بررسی فراوانی *تیلریا اکوئی* در اسب‌های منطقه ورامین با روش‌های رنگ‌آمیزی و مولکولی

علی‌اصغر شیرازی[۱]، نادیا طایفی نصرآبادی*[۲]، سیدرضا حسینی[۳]

۱- دانش‌آموخته رشته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج، کرج، ایران.
۲- استادیار گروه آموزشی انگل‌شناسی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران.
۳- استادیار گروه آموزشی انگل‌شناسی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.

دریافت مقاله: ۴ بهمن ۱۴۰۰، بازنگری: ۱۳ اسفند ۱۴۰۰، پذیرش نهایی: ۱۸ اسفند ۱۴۰۰

چکیده

تیلریا اکوئی تک‌یاخته‌ای از شاخه اپی‌کمپلکسا و خانواده تیلریده می‌باشد که در گذشته *بابزیا اکوئی* نامیده می‌شد. این انگل عامل اصلی بیماری پیروپلاسموز اسب سانان (اسب، الاغ، گورخر و قاطر) است. این بیماری نه به خاطر گسترش سریع و اثرات مخرب بر روی اسب‌ها و مرگ و میر در موارد حاد بلکه به علت ضرر اقتصادی ناشی از ایجاد محدودیت‌های تجاری و ممنوعیت‌های مکانی در مناطقی که شیوع می‌یابد مورد توجه قرار گرفته است. در این مطالعه از ۱۰۰ نمونه خون از اسب‌های چهار منطقه مختلف در ورامین جمع‌آوری شد و سپس با روش رنگ‌آمیزی و مولکولی از نظر آلودگی مورد بررسی قرار گرفت همچنین وجود آلودگی در گروه‌های مختلف سن، جنس، نژاد، نوع نگهداری و فعالیت بدنی در نرم‌افزار Excel 2010 جمع‌آوری و طبقه‌بندی شد و سپس با نرم‌افزار SPSS با شماره ورژن ۲۵ و استفاده از آزمون مربع کای به تجزیه و تحلیل نتایج پرداخته شد. در این مطالعه ۷ درصد آلودگی وجود داشت که لزوم توجه به این بیماری را برای دامپزشکان نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: *تیلریا اکوئی، اسب، منطقه ورامین، روش رنگ‌آمیزی، روش مولکولی*

* پست الکترونیک نویسنده مسئول مکاتبه: drtaiefi@gmail.com

مقدمه

تیلریا اکوئی (*Theileria equi*) تک‌یاخته‌ای از شاخه اپی‌کمپلکسا و خانواده تیلریده می‌باشد که در گذشته بابزیا اکوئی (*Babesia caballi*) نامیده می‌شد، اما در سال ۱۹۹۸ و با تشخیص یک مرحله‌ی خارج از گلبول قرمز در اسب *بابزیا اکوئی* به *تیلریا اکوئی* تغییر طبقه‌بندی داده شد (۱). این تک‌یاخته عامل اصلی بیماری پیروپلاسموز اسب سانان (اسب، الاغ، گورخر و قاطر) است، این بیماری نه به خاطر گسترش سریع و اثرات مخرب بر روی اسب‌ها و مرگ و میر در موارد حاد بلکه به علت ضرر اقتصادی ناشی از ایجاد محدودیت‌های تجاری و ممنوعیت‌های مکانی در مناطقی که شیوع می‌یابد مورد توجه قرار گرفته است. صنعت اسب‌داری در کشور از صنایع نوپا و اشتغال‌زا محسوب می‌گردد که با مدیریت علمی و اصولی می‌توان به گسترش روزافزون این صنعت امید داشت و از ظرفیت‌های مناسب داخلی به خوبی بهره‌مند شد. شهرستان ورامین در مرکز کشور و در نزدیکی پایتخت واقع شده است و تاکنون در پایتخت شیوع این تک‌یاخته مورد ارزیابی قرار نگرفته بود، با توجه به فراوانی میزبان‌های واسط در مناطق مختلف کشور و منطقه مورد مطالعه، باشگاه‌های سوارکاری و نیز مجموعه‌های پرورش اسب در ورامین و نزدیکی به پایتخت تعیین میزان شیوع انگل ضروری به نظر می‌رسید. این بیماری در لیست قرنطینه‌ی سازمان بهداشت جهانی دامپزشکی (OIE) قرار دارد و از ورود مبتلایان و ناقلین به نقاطی که بیماری در آن وجود ندارد جلوگیری به عمل می‌آید (۲). پیروپلاسموز اسب‌سانان به‌طور وسیعی در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری گسترش یافته است، این بیماری ابتدا در تک سمی‌های قاره آسیا مشاهده گردید ولی با انتقال حیوانات آلوده به سایر نقاط جهان که دارای کنه‌های ناقل مناسب بودند، امروزه از اکثر مناطق مختلف جهان گزارش گردیده است. کنه‌های گونه ایکسودیده به‌عنوان ناقل اصلی در این انگل مطرح می‌باشند که در ایران گونه‌های مختلفی نظیر هیالوما، آناتولیکوم، آناتولیکوم، همافیزالیس، پونکتاتا و ریپی سفالوس بورسا هستند که تقریباً تمام مناطق کشور به گونه‌های مشهورتر ناقل این انگل آلوده هستند و آلودگی به کنه‌های ناقل در مناطق مختلف فراگیر است. علاوه بر کنه‌ها، انسان، سایر حیوانات، وسایل آلوده، ابزار جراحی و انتقال خون به‌عنوان ناقلین مکانیکی این تک‌یاخته مطرح هستند. همچنین انتقال عمودی نیز در سطح گله‌ها مطرح است که می‌تواند منجر به سقط، مرده زایی و تولد کره‌های ضعیفی که مدتی بعد از تولد می‌میرند شود. مبتلایان تا پایان عمر ناقل محسوب می‌گردند و از ورود آنها به مناطق غیر آلوده جلوگیری به عمل می‌آید (۵-۳).

