باشد اما عفونت با تیلریا اویس تنها ممکن است باعث کاهش تولید فراورده‌های دامی شود (۱۷،۱۸).

در ایران وجود بیماریهای تیلریوز و بابزیوز در بز بر مبنای مشاهدات درمانگاهی توسط دامپزشکان جای تردید دارد و نیازمند اطلاعات دقیق اپیدمیولوژیک در خصوص وضعیت این بیماریها در بز می‌باشد. پرورش بز در نواحی گرم و خشک و کوهستانی استان خراسان از اهمیت بالایی برخوردار است و بطور تقریبی جمعیت بزها حدود یک چهارم جمعیت گوسفندان استان بوده و در کنار گوسفندان در گله داشتی نگهداری می‌شوند. بدلیل نحوه نگهداری، بیماریهای عفونی از جمله بابزیوز و تیلریوز به راحتی بین این دو جمعیت همزمان انتشار می‌یابد به طوری که کنترل و پیشگیری بیماریهای عفونی شایع بین این دو دام بدون اطلاع دقیق از میزان شیوع و بروز بیماری در هر دو جمعیت امکان پذیر نیست. از

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۰۵۱-۳۸۷۶۳۸۵۱ نمابر: ۰۵۱-۳۸۷۶۳۸۵۲ Email: razmi@um.ac.ir

آنجائی که تاکنون مطالعات بسیار اندکی در خصوص بابزیوز و تیلریوز در بزهای ایران از جمله خراسان صورت گرفته است در این مطالعه سعی گردید آلودگی به بابزیا و تیلریا در بزها و کنه‌های ناقل در شهرستان مشهد با روش مولکولی مورد شناسایی قرار گیرد تا براساس این اطلاعات بتوان برنامه ریزی صحیح در جهت کنترل و پیشگیری بابزیوز و تیلریوز در گوسفند و بز در شهرستان مشهد انجام داد.

مواد و روش کار

با استناد به آمار دامی اداره دامپزشکی خراسان رضوی، جمعیت بز شهرستان مشهد به تعداد ۳۲۲۷۵ رأس می‌باشد. در این مطالعه نمونه برداری از بزها از چهار منطقه جغرافیایی شامل منطقه کارده در شمال، منطقه میامی و جاده سرخس در شرق، ابارشک و جاده نیشابور در جنوب غرب و آبقد و گوارشک در غرب شهرستان مشهد، از اول خرداد تا پایان تیر همزمان با اوج پارازیتمی این بیماریها به مدت دو ماه، از ۱۳ گله دارای سابقه رخداد بیماری در گوسفندان، با توجه به کانون‌های بیماری مورد تأیید اداره دامپزشکی و تأیید دامداران در بروز همه ساله بیماری در گله‌ها، نمونه برداری انجام گرفت. ابتدا بزها از نظر حضور علائم بالینی این دو بیماری مورد معاینه قرار گرفته و پس از ثبت اطلاعات مورد نیاز، خونگیری از ورید وداج انجام شد و ۳cc خون اخذ و به لوله حاوی EDTA منتقل گردید. همزمان از خون ورید مارژینال گوش نیز گسترش نازک تهیه گردید. در مجموع از مناطق مختلف شهرستان تعداد ۱۰۰ نمونه خون جمع آوری شد. بلافاصله بعد از خونگیری، با بازرسی تمامی قسمت‌های بدن هر بز، کنه‌های موجود از روی دام خونگیری شده، عمدتاً از زیر دم و اطراف شاخ، برداشت شده و تعداد ۲۴۶ کنه از بزها جمع آوری شد. نمونه‌های خون و کنه در یخدان قرار گرفتند و به آزمایشگاه دانشکده دامپزشکی انتقال داده شد و آنگاه نمونه‌های خون در فریزر با دمای ۲۰- تا زمان انجام آزمایشات نگهداری گردید. گسترش‌های خونی تهیه شده پس از انتقال به آزمایشگاه رنگ آمیزی شده و با عدسی روغنی میکروسکوپ نوری، ۳۰ شان میکروسکوپی از هر گسترش مورد بررسی قرار گرفت. تعداد کنه‌های هر گله به تفکیک نر و ماده شمارش گردید و سپس جنس و گونه کنه‌های جمع آوری شده با استفاده از کلیدهای تشخیص کنه‌های سخت شناسایی گردید (۱۹). کنه‌های شناسایی شده بر حسب جنس و گونه، به مجموعه‌های ۵ تایی تقسیم شدند و غدد بزاقی و تخمدان کنه‌های جمع آوری شده با استفاده ابزار حشره شناسی و لوپ آزمایشگاهی خارج گردید. در مجموع ۴۸ مجموعه غده بزاقی و تخمدان جمع آوری و تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- نگهداری گردید.

