

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه شهید چمران اهواز

دانشکده دامپزشکی

پایان نامه کارشناسی ارشد انگل شناسی

عنوان:

مطالعه شیوع سرمی آلودگی به نوچه لینگواتولا سراتا در گوسفندان استان

کرمانشاه با روش الایزا

استاد راهنما:

دکتر علیرضا البرزی

استاد مشاور:

دکتر مسعود قربانپور نجف آبادی

دکتر حسین حمیدی نجات

نگارنده:

سپیده نوری

بهمن ماه ۱۳۹۲

## بسمه تعالی

دانشگاه شهید چمران اهواز / دانشکده دامپزشکی

(نتیجه ارزشیابی پایان نامه کارشناسی ارشد)

پایان نامه‌ی خانم: سپیده نوری دانشجوی رشته: انگل شناسی از دانشکده دامپزشکی به شماره

دانشجویی: ۹۰۹۱۱۰۴ تحت عنوان: مطالعه شیوع سرمی آلودگی به نوچه لینگواتولا سراتا درگوسفندان

استان کرمانشاه با روش الیزا ، جهت اخذ مدرک: کارشناسی ارشد انگل شناسی در تاریخ: ۱۳۹۲/۱۱/۲۹

توسط هیئت محترم داوران مورد ارزشیابی قرار گرفت و با درجه : عالی به تصویب رسید.

اعضای هیأت داوران	مرتبہ علمی	سمت	امضاء
دکتر علیرضا البرزی	استادیار	استاد راهنما اول	
دکتر مسعود قربانپور	استاد	استاد مشاور اول	
دکتر حسین حمیدی نجات	دانشیار	استاد مشاور دوم	
دکتر سمیه بهرامی	استادیار	استاد داور	
دکتر داریوش غریبی	استادیار	استاد داور	
دکتر بابک محمدیان	دانشیار	استاد ناظر	
دکتر داریوش غریبی	استادیار	مدیر گروه	
دکتر بابک محمدیان	دانشیار	معاون پژوهشی دانشکده	
دکتر مسعود قربانپور	استاد	مدیر تحصیلات تکمیلی	

## گواهی صحت و اصالت

عنوان پایان نامه: مطالعه شیوع سرمی آلودگی به نوچه *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان استان کرمانشاه با روش الایزا. اینجانب سپیده نوری دانشجوی دوره کارشناسی ارشد رشته انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران به شماره دانشجویی ۹۰۹۱۱۰۴ تحت راهنمایی دکتر علیرضا البرزی و مشاوره ی آقایان دکتر مسعود قربانپور و دکتر حسین حمیدی نجات گواهی می دهم که :

- ۱- تحقیقات ارائه شده در این پایان نامه حاصل مطالعات علمی و عملی شخص اینجانب بوده و صحت و اصالت تمام مطالب مندرج در آن را تأیید می نمایم.
  - ۲- در صورت استفاده از آثار دیگران مشخصات کامل آنها را در منابع ذکر نموده ام.
  - ۳- تاکنون مطالب درج شده در این پایان نامه، توسط اینجانب یا شخص دیگری بمنظور اخذ هرگونه مدرک یا امتیازی به هیچ مرجعی تسلیم نشده و بعد از این نیز نخواهد شد.
  - ۴- در تدوین متن پایان نامه شیوه نامه مصوب دانشکده را رعایت نموده ام.
  - ۵- کلیه حقوق معنوی این اثر به دانشگاه شهید چمران اهواز تعلق داشته و مقالات مستخرج از آن ذیل نام دانشگاه شهید چمران اهواز به چاپ خواهد رسید.
  - ۶- حقوق معنوی تمام افرادی که در تدوین پایان نامه تاثیر گذار بوده اند (اساتید راهنما و مشاور) در مقالات مستخرج از آن رعایت خواهد شد..
  - ۷- در صورت استفاده از موجود زنده یا بافتهای آنها کلیه ضوابط و اصول اخلاقی مندرج در منشور و موازین اخلاق پژوهش مصوب وزارت علوم، تحقیقات و فناوری رعایت شده است.
- در صورت اثبات تخلف از مندرجات فوق، مسئولیت هرگونه پاسخگویی به اشخاص حقیقی و حقوقی و مراجع ذیصلاح برعهده اینجانب بوده و دانشگاه شهید چمران، هیچ مسئولیتی برعهده نخواهد داشت. همچنین در صورت تضییع حقوق و منافع دانشگاه، حق پیگیری موضوع در مراجع ذیصلاح و اعمال قوانین مربوطه برای دانشگاه شهید چمران در حال و آینده محفوظ بوده اینجانب مسئول پرداخت کلیه خسارتهای وارده خواهم بود.

