

Short
Communication

Evaluation of Theileria infection in cows vaccinated against Theileriosis in the Zaveh area, Khorasan Razavi province

A.R.Alikhanimoghadam ¹, A.Bakhshani², G.R. Razmi^{3*}

1-Graduated of Veterinary Parasitology (M.Sc degree) from the Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

2- Graduated of Veterinary Parasitology (Ph.D. degree) from Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

3- Professor of Parasitology, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi, The University of Mashhad, Iran

Received: Accepted:

Revised: Published:

* E-mail: razmi@um.ac.ir

Abstract

Theileriosis is a major tick-borne disease mainly caused by *Theileria annulata* in cattle. Tropical theileriosis causes significant economic losses in dairy farms due to reduced livestock production, emaciation, and mortality. Effective control of the disease requires regular vaccination of dairy cattle and the application of acaricides against tick vectors. The study was conducted in the Zaveh area, which has a semi-arid climate and is located in Khorasan Razavi Province. This region reports a high annual prevalence of bovine theileriosis, and many dairy cattle are vaccinated each year. The aim of this study was to determine the frequency of *Theileria annulata* infection in vaccinated dairy cattle in the Zaveh area.

A total of 120 vaccinated dairy cattle were selected from four dairy farms, and EDTA whole blood samples along with thin blood smears were collected. The blood smears were stained with Giemsa dye, and the EDTA blood samples' DNA was extracted with a commercial kit.

Out of 120 stained blood smears, 32 (26.66%) showed *piroplasms* with low parasitemia. The PCR results showed no positive reaction in the blood DNA samples of vaccinated cattle. No clinical signs of theileriosis were observed during the study.

Although piroplasm forms with minimal parasitemia were detected in blood smears of several vaccinated cows, PCR amplification targeting the Tams-1 gene yielded negative results.

Given the high polymorphism of this gene observed in sequenced samples of *Theileria annulata*, such findings are not entirely unexpected and suggest the need for further investigation.

Keywords: Theileriosis, dairy cattle, vaccination, microscopic method, PCR



ارزیابی عفونت تیلریا در گاوهای واکسینه‌شده در برابر تیلریوز در شهرستان زاوه، استان خراسان رضوی

علیرضا علیخانی^۱، امین بخشانی^۲، غلامرضا رزمی^{۳*}

۱- دانش‌آموخته کارشناسی ارشد انگل‌شناسی از گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد.

۲- دانش‌آموخته دکتری انگل‌شناسی از گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد.

۳- استاد دانشگاه، گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی فردوسی مشهد.

* E-mail: razmi@um.ac.ir

چکیده

تیلریوز یکی از بیماری‌های مهم و شایع منتقله از کنه در گاوهاست که توسط تیلریا آنولاتا ایجاد می‌شود. تیلریوز گاوی در ایران به علت کاهش تولیدات دامی، لاغری و مرگ خسارات زیادی را به صنعت دامپروری وارد می‌کند و از این رو، برای کنترل بیماری لازم است علاوه بر مبارزه با کنه‌های ناقل، واکسیناسیون منظم گاوهای شیری نیز صورت گیرد. شهرستان زاوه با آب‌وهوای نیمه‌خشک در استان خراسان رضوی واقع شده است که تعداد قابل توجهی گاو شیری دارد. شیوع سالانه تیلریوز گاوی در این شهرستان نسبتاً بالاست و به همین علت هر ساله تعداد زیادی از گاوهای این منطقه در برابر تیلریوز واکسینه می‌شوند. در این مطالعه وضعیت تیلریوز در گاوهای واکسینه‌شده در برابر بیماری در شهرستان زاوه بررسی شد. بدین منظور تعداد ۱۲۰ رأس گاو واکسینه‌شده در سنین مختلف از چهار گاوداری انتخاب شدند و از آن‌ها نمونه‌های شامل گسترش خون از ورید جداری گوش و لوله‌های خون واجد EDTA تهیه شد. نمونه‌ها به آزمایشگاه انگل‌شناسی ارسال شدند. گسترش‌های خونی پس از رنگ‌آمیزی با رنگ گیمسا، به صورت میکروسکوپی بررسی شدند. در ادامه، DNA نمونه‌های خون EDTA استخراج شد و آزمایش PCR بر روی آن‌ها انجام گرفت. در این مطالعه گاوهای طی مطالعه هیچ‌گونه علائم بالینی از بیماری نشان ندادند. از تعداد ۱۲۰ گسترش خونی تهیه‌شده، در تعداد ۳۲ نمونه (۲۶/۶۶ درصد) اشکال پیروپلاسمی با پارازیتی بسیار کم دیده شد. نتایج PCR براساس تکثیر ژن Tams-1 منفی بودند. با توجه به پلی‌مورفیسم بالای ژن Tams-1 در نمونه‌های تعیین‌توالی‌شده تیلریا آنولاتا، امکان چنین نتیجه‌ای متفی نیست که نیاز به مطالعه بیشتری در این باره دارد.