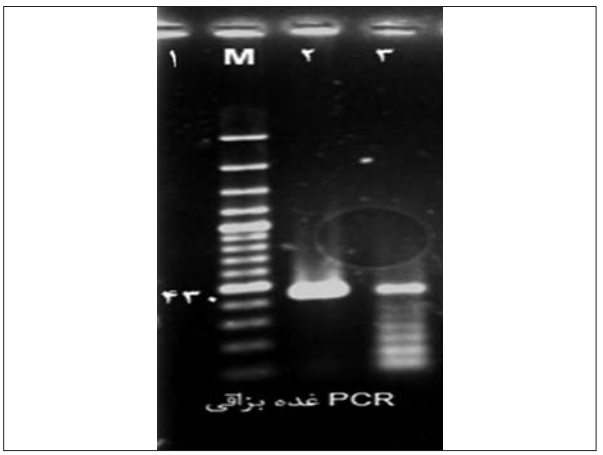
DNA نمونه‌های خون در EDTA و غدد بزاقی و تخمدان‌های استخراج شده کنه‌ها با استفاده از کیت تجاری (شرکت سیناژن -تهران) مطابق دستور العمل کیت، مورد استخراج قرار گرفتند. نمونه‌های DNA استخراج شده با روش Semi nested-PCR با روش شایان و رهبری مورد آزمایش قرار گرفتند (۱۶). در مرحله اول این روش، با استفاده پرایمرهای یونیورسال برگرفته از ژن 18 S RNA با توالی (F) 5'-CACAGGGAGGTAGTGACAAG-3' و (R) 3'-AAGAATTTCACCTCTGACAG-5' آلودگی نمونه‌ها به جنس تیلریا و بابزیا تعیین گردید. محصول PCR مربوط به بابزیا بر روی ژل آگاروز ۱/۷٪، باندی با سایز ۴۰۲-۳۸۹ جفت باز و در محصول PCR مربوط به تیلریا باندی با سایز ۴۳۰-۴۲۶ جفت باز را تشکیل می‌دهند. در مرحله دوم محصول PCR نمونه‌های مثبت تیلریا با پرایمرهای اختصاصی مربوط به تیلریا لستوکاردی به توالی (F) 5'-ATTGCTTGTGTCCCTCCG-3' و 3'-AAGAATTTCACCTCTGACAG-5' (R) و تیلریا اویس به توالی (F) 5'-TTGCTTTTGCTCCTTTACGAG-3' و 3'-AAGAATTTCACCTCTGACAG-5' (R) و نمونه‌های مثبت بابزیا یا پرایمرهای اختصاصی بابزیا اویس به توالی (F) 5'-GTCTGCGCGCGGCCTTTGCG-3' و (R) 3'-AAGAATTTCACCTCTGACAG-5' و بابزیا موتازی به توالی (F) 5'-CGCGATTCCGTTATTGGAG-3' و (R) 3'-AAGAATTTCACCTCTGACAG-5' مورد آزمایش قرار گرفتند. در آزمایش PCR از (PCR PreMix تولید شرکت BIO NEER) استفاده شد. به هر لوله ۱μL از هر کدام از پرایمرها، ۱μL از DNA و در انتها ۱۷μL آب مقطر اضافه شد تا حجم نهایی به ۲۰μL رسید. برنامه Semi nested PCR در دو مرحله یکسان بود و روی دستگاه ترموسیکلر (Bio Rad Mj-Mini) به شرح ذیل تنظیم گردید: واسرشت اولیه به مدت ۵ دقیقه در $95^{o}C$، سپس ۳۵ چرخه حرارتی طبق برنامه‌ای شامل ۴۵ ثانیه واسرشت در $95^{o}C$، اتصال پرایمرها به الگو به مدت ۴۵ ثانیه در $56^{o}C$ و تکثیر به مدت ۴۵ ثانیه در $72^{o}C$ و آخرین چرخه ۱۰ دقیقه در $72^{o}C$ بود. در هر آزمایش PCR حداقل یک تیوب واجد خون غیر آلوده به عنوان کنترل منفی و خون آلوده به عنوان کنترل مثبت استفاده گردید.