پیروپلاسموز دارای فرم‌های فوق حاد، حاد، تحت حاد و مزمن می‌باشد که بیماری دارای نشانه‌های پاتوگنومونیک نیست و باید از سایر بیماری‌ها با علائم بالینی مشابه مانند: سورا*، کم‌خونی عفونی اسب†، دورین‡، پورپورای هموراژیک§، مریضی آفریقایی اسب** و از برخی مسمومیت‌ها تمیز داده شود، همچنین نشانه‌های درمانگاهی در بیماری پیروپلاسموز ناشی از *بابزیا کابالی* و *تیلریا اکوئی* مشابه است، اما تفریق بیماری ناشی از این دو تک‌یاخته برای توفیق در درمان حائز اهمیت است. علائم بالینی بیشتر در حیوانات ضعیف‌تر و یا دارای بیماری دیگر و حیواناتی که

---

* Surra

† Equine infectious anemia

‡ Dourine

§ African horse sickness

** Purpura hemorrhagica

تحت استرس‌های گوناگون نمود پیدا می‌کند. دوره کمون به دنبال نیش کنه آلوده ۱۰-۲۱ روز است و در صورتی که آلودگی با نشانه‌های درمانگاهی همراه باشد افسردگی، بی‌میلی به حرکت، خوابیدن، تب، اِدم، کولیک خفیف و زردی دیده شده و مبتلایان ممکن است بسیار لاغر شده و خون‌ریزی‌هایی در مخاط مجاری بینی، واژن، پلک سوم مشاهده گردد و کاهش فعالیت تا مرگ ناگهانی قابل انتظار خواهد بود (۳، ۵، ۶).

طیف گسترده‌ای از روش‌های تشخیصی انگل‌شناسی، سرولوژی و مولکولی برای *تیلریا اکوئی* مورد استفاده قرار می‌گیرد، بسته به روش شناسایی انگل، میزان آلودگی حتی در یک گروه ثابت از دام‌ها نیز می‌تواند متفاوت و متغییر باشد. همچنین مرحله‌ای از بیماری که نمونه‌گیری در آن انجام می‌گردد در نتایج و نیز انتخاب روش یا روش‌های تشخیص آزمایشگاهی مؤثر می‌باشد. با بررسی میکروسکوپی می‌توان تک‌یاخته را در داخل گلبول قرمز شناسایی کرد که بهترین زمان برای نمونه‌گیری در روش رنگ‌آمیزی در هفته ابتدایی بیماری می‌باشد، از مزایای روش رنگ‌آمیزی ارزانی و دسترسی ساده و امکانات کم که موجب سهولت در نمونه‌برداری، رنگ‌آمیزی و بررسی مستقیم انگل بر اساس خصوصیات شکل‌شناسی تک‌یاخته می‌توان اشاره کرد. در بین سایر روش‌های مولکولی و سرولوژی روشPCR دارای حساسیت و ویژگی مناسب برای تشخیص موارد تحت بالینی است، همچنین استفاده ترکیبی از چند روش برای شناسایی موارد حاد و تحت حاد مورد تأکید قرار گرفته است (۲، ۴).