کلمات کلیدی: تیلریوز، گاوهای شیری، واکسیناسیون، روش میکروسکوپی، روش مولکولی

مقدمه

گاوهای واکسینه شده در شهرستان زاوه با روش انگل شناسی و PCR ارزیابی شد.

مواد و روش کار

منطقه مورد مطالعه

شهرستان زاوه در استان خراسان رضوی قرار دارد و از شمال با شهرستان فریمان، از غرب با شهرستان تربت حیدریه، از جنوب با شهرستان رشتخوار و خواف و از شرق با شهرستان باخرز و تربت جام همسایه است. مساحت این شهر ۲۴۳۷ کیلومتر مربع است.

نمونه برداری

با توجه به اینکه میزان شیوع تیلبریوز گزارش شده در شهرستان زاوه به میزان ۲۰ درصد است، براساس گزارش گیری از سیستم اطلاعات جغرافیایی (Geographic Information System) اداره دامپزشکی شهرستان زاوه، تعداد نمونه مورد نیاز برای این مطالعه حدود ۱۲۰ عدد تعیین شد که این تعداد نمونه از چهار گاوداری با سابقه تیلبریوز تعیین گردید. در این بررسی ابتدا مشخصات گاوهای واکسینه در برابر تیلبریوز ثبت شد و هریک از آنها معاینه بالینی شدند. آنگاه نسبت به تهیه گسترش خون از ورید مارژینال گوش و همچنین خونگیری از ورید وداچ برای تهیه ۳ میلی لیتر خون حاوی EDTA اقدام شد (جدول ۱).

بررسی میکروسکوپی

در آزمایشگاه انگل شناسی، گسترش های تهیه شده با متانول ثابت شد و با رنگ گیمسای ۵ درصد رنگ آمیزی شد. گسترش های خونی با استفاده از میکروسکوپ نوری و با بزرگنمایی (۴۰× و ۱۰۰×) برای جست و جوی اشکال پیروپلاسمی بررسی شدند. درصد پارازیتمی با شمارش آلودگی در ۵۰ شان میکروسکوپی حاوی ۵۰۰ گلبول قرمز در هر شان تعیین شد.