نتایج

در بررسی میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ آمیزی شده، از ۱۰۰ نمونه خونی اخذ شده در هیچیک از نمونه‌ها، آلودگی به پیروپلاسم مشاهده نشد. از مجموع ۲۴۶ کنه جمع آوری شده به ترتیب کنه‌های ریپی سفالوس تورانیکوس و درماسنتور مارژیناتوس و هیالوما مارژیناتوم دارای بیشترین فراوانی بودند (جدول ۱). با انجام آزمایش PCR-Seminested نمونه‌های خون بز، هیچگونه آلودگی بابزیایی و تیلریایی در بزها مشاهده نگردید. نتایج مولکولی انجام شده روی نمونه‌های DNA استخراج شده از غدد بزاقی و تخمدان‌های کنه‌های جمع‌آوری شده از بزهای خونگیری شده، مؤید یک مورد آلودگی به تیلریا (جنس) در غدد بزاقی کنه هیالوما مارژیناتوم در مرحله اول آزمایش Seminested-PCR بود (تصویر ۱). نتیجه این نمونه در مرحله دوم آزمایش با استفاده از

جدول ۱. فراوانی کنه‌های جمع آوری شده از بزهای شهرستان مشهد.

جنس وگونه کنه	نر	ماده	جمع	درصد فراوانی
ر پی سفالولوس تورانیکوس	۵۶	۷۱	۱۲۷	۵۱/۶
درماسنتور مارژیناتوس	۳۲	۳۵	۶۷	۲۷/۲
هیالوما مارژیناتوم	۲۰	۲۴	۴۴	۱۷/۹
ر پی سفالوس سینگوینوس	۴	۰	۴	۱/۶
هیالوما آناتولیکم	۲	۰	۲	۰/۸
هیالوما آسیاتیکم	۱	۰	۱	۰/۴
همافیزالیس سولکاتا	۱	۰	۱	۰/۴
جمع	۱۱۶	۱۳۰	۱۴۶	۱۰۰



تصویر ۱. نتایج آزمایش مرحله اول Seminested-PCR غدد بزاقی کنه‌های جمع آوری شده از جمعیت بزی شهرستان مشهد. ستون ۱: کنترل منفی، ستون M: مارکر، ستون ۲: کنترل مثبت (واجد محصول ۴۳۰ جفت باز)، ستون ۳: نمونه مثبت.

پرایمرهای اختصاصی تیلریا اویس و لستوکاردی منفی بودند.

بحث

تاکنون مطالعات بسیار اندکی در خصوص بابزیوز و تیلریوز در بزها صورت گرفته در صورتیکه مطالعات نسبتاً زیادی در گوسفند انجام یافته که همگی حکایت از آلودگی بابزیایی و تیلریایی در گوسفند دارند (۶،۱۰،۱۳،۱۴،۱۵،۲۰) و بیشتر نتایج حاصله از تحقیقات این بیماریها در گوسفندان به بزها تعمیم داده شده است.