مواد و روش‌ها

نمونه‌گیری: شهرستان ورامین در مرکز کشور و در نزدیکی استان تهران واقع شده است. در این مطالعه ابتدا شهرستان به چهار قسمت شمال، جنوب، شرق و غرب و سپس از هر قسمت ۲۵ نمونه مجموعاً ۱۰۰ نمونه تهیه شد.

نمونه‌گیری از اسب‌های بالای شش ماه و در ماه‌های بهمن و اسفند سال ۱۳۹۹ انجام گردید، بدین صورت که ۲ میلی‌لیتر خون از ورید وداج اسب‌ها بعد از استریل کردن با پنبه و الکل در لوله‌های خون‌گیری استریل حاوی ماده ضد انعقاد EDTA اخذ و شماره‌گذاری شد و در دفترچه‌ای مشخصات اسب‌ها شامل: شماره لوله، نام صاحب دام، تاریخ نمونه‌گیری، جنسیت، نژاد، نوع نگهداری و فعالیت بدنی و سن (سن اسب‌ها بر اساس اظهارات مالک اسب، فرمول دندانی و نیز جدول نام‌گذاری اسب‌های عرب در ایران بر اساس حروف الفبا و سال تولد میلادی تعیین شد) ثبت گردید.

از ۱۰۰ نمونه جمع‌آوری شده از نظر جنسیت (۵۹ نر و ۴۱ماده) و از نظر رده سنی (۱۷ راس زیر دو سال، ۲۷ راس دو تا پنج سال و ۵۶ راس بالای پنج سال) سن داشتند و در نژادهای (۴۶ عرب، ۱۵ فریزین، ۱۱ ایرانی، KWPN۱۱، ۷ ترکمن، ۶ اسبچه خزر و ۴ پونی) بودند، همچنین از نظر فعالیت بدنی (۳۴ اسب اسب‌دوانی، ۱۸ اسب پرش و ۴۸ اسب به صورت خانگی) نگهداری می‌شدند.

رنگ‌آمیزی گسترش خونی با رنگ گیمسا:

پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج یک قطره خون روی لام قرار گرفت و به کمک یک لام دیگر از این قطره یک گستره نازک تهیه گردید، سپس گستره‌های تهیه شده به مدت ۴ دقیقه در متانول ۹۹ درصد تثبیت شد و با محلول گیمسا ۱۰ درصد به مدت ۳۰ دقیقه رنگ‌آمیزی شد و سپس با آب مقطر شست و شو داده شد و در نهایت به کمک روغن ایمریسیون با بزرگ‌نمایی ۱۰۰ مورد ارزیابی قرار گرفت که با بزرگ‌نمایی ۱۰۰، حدودا ۳۰۰

گلبول قرمز در هر شان میکروسکوپی به وسیله میکروسکوپ نیکون مورد ارزیابی قرار گرفت، تعداد حداقل ۲۰۰ شان میکروسکوپی در هر گستره از نظر وجود پیروپلاسم *تیلریا اکوئی* به دقت مورد بررسی قرار گرفت و در صورت مشاهده یک انگل یا مورد مشکوک، نمونه به‌عنوان مشکوک برای ارزیابی مجدد کنار گذاشته شد و سپس مجدداً نمونه‌های مشکوک برای تأیید تشخیص و نیز ریزبینی گستره‌ها برای محاسبه شدت آلودگی مورد ارزیابی قرار گرفت. برای این منظور تعداد گلبول قرمز آلوده به *تیلریا اکوئی* به ازای ۱۰۰ گلبول قرمز تعیین گردید (۴).