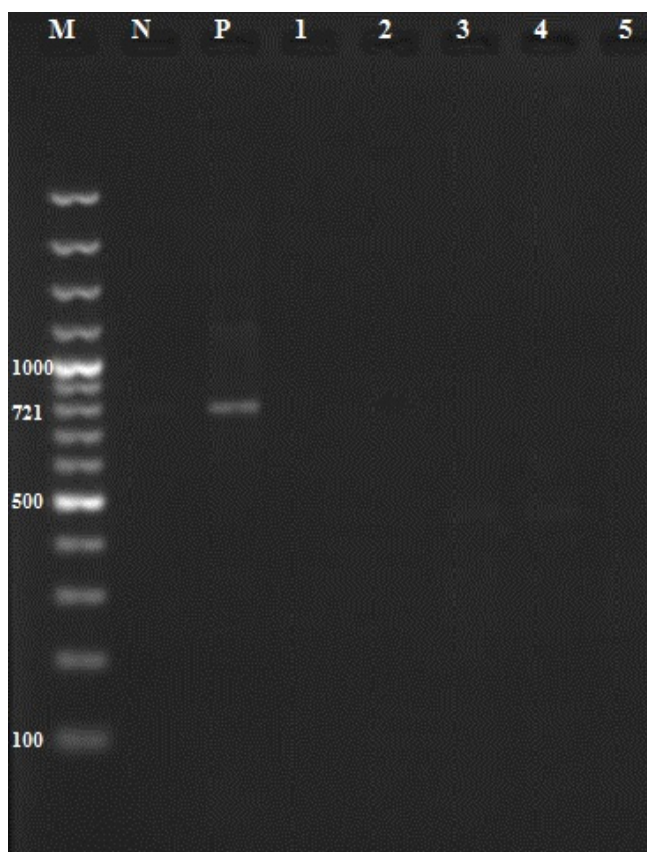
آزمایش های مولکولی

لوله های حاوی نمونه های خون و ماده ضد انعقاد پس از انتقال به آزمایشگاه انگل شناسی، در فریزر منفی ۲۰ درجه سانتی گراد تا زمان آزمایش مولکولی نگهداری شدند. استخراج DNA نمونه های

تیلبریوز گرمسیری بیماری خونی است که توسط تک یاخته داخل سلولی تیلبریا از شاخه پروتوزوا، زیرشاخه آپی کمپلکسا، راسته پیروپلاسمیدا، خانواده تیلبریده در گاو ایجاد می شود که یکی از علل مرگومیر در این حیوان در مناطق گرمسیری است (۱). تیلبریا آنولاتا در گاوهای اروپای جنوبی، خاورمیانه، شمال آفریقا، ساحل مدیترانه و آسیا انتشار دارد (۲). تشخیص این بیماری بیشتر بر پایه مشاهده میکروسکوپی انگل در گسترش های رنگ آمیزی شده خون است. به دلیل مورفولوژی مشابه گونه های مختلف تیلبریا، تشخیص تفریقی این گونه ها مخصوصاً در دام های حامل با پارازیتمی پایین بسیار دشوار است. بدین منظور امروزه روش های مولکولی به دلیل حساسیت بالا برای تفريق گونه های تیلبریا، بسیار مورد توجه قرار گرفته اند (۳). در فصول گرم سال گونه تیلبریا آنولاتا توسط کنه های جنس هیالوما به گاو منتقل می شوند و در آنها علائمی چون تب، بزرگی غدد لنفاوی، کم خونی پیش رونده، زردی، بی قراری، بی اشتها، خشن شدن پوشش مویی، تورم ریه، تنگی نفس و اسهال را ایجاد می کند (۴، ۵). پس از تلقیح اسپوروزیت تیلبریا توسط کنه هیالوما، اسپوروزیت ها ابتدا وارد لنفوسیت ها و مونوسیت شده و شروع به تقسیم شیزوگونی می کنند. لنفوبلاست های آلوده به شیزونت به بافت های مختلف بدن میزبان متاستاز داده و پس از تکثیر شیزوگونی در این بافت ها، به آسیب های بافتی منجر شده که در صورت درمان نشدن به زمین گیری و مرگ حیوانات منجر می شود (۶). به منظور کنترل تیلبریوز در گاوهای شیری از روش های مختلفی همچون استفاده از کنه کش ها برای مبارزه با کنه های ناقل و واکسیناسیون گاو ها در برابر بیماری استفاده می شود. در ایران از دهه پنجاه به بعد واکسیناسیون در برابر تیلبریوز گاوی با استفاده واکسن از شیزونت های زنده سویه تخفیف حدت یافته تیلبریا آنولاتا در گاوداری های ایران انجام می گیرد (۷). طبق نظر مؤسسه رازی (سازنده)، این واکسن می تواند نزدیک به دو سال ایمنی کافی را در گاو در برابر بیماری ایجاد کند (۴). طبق گزارش دامپزشکان محلی، تیلبریوز گاوی هرساله با شیوع نسبتاً بالا در شهرستان زاوه مشاهده می شود و به همین علت هرساله تعداد زیادی از گاو های این منطقه در برابر تیلبریوز واکسینه می شوند. با توجه به اهمیت واکسیناسیون در کنترل بیماری، در این مطالعه سعی شد وضعیت تیلبریوز در