در این بررسی در ارزیابی میکروسکوپی گسترش‌های خونی رنگ آمیزی شده هیچگونه آلودگی به پیروپلاسم‌ها مشاهده نشد، همچنین همه نمونه‌ها در آزمایش PCR نیز منفی بودند. تاکنون مطالعات معدودی درباره این بیماریها در بزهای ایران انجام شده است. در مطالعه انجام شده در سال ۱۳۷۵ در شهرستان مشهد، میزان آلودگی بابزیا در ۳۸۵ بز نمونه برداری شده ۱۴/۸٪ گزارش شد که از این میزان ۱۴٪ آلوده به بابزیا اویس و ۰/۵٪ آلوده به بابزیا موتازی بود (۱۲). در این مطالعه تعیین گونه‌های بابزیا صرفاً بر مبنای مشاهدات میکروسکوپیک بوده است. در مطالعه دیگری در استان مازندران، برمبنای مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خونی تهیه شده، میانگین آلودگی بزها به بابزیا، ۲۲/۲۷٪ تعیین گردید (۱۵). در مطالعه دیگری پس از نمونه برداری از ۷۱۵ گوسفند و بز کوچ رو در اصفهان طی دو سال، میزان آلودگی گوسفندها و بزها به بابزیا به ترتیب ۲۱/۲۶٪ و ۶/۱۵٪ گزارش گردید (۸). مقایسه نتایج این مطالعات با نتایج مطالعه حاضر مبنی بر عدم مشاهده آلودگی بابزیا در بز واجد تفاوت بسیار فاحشی است که نیاز به مطالعه بیشتر دارد.

تاکنون مطالعه میکروسکوپی و ملکولی در خصوص آلودگی تیلریایی در بزهای ایران انجام نشده است. به همین دلیل امکان مقایسه آن با مطالعات مشابه وجود نداشت. در حالیکه در کشور ترکیه میزان آلودگی تیلریایی در بز با روش میکروسکوپی طی دو مطالعه ۲/۸۸٪ تا ۵/۶۲٪ و با روش مولکولی ۱۱/۲٪ تعیین شد و در همین مطالعات با روش ملکولی، میزان آلودگی بزها به بابزیا اویس ۰/۷٪ و میزان آلودگی به تیلریا اویس ۹/۹٪ گزارش گردید (۱،۳). همچنین میزان آلودگی تیلریایی در بزهای پاکستان با روش میکروسکوپی ۳/۸٪ گزارش شده است (۷).

در مطالعه حاضر فون کنه‌ای بزهای نمونه برداری شده مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج بدست آمده نشان دهنده آلودگی بالای بزها به ریپی سفالوس تورانیکوس، درماسنتور مارژیناتوس و هیالوما مارژیناتوم بودند. نتایج بدست آمده با نتایج مطالعات انجام شده در شهرستان مشهد که سه گونه ریپی سفالوس سنگوئنوس، هیالوما مارژیناتوم و درماسنتور بعنوان کنه‌های غالب در نشخوارکنندگان کوچک مشهد گزارش گردیدند (۱۱،۱۲) تاحدودی مشابه است، اگرچه در مطالعه حاضر کنه غالب ریپی سفالوس تورانیکوس می‌باشد.