استخراج DNA از نمونه خون: استخراج DNA از نمونه‌های جمع‌آوری شده با استفاده از DNA Extraction Kit(Cinagene,Iran) و طبق دستورالعمل شرکت سازنده انجام پذیرفت.

ارزیابی DNA استخراج شده: بررسی حضور تک‌یاخته *تیلریا اکوئی* در DNA های استخراج شده به‌وسیله‌ی پرایمرهای طراحی شده توسط هال و همکاران در سال ۲۰۱۳ صورت پذیرفت (۷).

جدول۱- توالی نوکلئوتیدی پرایمر طراحی شده توسط هال و همکاران و شماره دسترسی آن در بانک ژن

توالی نوکلئوتیدی	شماره دسترسی (GenBank)
F: 5′-AGCCATGCATGTCTAAGTACAAGCTTTT-3′	JX177670
R: 5′-TCCGAATAATTCACCGGATCACTC-3′	

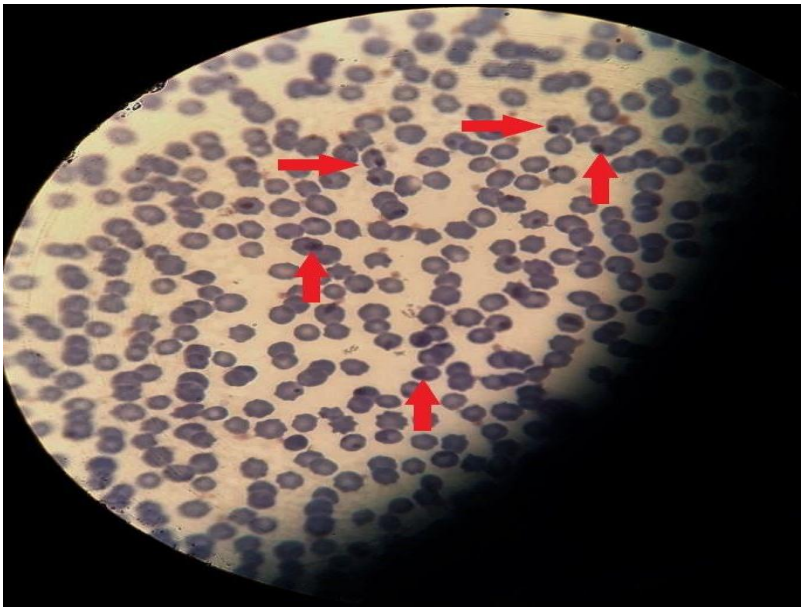
واکنش نهایی PCR: واکنش نهایی PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA هدف، ۲/۵ میکرولیتر 10x PCR buffer، ۱ میکرومول از هر پرایمر رفت و برگشت، ۲۰۰ میکرو مول dNTPS، ۲ میلی‌مول MgCl2 و ۱ واحد آنزیم DNA پلی‌مراز Taq (فرمنتاس ـ لیتوانی) انجام شد. برنامه دمایی دستگاه PCR تحت شرایط زیر انجام گرفت: دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، ۳۰ سیکل حرارتی شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال پرایمر در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه و تکثیر نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه، در نهایت محصولات PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید و در پایان با دستگاه UV transilluminator مورد ارزیابی قرار گرفت. جهت بررسی باندهای حاصل از محصول PCR از DNA ladder به اندازه ۱۰۰ جفت باز و ۱ کیلوباز و از آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری: اطلاعات مرتبط با هر اسب ابتدا به وسیله نرم‌افزار Excel 2010 جمع‌آوری و طبقه‌بندی شد و سپس با نرم‌افزار SPSS با شماره ویرایش ۲۵ مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند. ابتدا فراوانی آلودگی در گروه‌های مختلف محاسبه شد، سپس با استفاده از آزمون مربع کای مقایسه آماری بین فراوانی آلودگی در گروه‌های مختلف سنی، جنسی، نژادی و فعالیت بدنی و نوع نگهداری انجام پذیرفت و نتایج حاصل از روش مولکولی با نتایج حاصل از روش رنگ‌آمیزی مقایسه گردید.