جدول ۱- مشخصات گاوداری‌های نمونه‌برداری شده در شهرستان زاوه

ردیف	نوع واحد	تعداد نمونه خون اخذ شده	سابقه تیلریوز	سابقه واکسیناسیون
۱	روستایی	۲۲	دارد	دی ۹۸، بهمن ۹۹
۲	نیمه‌صنعتی	۱۸	دارد	اسفند ۹۹
۳	نیمه‌صنعتی	۴۰	دارد	دی ۹۸، دی ۹۹
۴	صنعتی	۴۰	دارد	آذر ۹۸، بهمن ۹۹



خون، توسط کیت سینا کولون (شرکت سینا کولون- تهران) طبق دستورالعمل موجود در کیت انجام شد. پس از استخراج DNA، غلظت هریک توسط دستگاه نانودراپ تعیین شد. همچنین به منظور بررسی کیفیت DNA، مقداری از آن را بر روی ژل آگاروز ۱ درصد برده و سپس الکتروفورز شد. نمونه استخراج شده با استفاده از پرایمرهای زیر (جدول ۲) براساس روش اولیویرا و همکاران مورد آزمایش PCR قرار گرفتند (۸).

سپس محصول PCR، روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد حاوی سایبرگرین برده و الکتروفورز شد. بعد از اتمام الکتروفورز، ژل بادقت از تانک خارج شد و برای تهیه تصویر داخل دستگاه ژل داک قرار گرفت.

نتایج و بحث

در این بررسی، هیچ گونه علامت درمانگاهی در گاوهای واکسینه شده، مشاهده نشد. از تعداد ۱۲۰ نمونه گسترش خون رنگ آمیزی شده، در ۳۲ نمونه اشکال پیروپلاسمی با پارازیتمی ۰/۰۰۰۱ مشاهده شد (جدول ۳).

برای تأیید تشخیص آلودگی تیلریا اتولاتا، تمام نمونه‌های خون با روش PCR آزمایش شدند که تمام نمونه‌های در این بررسی منفی بودند (شکل ۱).

در ایران واکسیناسیون گاوها در برابر تیلریوز با استفاده از تلقیح یک‌سویه واکسن ضعیف شده و زنده تیلریا انجام می‌گیرد که نتایج

شکل ۱- تشخیص آلودگی تیلریا آنولاتا با پرایمر اختصاصی تیلریا آنولاتا PCR. چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، چاهک N: کنترل منفی، چاهک P: کنترل مثبت واجد باند 721 pb، چاهک‌های ۱-۵ مربوط به DNA نمونه‌ها.

جدول ۲- توالی پرایمرهای به کاررفته در PCR اختصاصی تیلریا آنولاتا (۸)

ردیف	نام پرایمر	ژن مورد استفاده	توالی نوکلئوتیدی پرایمرها	اندازه محصول
1	N516(F)	Tams1	5'GTAACCTTTAAAAACGT3'	721bp
2	N517(R)	Tams1	5'GTTACGAACATGGGTTT3'	721 bp

جدول ۳- تعداد موارد مثبت حاوی پیروپلاسم در گسترش‌های خونی تهیه‌شده

سن برحسب سال	نتیجه	مثبت (%)	منفی	جمع
زیر ۱ سال		۴ (۲۰)	۱۶	۲۰
۲-۵ سال		۱۱ (۲۷/۵)	۲۹	۴۰
۶-۱۰ سال		۱۷ (۲۸/۳۳)	۴۳	۶۰
جمع		۳۲ (۲۶/۶۷)	۸۸	۱۲۰