در این مطالعه فقط در غدد بزاقی کنه هیالوما مارژیناتوم آلودگی به جنس تیلریا تعیین گردید. با توجه به عدم واکنش مثبت نسبت به پرایمرهای اختصاصی گونه‌های تیلریا گوسفند، این کنه در مراحل قبلی زندگی خود آلوده به گونه‌ای از تیلریا مربوط به میزبان دیگر شده است. در یک مطالعه مولکولی که اخیراً روی کنه‌های ناقل تیلریا و بابزیا در گوسفندان استان خراسان انجام شد، کنه ریپی سفالوس تورانیکوس و کنه هیالوما مارژیناتوم بعنوان ناقلین تیلریا در گوسفندان مورد تأیید قرار گرفته است (۱۰). از آنجائیکه شناسایی گونه‌ها و ناقلین بیماری بابزیوز و تیلریوز در بزها به روش مولکولی برای اولین بار در این استان صورت گرفته است پیشنهاد می‌گردد مطالعات مشابهی با استفاده از روش‌های مولکولی در مناطق مختلف استان خراسان رضوی و ایران برای مقایسه با نتایج بدست آمده در این مطالعه صورت گیرد.

تشکر و قدردانی

از کارشناسان بخش انگل شناسی آقایان آذری و عشرتی که در عملیات آزمایشگاهی پروژه کمک ارزنده‌ای نمودند، تشکر می‌گردد.

References

1. Altay, K., Aktas, M., Dumanli,N. (2007) Theileria infections in small ruminants in the east and southeast Anatolia. Türkiye Parazitol Derg. 31: 268-271.
2. Anwar, M. (1974) Geographical distribution of bloodprotozoan parasites of ruminants in Iran. Bull Off Int Epizoot. 81: 793-798.
3. Fahri, S., Serpil, N., Bayram, A.Y., Ayse, C., Zafer, K. (2009) Epidemiological studies on sheep and goat theileria infection Ankara. Kafkas Univ Vet Fak Derg. 56: 127-129.
4. Hashemi- Fesharaki, R., Uilenberg, G. (1981) *Babesia crassa* n.sp. (*Sporozoa, Babesiidae*) of domestic sheep in Iran. Vet Q. 3: 1-8.
5. Hashemi-Fesharaki, R. (1997) Tick-borne disease of sheep and goats and their related vectors in Iran. Parasitology. 39: 115- 117.
6. Heidarpour-Bami, M., Haddadzadeh, H.R., Kazemi, B., Khazraiinia, P., Bandehpour, M., Aktas, M. (2009) Molecular identification of ovine *Theileria* species by a new PCR-RFLP method. Vet Parasitol. 161: 171-177.
7. Nausheen, I., Qayyum, M., Hussain, M., Qasim Khan, M. (2010) Prevalence of tick infestation and theileriosis in sheep and goat. Pak Vet J. 30: 178.
8. Noaman, V., Jahangirnezhad, A.A., Nabinezhad, A.A.R. (2005) A study on prevalence and identification of *Babesia* spp. in immigrant sheep & goats and nomadic people of isfahan province. Pajouhesh va Sazandegi. (In Persian). 18: 35-41.
9. Ranjbar-Bahadori, S., Eckert, B., Omidian, Z., Shirazi, N.S., Shayan, P. (2011) *Babesia ovis* as the main causative agent of sheep babesiosis in Iran. Parasitol Res. 110: 1531.
10. 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.
11. Razmi, G.R., Naghibi, A., Aslani, M., Fathivand, M., Dastjerdi, K. (2002) An Epidemiological study on ovine babesiosis in the mashhad suburb area, province of khorasan, Iran. Vet Parasitol. 108: 109-15.
12. Razmi, G.R., Naghibi, A., Aslani, M.R., Dastjerdi,K., Hossieni, H. (2003) An epidemiological study on Babesia infection in small ruminants in Mashhad suburb, Khorasan Province, Iran. Small Rumin Res. 50: 39-44.
13. Razmi, G.R., Eshrati, H., Rashtibaf, M. (2006) Prevalence of *Theileria* spp. infection in sheep in South Khorasan province, Iran. Vet Parasitol. 140: 239-43.
14. Sadeghi Dehkordi, Z., Zakeri. S., Nabian, S., Bahonar, A., Ghasemi, F., Noorollahi, F. (2010) Molecularand biomorphometrical identification of ovine babesiosis in Iran. Iran J Parasitol. 5: 21-30.
15. Ziapour, P., Esfandiari, B., Youssefi, M.R. (2008) Study of the prevalence of babesiosis in domesticated animals with suspected signs in Mazandaran province, North of Iran, During 2008. J Anim Vet Adv. 10: 712-714.
16. Shayan, P., Rahbari, S. (2005) Simultaneous differentiation between *Theileria* spp. and *Babesia* spp. On stained blood smear using PCR. Parasitol Res. 97: 281-286.
17. Soulsby, E.J.L. (1982) Helminths Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals. London: Baillier Tindall and Cassel Ltd. London, UK.
18. Smith, M.C., Sherman, D.M. (2009) Goat Medicine. (2nd ed.) Wiley-Blackwell. Iowa. New York, USA.
19. Walker, A., Camicas, J., Bouattour, A., Estrada-pana, A. (2004) Ticks of Domestic Animals in the Mediterranean Region. (1st ed.) University of Zaragosa Press.Zaragosa, Spain.
20. Zaeemi, M., Haddadzadeh, H., 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: 837-43.