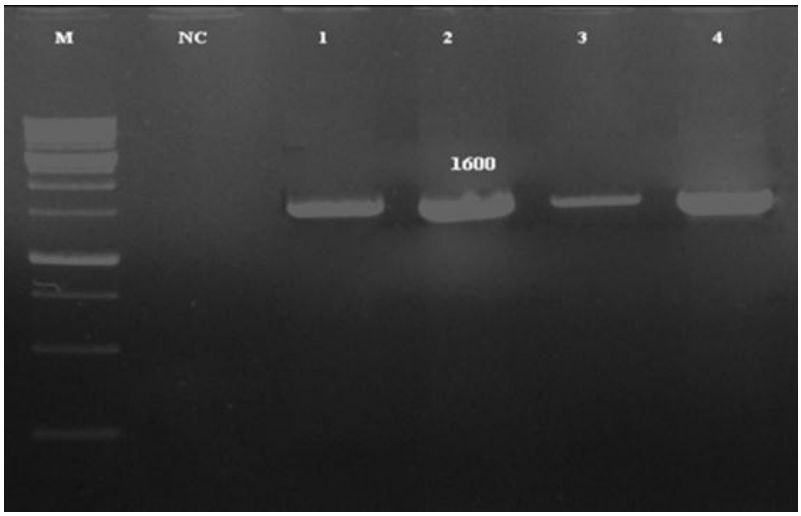
نتایج

بررسی نتایج روش رنگ‌آمیزی و مولکولی:

در بررسی با روش رنگ‌آمیزی گستره‌های خونی با توجه به پارامترهای بیومتریک و مورفولوژیک شامل اندازه، محل و شکل انگل در گلبول‌های قرمز حیوان ۴ مورد مثبت مشاهده گردید (تصویر ۱) همچنین در روش مولکولی ۷ نمونه مثبت گزارش شد (تصویر ۲) که ۳ نمونه در هر دو تست مثبت بود. ۴ نر و ۳ماده (جدول ۲) و ۳ اسب زیر دو سال و ۲ اسب بین دو تا پنج سال و ۲ اسب هم بالای پنج سال سن داشتند (جدول ۳). ۴ اسب عرب، ۲ اسب فریزین و یک اسب ایرانی بودند و هیچ مورد مثبتی در نژادهای KWPN، ترکمن، اسبچه خزر، پونی مشاهده نگردید (جدول ۴). ۲ اسب برای اسب‌دوانی و کورس و ۵ اسب به‌عنوان خانگی نگهداری می‌شدند و مورد مثبتی در بین اسب‌های پرش مشاهده نشد (جدول ۵).



تصویر ۱- تصویر گلبول‌های قرمز آلوده به *تیلریا اکوئی* از نمونه مثبت در روش رنگ‌آمیزی با بزرگ‌نمایی شیئی 100x (اجرام پیروپلاسمایی به‌وسیله آناپلاسما سنتنراله و ارلیشیا با هسته مجزا بنفش و سیتوپلاسم مشخص قابل تفکیک هستند)



تصویر ۲- باند bp۱۶۰۰ مربوط به نمونه مثبت *تیلریا اکوئی* در روش مولکولی- ستونM مارکر ۱کیلو بازیDNA- ستونNC نمونه کنترل منفی- ستون‌های ۱-۴ نمونه‌های مورد مطالعه واجد قطعه ۱۶۰۰ جفت بازی

جدول ۲- فراوانی *تیلریا اکوئی* در منطقه ورامین بر اساس روش تشخیص و جنسیت

	روش تشخیصی		روش رنگ آمیزی	روش مولکولی
جنس	نر	(٪۵۹)۵۹	(۱/٪۶۹)۱	(۶/٪۷۷)۴
	ماده	(٪۴۱)۴۱	(۷/٪۳۱)۳	(۷/٪۳۱)۳
مجموع		(٪۱۰۰)۱۰۰	(٪۴)۴	(٪۷)۷

جدول ۳- فراوانی *تیلریا اکوئی* در منطقه ورامین بر اساس روش تشخیص و سن

	روش تشخیصی		روش رنگ آمیزی	روش مولکولی
سن	≤۲	(٪۱۷)۱۷	(۵/٪۸۸)۱	(۱۷/٪۶۴)۳
	۵-۲	(٪۲۷)۲۷	۰	(۷/٪۴۰)۲
	۵≤	(٪۵۶)۵۶	(۵/٪۳۵)۳	(۳/٪۵۷)۲
مجموع		(٪۱۰۰)۱۰۰	(٪۴)۴	(٪۷)۷