بر بیماری تیلریوز گاوی را در کشور هندوستان بررسی کردند (۱۲). در این مطالعه قبل از شروع فصل بیماری تعداد ۱۲۰ رأس گاو در ۴ گروه سنی در برابر بیماری واکسینه شدند. همچنین به تعداد مساوی از حیوانات همسن به‌عنوان شاهد در همان مکان نگهداری شدند. حیوانات به‌مدت ۱۴ ماه در فواصل ماهانه تحت نظر قرار گرفتند. پس از گذشت ۱ ماه تقریباً ۹۷ درصد حیوانات واکسینه‌شده افزایش در تیترا آنتی‌بادی را نشان دادند. میانگین تیترا آنتی‌بادی در حیوانات واکسینه‌شده به‌طور معناداری بیشتر از حیوانات غیرواکسینه‌شده بود. در این بررسی ۳۶/۷ درصد از گاوهای واکسینه‌شده و ۶۴/۲ درصد از گاوهای واکسینه‌نشده واجد اجسام پیروپلاسم با پارازیتی پایین بودند. موارد بالینی تیلریوز فقط در گروه واکسینه‌نشده ثبت شد. حیوانات واکسینه‌شده به اندازه کافی در برابر بیماری مصون بودند و در برابر گزش کنه‌های آلوده حداقل به‌مدت ۱۴ ماه مقاومت کردند. بنیوال و همکارانش در سال ۲۰۰۲ به بررسی اثر واکسن کشت سلولی بر بیماری تیلریوز گرمسیری در گوساله‌های بسیار جوان پرداختند (۱۳). نتایج نشان داد که واکسن برای تمامی گوساله‌ها در شرایط مزرعه ایمن، قوی و مؤثر ایجاد می‌کند. در بررسی مزبور در خون گوساله‌های واکسینه‌شده، پس از حدود دو هفته اشکال پیروپلاسم به میزان کم مشاهده شد.

همان‌طور که اشاره شد منفی بودن نتایج حاصل از آزمایش PCR نمونه‌های خونی گاوهای واکسینه‌شده در این مطالعه، با وجود مشاهده اشکال پیروپلاسم با پارازیتی بسیار پایین جای سؤال دارد. روش RCP با روش اولیویرا و همکاران در سال ۱۹۹۵ براساس تکثیر ژن کدکننده پروتئین‌های سطحی مروزویت (Tams-1) تیلریا آنولاتا ابداع شد (۸)، تاکنون با این روش مطالعات زیادی به‌منظور تشخیص تیلریا آنولاتا انجام گرفته است (۱۵). مطالعات فیلوژنتیک

ایمن‌سازی آن بسیار رضایت‌بخش بوده است (۹). در این تحقیق سعی شد وضعیت تیلریوز گرمسیری در تعدادی از گاوهای واکسینه‌شده شهرستان زاوه با روش‌های انگل‌شناسی و مولکولی بررسی شود. در این مطالعه اشکال پیروپلاسم با پارازیتی بسیار پایین در گسترش خون ۲۶ درصد گاوهای واکسینه‌شده، مشاهده شد، درحالی‌که نتایج به‌دست‌آمده حاصل از بررسی‌های PCR واکسینه‌شده منفی بودند که با توجه به حساسیت بالاتر این روش نسبت به روش میکروسکوپی این نتیجه جای سؤال داشت. مشاهده اجسام پیروپلاسم در گسترش‌های خون گاوهای واکسینه‌شده در برابر تیلریا آنولاتا در سایر مطالعات مشابه نیز گزارش شده است. در پژوهش رسولف و همکارانش در سال ۱۹۸۴، پس از واکسیناسیون گاوهای شیری در ازبکستان در برابر تیلریوز، ۵۳/۹ درصد از گاوهای واکسینه‌شده تب بیش از ۳۹/۵ درجه سانتی‌گراد داشتند که بیشتر از چند روز طول نکشید، اما هیچ‌کدام از گاوها به تیلریوز بالینی مبتلا نشدند، درصورتی‌که ۷/۲۵ درصد گاوهای مورد مطالعه در گسترش خون آن‌ها بعد از واکسیناسیون اجسام پیروپلاسم دیده شد (۱۰). در سال ۲۰۰۱ خطی و همکارانش به بررسی پاسخ ایمنی گوساله‌های جوان واکسینه‌شده در برابر تیلریوز در برابر کنه‌های آلوده پرداختند (۱۱). بدین‌منظور، ۳۸ گوساله زیر ۲ ماه، از یک گاوداری صنعتی انتخاب شدند. ۲۵ حیوان با سویه تخفیف حدت یافته تیلریا آنولاتا واکسینه‌شده و ۱۳ گوساله واکسینه‌نشده نیز به‌عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. تب یا سایر علائم بالینی تیلریوز در هیچ‌یک از گوساله‌های واکسینه‌شده، مشاهده نشد. در گسترش‌های خون ۹ رأس گوساله از ۵۲ گوساله واکسینه‌شده، آلودگی به پیروپلاسم دیده شد. همه حیوانات واکسینه‌شده در برابر چالش کنه‌های آلوده مقاومت کردند. در پژوهشی دیگر سینگ و همکارانش در سال ۲۰۰۱ تأثیر واکسیناسیون