Identification of *Babesia* and *Theileria* species in goats and ticks with smear observation and molecular examination in Mashhad, Khorasan Razavi province, Iran

Khodaverdi Azghandi, M.[1], Razmi, Gh.R.[2*]

[1]*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad-Iran*

[2]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad-Iran*

(Received 15 November 2014, Accepted 10 January 2015)

Abstract:

BACKGROUND: Babesiosis and Thosis are parasitic tick-borne diseases that cause a lot of economic loss in livestock Industry. **OBJECTIVES:** The purpose of the present study was to detect *Babesia* and *Theileria* infection in goats and and vector ticks in goats in Mashhad. **METHODS:** One hundred blood samples of goats and 246 ticks were collected from some suspected flocks with history of piroplasmosis. The samples were transported to laboratory under cold condition. Blood smears were prepared and stained by Geimsa method and examined with a light microscope at ×1000 magnitude. The collected ticks were separated into tick pools of five according to their species and sex. The blood, salivary gland and ovaries of tick samples were examined using specific primers of *Babesia*.spp and *Theileria*.spp by semi nested-PCR. **RESULTS:** Piroplasm bodies were not observed in any blood samples of goat in Mashhad. In a total of 246 collected ticks, seven species were identified as follows: *R. turanicus* 127(51.6%), *D. marginatus* 67 (27.2%), *Hy. marginatum* 44 (17.9%), *R. sangunincus* 4(1.6%), *Hy. anatolicum* 2(0.8%), *Hy. asiaticum* 1(0.4%) and *Heam. sulcata* 1(0.4%). Dominant tick species of goats in Mashhad suburb were *R. turanicus* and *D. marginatus*. The results of PCR showed that none of the blood samples were infected with *Babesia* spp. and *Theileria* spp. Also, *Theileria* infectoin was detected in a sample salivary glands of *Hy. marginatum*. **CONCLUSIONS:** Based on microscopic and molecular results, no *Theileria* spp. and *Babesia* spp. infection were detected in goats. *R.turanicus* was the dominat tick species and *Theileria* spp. infection was detected in one sample of *Hy.marginatum*.

Key words: *Babesia*, goat, molecular identification, *Theileria*

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Frequency of collected hard ticks in goats of Mashhad area.

Figure 1. The Result of semi-nested PCR-examination (first stage) on Tick's Salivary glands .lane 1, negative control, (M) Lane M, 100 bp DNA ladder marker, Lane2, positive control DNA sample of *Theileria* spp (430 bp), lane 3: DNA samples of salivary glands

***Corresponding author's email: razmi@um.ac.ir, Tel: 051-38763851, Fax: 051-38763852**