جدول ۴- فراوانی *تیلریا اکوئی* در منطقه ورامین بر اساس روش تشخیص و نژاد

	روش تشخیصی		رنگ آمیزی	روش مولکولی
نژاد	عرب	(٪۴۶)۴۶	(۸/٪۶۹)۴	(۸/٪۶۹)۴
	فریزین	(٪۱۵)۱۵	۰	(۱۳/٪۳۳)۲
	ایرانی	(٪۱۱)۱۱	۰	(۹/٪۰۹)۱
	KWPN	(٪۱۱)۱۱	۰	۰
	ترکمن	(٪۷)۷	۰	۰
	اسبچه خزر	(٪۶)۶	۰	۰
مجموع		(٪۱۰۰)۱۰۰	(٪۴)۴	(٪۷)۷

جدول۵ - فراوانی *تیلریا اکوئی* در منطقه ورامین بر اساس روش تشخیص و نوع نگهداری و فعالیت بدنی

	روش تشخیصی		رنگ آمیزی	روش مولکولی
نوع نگهداری و فعالیت بدنی	اسبدوانی	(٪۳۴)۳۴	(۵/٪۸۸)۲	(۵/٪۸۸)۲
	پرش	(٪۱۸)۱۸	۰	۰
	حیوان خانگی	(٪۴۸)۴۸	(۴/٪۱۶)۲	(۱۰/٪۴۱)۵
مجموع		۱۰۰ (٪۱۰۰)	(٪۴)۴	(٪۷)۷

بحث

تا کنون مطالعات کمی با استفاده از روش‌های مولکولی در سطح جهان بر روی تک‌یاخته‌های خونی اسب صورت گرفته است و عمده روش‌های مورد استفاده روش رنگ‌آمیزی یا سرولوژیکی می‌باشد. در این مطالعه دو روش تشخیصی شامل رنگ‌آمیزی که معمول‌ترین روش جهت تشخیص تک‌یاخته‌های خونی می‌باشد و تکنیک واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز که یک روش اختصاصی با حساسیت و ویژگی بالاست مورد استفاده و ارزیابی قرار گرفتند (۲). نتایج روش‌های رنگ‌آمیزی و مولکولی حاکی از آن است که ۷ درصد از نمونه‌ها مثبت بودند.

با توجه به میزان شیوع حاصله در این مطالعه به

نظر می‌رسد که این بیماری در منطقه ورامین به صورت اندمیک وجود دارد ولی شیوع آن بالا نمی‌باشد که می‌تواند دو علت داشته باشد: الف- مدیریت مناسب اسب داری‌ها و بهداشت بالای محیطی، رعایت اصول امنیت زیستی، شناسایی حیوانات بیمار و جداسازی و درمان و مبارزه مداوم با ناقلین. ب - فصل نمونه‌برداری که در فصول ازدیاد کنه‌ها نبوده است.