and Kumar, A: Therapeutic management of theileriosis in bovines. J Vet Parasitol. 2019;4(1):12-14.

3-Gubbels, J.M; De Vos, A.P; Van der Weide, M; Viseras, J; Schouls, L.M; De Vries, E; Jongejan, F; Simultaneous detection of bovine Theileria and Babesia species by reverse line blot hybridization. J Clin Microbiol. 1999;37(6):1782-1789.

4-Habibi, G; Esmaeil-Nia, K; Izadi, H; Amarloie, O.A; Afshari, A and Bordbar, N; Immunological analysis of aerobic bioreactor bovine theileriosis vaccine. Iran. J. Parasitol; 2014;9(3):382-93.

5-Soosaraei, M; Haghi, M.M; Etemadifar, F; Fakhar, M; Teshnizi, S.H; Hezarjaribi, H.Z and Asfaram, S; Status of theileriosis among herbivores in Iran: A systematic review and meta-analysis. Vet World. 2018;11(3):332-341.

6-Dobbelaere, D and Heussler, V; Transformation of leukocytes by Theileria parva and T. annulata. Ann Rev Microbiol. 1999;53:1-42

7-Brown, C.G; Control of tropical theileriosis (Theileria annulata infection) of cattle. Parasitol.. 1990;32(1):23-31.

8-d'Oliveira C, Van Der Weide M, Habela MA, Jacquiet P, Jongejan F. Detection of Theileria annulata in blood samples of carrier cattle by PCR. Journal of Clinical Microbiology. 1995 Oct;33(10):2665-9.

9-Hashemi-Fesharki, R; Recent development in the control of Theileria annulata in Iran. Parasit. 1998;5(2):193-196.

10-Rasulov, I; Fish, L and Shkap, V; Vaccination of cattle against tropical theileriosis in Uzbekistan using autochthonous live vaccine. Vaccine. 2008;26 Suppl 6:G14-16.

11-Khatrri, N; Nichani, A; Sharma, R; Khatrri, M and Malhotra, D; Effect of vaccination in the field with the Theileria annulata (Hisar) cell culture vaccine on young calves born during the winter season. Vet Res Com. 2001;25(3):179-88.

12-Singh, S; Khatrri, N; Manuja, A; Sharma, R.D; Malhotra, D.V and Nichani, A.K; Impact of field vaccination with a Theileria annulata schizont cell culture vaccine on the epidemiology of tropical theileriosis. Vet Parasitol. 2001;101(2):91-100.

13-Beniwal, R.K; Sharma, R.D and Nichani, A.K; Determination of the duration of immunity of calves vaccinated with the Theileria annulata schizont cell culture vaccine. Vet Parasitol. 2000 10; 90(1-2):25-35.

14-Habibi, G; A comparative phylogenetic analysis of Theileria spp. using two 18S ribosomal RNA and "Theileria annulata merozoite surface antigen gene sequences. Arch Razi Inst. 2013; 68(1):47-52

15-Santos, M; Soares, R; Costa, P; Amaro, A; Inácio, J; Gomes, J; Revisiting the Tams1-encoding gene as a species-specific target for the molecular detection of Theileria annulata in bovine blood samples. Ticks and tick-borne dis 2013; 4(1-2):72-7

16-Gubbels, M.J; Katzer, F; Hide, G; Jongejan, F and Shiels, B.R; Generation of a mosaic pattern of diversity in the major