در آزمون آماری مربع کای انجام شده تمامی متغیرهای موجود اعم از سن، نژاد، جنس و نوع نگهداری و فعالیت بدنی در هر دو روش تشخیصی از یکدیگر مستقل بودند و هیچ ارتباط معناداری بین متغییرها مشاهده نگردید این نتایج با نتایج سایر مطالعات در داخل و خارج از کشور مانند: مالکی فرد و همکاران در سال ۲۰۱۴ که به جداسازی این تک‌یاخته با روش مولکولی و رنگ‌آمیزی در اسب‌های آذربایجان غربی پرداختند و ارتباط معناداری بین میزان شیوع و سن و جنسیت گزارش نکردند (۸)، کاکه خانی و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ به بررسی میزان فراوانی این تک‌یاخته به روش مولکولی و رنگ‌آمیزی در اسب‌های کردستان پرداختند و تفاوت معناداری بین میزان شیوع و جنس و سن گزارش نکردند (۹)، که با مطالعات ابراهیمی و همکاران در سال۲۰۱۸ در اسب‌های آذربایجان غربی (۱۰)، بهرامی و همکاران در سال ۲۰۱۴ در استان یزد (۱۱)، آلبرتو دیاز سانچز و همکاران در غرب کوبا سال ۲۰۱۸ (۱۲) و علی و همکاران در سال ۲۰۲۱ در پنجاب پاکستان (۱۳) همخوانی دارد، اما در مطالعاتی نیز ارتباط معناداری بین میزان شیوع و سن، جنس، نژاد و نوع نگهداری و فعالیت بدنی گزارش گردیده است مانند: استینمن و همکاران در سال ۲۰۱۲ که به بررسی شیوع *تیلریا اکوئی* در ۵۹۰ اسب از ۴۶ مزرعه در اسرائیل با استفاده از تست PCR پرداختند که ۱۵۶ مورد (۲۶/۴ درصد) مثبت گزارش شد و تفاوتی در بین جنس و سن برای افزایش شانس ابتلا مشاهده نشد اما تفاوت در میزان شیوع بین نژادهای مختلف معنادار بود و در نژادهای بومی با میزان شیوع (۳۶/۳ درصد) نسبت به اسب‌های دارای نژاد خالص مانند عرب (۹ درصد) و تروبرد (۱۰ درصد) اختلاف معناداری داشتند (۱۴)، آیلا والدووینوس و همکاران در سال ۲۰۱۷ به بررسی فراوانی *تیلریا اکوئی* در غرب مکزیک با روش PCR پرداختند و از ۱۰۰۰نمونه جمع‌آوری شده ۱۹۷ مورد (۱۹/۷ درصد) مثبت گزارش شد همچنین تفاوت معناداری بین دو جنس و نژادهای مختلف مشاهده نشد اما نویسندگان گزارش کردند که با افزایش سن شانس ابتلا به *تیلریا اکوئی* افزایش می‌یابد و بیشترین نرخ ابتلا (۲۵/۰۵ درصد) در سن بالای ۴ سال و کمترین نرخ ابتلا (۱۰/۳۴ درصد) در سن کمتر از یک سالگی گزارش گردیده است (۱۵).

نتیجه‌گیری

از آنجا که استان تهران یکی از کانون‌های پرورش اسب در ایران است و امروزه پرورش اسب در این منطقه به یک صنعت تبدیل شده است و با توجه به اهمیت پیروپلاسموز در صنعت اسب‌داری و زیان اقتصادی ناشی از آن و با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه و مطالعات دیگر در کشور می‌توان بیماری ناشی از تک‌یاخته *تیلریا اکوئی* را یکی از بیماری‌های مهم و قابل توجه در تک‌سمیان محسوب نمود که می‌بایست توجه بیشتری به این بیماری و تلاش برای پیشگیری و درمان آن در استان تهران صورت گیرد. همچنین لزوم توجه بیشتر دامپزشکان به این بیماری و درمان آن نیز به‌عنوان یکی از الویت‌های کاری برای دامپزشکان شاغل در این بخش از صنعت در کشور محسوب می‌گردد. همچنین این احتمال وجود دارد که میزبان‌های واسط اختصاصی که در انتقال این

آلودگی نقش دارند نیز به‌عنوان یکی از الویت‌های محقیقین برای پژوهش‌ها مطرح باشد. همچنین با توجه به اینکه این بیماری به صورت اندمیک در این منطقه وجود دارد، برنامه سمپاشی و حذف و کنترل کنه‌های سخت میزبان واسط نیز بایستی در الویت‌های بهداشتی در اسب‌داری‌ها باشد و به صورت منظم برای مقابله با میزبان‌های واسط برنامه‌ریزی و انجام پذیرد.

References

1- Mehlhorn H, Schein E. Redescription of Babesia equi Laveran, 1901 as Theileria equi Mehlhorn, Schein 1998. Parasitology research. 1998; 84(6): 467-75.

2- Rothschild CM. Equine piroplasmosis. *Journal of Equine Veterinary Science*. 2013; 33(7): 497-508.

3- Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W. Veterinary medicine-e-book: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats. *Elsevier Health Sciences*. 2016; 811-813.

4- De Waal DT. Equine piroplasmosis: a review. *British Veterinary Journal*. 1992; 148(1): 6-14.

5- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. Veterinary parasitology. *John Wiley & Sons*. 2015; 475-484.

6- Smith BP. Large animal internal medicine, 3rd edn, Mosby. ISBN: 0-323-00946-B. 2002; 814-817.

7- Hall CM, Busch JD, Scoles GA, Palma-Cagle KA, Ueti MW, Kappmeyer LS, *et al*. Genetic characterization of Theileria equi infecting horses in North America: evidence for a limited source of US introductions. *Parasites & vectors*. 2013; 6(1): 1-2.

8- Malekifard F, Tavassoli M, Yakhchali M, Darvishzadeh R. Detection of Theileria equi and Babesia caballi using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. *InVeterinary research forum: an international quarterly journal*. 2014; 5(2): 129 [In Persion].

9- Kakekhani S, Rahbari S, Madani R, Bokaei S. Molecular and microscopic detection of Theileria equi and Babesia caballi in horses in Kurdestan Province, Iran. Archives of Razi Institute. 2017; 72(1): 51-5 [In Persion].

10- Ebrahimi M, Adinehbeigi K, Hamidinejat H, Tabandeh MR. Molecular characterization of Theileria equi infection in horse populations belonging to West Azerbaijan, Iran: insights into the importance of Equine Merozoite Antigen (EMA)-1 in its diagnosis. *Annals of parasitology*. 2018; 64(1).[In Persion].

11- Bahrami S, Ghadrdan AR, Mirabdollahi SM, Fayed MR. Diagnosis of subclinical equine theileriosis in center of Iran using parasitological and molecular methods. *Trop Biomed*. 2014; 31(1): 110-7 [In Persion].

12- Díaz-Sánchez AA, Pires MS, Estrada CY, Cañizares EV, del Castillo Domínguez SL, Cabezas-Cruz A, *et al*. First molecular evidence of Babesia caballi and Theileria equi infections in horses in Cuba. *Parasitology research*. 2018; 117(10): 3109-18.

13- Ali S, Ijaz M, Farooqi SH, Durrani AZ, Rashid MI, Ghaffar A, *et al*. Molecular characterisation of Theileria equi and risk factors associated with the occurrence of theileriosis in horses of Punjab (Pakistan). *Equine Veterinary Education*. 2021; 33(2): 75-83 [In Persion].

14- Steinman A, Zimmerman T, Klement E, Lensky IM, Berlin D, Gottlieb Y, *et al*. Demographic and environmental risk factors for infection by Theileria equi in 590 horses in Israel. *Veterinary Parasitology*. 2012; 187(3-4): 558-62.

15- Ayala-Valdovinos MA, Lemus-Flores C, Galindo-García J, Bañuelos-Pineda J, Rodríguez-Carpena JG, Sánchez-Chiprés D, et al. Diagnosis and prevalence of Theileria equi horses in western Mexico by nested PCR. *Parasitology international*. 2017; 66(1): 821-4.

Prevalence of *Theileria equi* in horses of Varamine's area by staining method and molecular method

Ali Asghar Shirazi[1], Nadia Taiefi Nasrabadi*[2], Sayyed Reza Hoseini[3]

1- D.V.M. Faculty of Veterinary Medicine, karaj branch, Islamic Azad University, karaj, Iran.
2- Associate professor of Department of Pathobiology, karaj branch, Islamic Azad University, karaj, Iran.
3- Associate professor of Department of Pathobiology, Shahrekord branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.

Receive: January 24, 2022; Revise: March 4, 2022; Accept: March 9, 2022

Summary

Theileria equi is a protozoan of the Apicomplexa phylum and the family *Theileridae*, already known as *Babesia equi*. This parasite is the main cause of equine piroplasmosis (horses, donkeys, zebras and mules). The disease has been noted not because of its rapid spread and devastating effects on horses and mortality in acute cases, but because of the economic losses caused by trade restrictions and limitations in areas where it is prevalent. In this study, blood samples were collected from 100 horses from four different regions in Varamin and then the results were investigated from the perspective of infection by staining and molecular methods. Furthermore, the presence of infection in different groups in terms of age, sex, breed, type of maintenance and bodily activity was collected and classified with the assistance of Excel 2010 software and afterwards we analyzed the data with SPSS software version 25 using chi-square test. Finally, we concluded that there was 7% contamination, which demonstrates that paying attention to this disease would be essential for veterinarians.

Keywords: *Theileria equi, Horse, Varamin region, staining method, molecular method*