نشان داد که ژن Tams-1 دارای تنوع ژنتیکی بسیار زیادی بوده (۱۷،۱۶) و به علت پاره‌ای نتایج منفی آزمایش PCR بر روی نمونه مثبت واقعی، سؤالاتی را درباره مناسب بودن پرایمرهای هدفمند ژن Tams-1 برای شناسایی تیلریا ایجاد کرد، به همین دلیل محققان سعی کردند با طراحی پرایمرهای بهتر این نقیصه را رفع کنند (۱۷). در مطالعات حیوانی و هاشمی فشارکی طی سال‌های ۲۰۰۷ تا ۲۰۱۳ در ایران، نیز در واکنش PCR بر مبنای پرایمرهای جدید بر مبنای ژن (Tams-1) نیز تفاوت ژنتیکی آشکاری از سویه واکسن تیلریا با سویه‌های تیلریا آنولاتا در شرایط مزرعه به دست آوردند (۱۴،۱۸). سانتوز و همکاران در سال ۲۰۱۳ با طراحی پرایمر جدید بر مبنای ژن Tams-1 و با انجام PCR بر روی نمونه‌های مثبت واقعی خون گاوهای آلوده به تیلریا در مقایسه با روش اولیویرا و همکاران و همچنین نتایج مشاهده میکروسکوپی گسترش‌های خون بهبود نتایج بهتر PCR را نشان دادند (۱۵). چند سال بعد گونیم و الفاوی در سال ۲۰۱۴ این دو روش را با روش میکروسکوپی بر روی ۱۳۰ نمونه خون گاو مشکوک به تیلریا بررسی کردند که نتایج مثبت روش اولیویرا در مقایسه با روش سانتوز بیشتر بود. در این مطالعه تعداد قابل توجه از نمونه مثبت با روش میکروسکوپی با هریک از این دو روش مولکولی منفی بودند (۱۹). در مطالعه فیلوژنتیک انجام یافته توسط وانگ و همکاران بر روی ۱۵۴ توالی نوکلئوتیدی ژن Tams-1 تیلریا آنولاتا که در بانک ژنی ثبت شده بودند، نشان‌دهنده تنوع ژنتیکی بالای این ژن از نمونه ارسالی از سه قاره جهان بوده که امکان نتایج متفاوت میکروسکوپی و PCR را ایجاد می‌کند (۱۷)، به همین دلیل لازم است در آینده مطالعات بیشتری در خصوص شناسایی این اجرام پیروپلاسم با روش PCR متفاوت و حساس‌تر انجام گیرد.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ گونه تعارض منافی وجود ندارد.

منابع

- 1-Marcelino, I; De Almeida, A.M; Ventosa, M; Pruneau, L; Meyer, D.F; Martinez, D; Lefrançois, T; Vachiéry, N; Coelho, A.V. Tick-borne diseases in cattle: applications of proteomics to develop new generation vaccines. J. Proteomics. 2012; 75(14):4232-50.
- 2-Nagar, J.K; Gurjar, T; Mali, M.M; Bargujar, J; Meena, O

merozoite-piropasm surface antigen of *Theileria annulata*. *Mol Bio Parasitol*. 2000; 110(1):23-32.

17-Wang, J; Yang, X; Wang, Y; Jing, Z; Meng, K; Liu, J; Guo, H; Xu, R and Cheng, Z; Experimental immunology genetic diversity and phylogenetic analysis of Tams1 of *Theileria annulata* isolates from three continents between 2000 and 2012. *Central Eur J Imanol*, 2014; 39(4):476-84.

18-Hashemi-Fesharki, R; Najjar, E; Bozorgi, S; Esmacil-Nia; K, Habibi, G.R and Bordbar, N; PCR-based detection of *Theileria* infection and molecular characterization of Tams1 *T. annulata* vaccine strain. *Arch Razi Inst*. 2007; 62(2):83-9.

19-Ghoneim, A; El-Fayomy, A. Targeting tams-1 gene results in underestimation of *Theileria annulata* infection in diseased cattle in Egypt. *Acta Parasitol*. 2014; 1;59(1):85-90.