۱۳۹۲/۱۱/۲۹

سپیده نوری

مالکیت نتایج و حق نشر

کلیه ی حقوق معنوی این اثر و محصولات آن (مقالات مستخرج، برنامہ های رایانه ای، نرم افزارها و تجهیزات ساخته شده) به دانشگاه شهید چمران تعلق داشته و بدون اخذ اجازه کتبی از دانشگاه قابل واگذاری به غیر نیست. استفاده از اطلاعات و نتایج این پایان نامه بدون ذکر مرجع مجاز نیست.

تقدیم میکنم به

خداوند...

و پدرم

که همیشه بتوانم راه معنای خود

به یادم

که هرگز آموختن و بی دریغ را تصویر بنشیند...

به خواهرم

که گذشت را واژه بود

باشد که ابدیتی از امید و شادمانی به ما نشان باشد.

به همسر

بخاطر همه ی لحظه های بودنش که همیشگی بود...

باسپاس فراوان از اساتید محترم

جناب آقای دکتر علیرضا البرزی

که با شکیبایی، پشتکار رابه من آموختند و با استوانه‌ای از علم و تجربه مرا صیقل دادند و محنتی ناپذیر در به سرانجام رساندن این پژوهش هدایت کردند. برایشان سلامتی، سعادت و استمرار موفقیت را آرزو میکنم.

جناب آقای دکتر مسعود قربانپور

که با دانش غنی و دقت مثال زدنی صورتان در به سر رساندن این مسیر مریادی دادند. شادمانی و نیک روزی برایشان مستمرباشد.

جناب آقای دکتر حسین حمیدی نجات

که در گذر از این مرحله‌ی علم آموزی با دانش، شیوه و منش نیک تا انتها امیدبخش بودند. موفقیت، شادکامی و سلامتی روز افزون برایشان آرزو میکنم.

جناب آقای دکتر داریوش غیبی و سرکار خانم دکتر سمیه بهرامی

که صادقانه و با حوصله، در جهت پیشبرد بهتر این پژوهش، قبول زحمت فرموده و داوری این پایان نامه رابه عهده گرفتند.

جناب آقای دکتر بابک محمدیان

که منتظر فرموده و نظارت دقیق بر این پایان نامه رابه عهده گرفتند.

در آخر از بابر عزیزیان، فاطمه خواجه و سمیه چمن آرا و تمامی دوستان و بهکلاسی هایم که مریادی کردند سپاس گذارم.

چکیده.....	۱
فصل اول: مقدمه و هدف.....	۲
فصل دوم: مروری بر منابع.....	۵
الف - مقدمه.....	۶
ب - جنس لینگواتولا.....	۷
ب-۱ - طبقه بندی.....	۷
ب-۲ - گونه ها.....	۷
ج - لینگواتولا سراتا.....	۸
ج-۱ - ریخت شناسی.....	۸
ج-۲ - چرخه زندگی.....	۱۰
ج-۳ - همه گیر شناسی.....	۱۲
ج-۴ - انتقال.....	۱۲
ج-۴-۱ - انتقال در انسان.....	۱۲
ج - ۴ - ۱ - ۱ - لینگواتولیا زیس احشایی.....	۱۲
ج-۴-۱-۲ - لینگواتولیا زیس نازوفارنژیال.....	۱۳
ج - ۴ - ۲ - انتقال در میزبان اصلی.....	۱۳



ج-۴-۳- انتقال در میزبان واسط.....	۱۴
ج-۵- علائم و دوره.....	۱۴
ج-۵-۱- علائم درمانگاهی در سگ سانان.....	۱۴
ج-۵-۲- لینگواتولیاژیس احشایی در انسان.....	۱۵
ج-۵-۳- لینگواتولیاژیس نازوفارنژیال در انسان.....	۱۵
ج-۶- تشخیص.....	۱۶
ج-۷- درمان.....	۱۷
ج-۸- اقدامات پیشگیرانه.....	۱۸
د- آزمایش الایزا.....	۱۸
د-۱- انواع روشهای الایزا.....	۱۸
د-۱-۱- الایزای مستقیم.....	۱۸
د-۱-۲- الایزای غیر مستقیم.....	۱۹
د-۱-۳- الایزای ساندویچی.....	۲۰
د-۱-۳-۱- ساندویچ مستقیم.....	۲۰
د-۱-۳-۲- ساندویچ غیر مستقیم.....	۲۰
د-۱-۴- الایزای رقابتی یا مهارى.....	۲۱

د-۲-۲-مراحل یک آزمون الیزا.....	۲۱
د-۲-۱-پوشش دهی.....	۲۱
د-۲-۱-۱-بافر پوشش دهی.....	۲۴
د-۲-۲-فرآیند بلاکینگ.....	۲۵
د-۲-۳-شستشو و بافر شستشو.....	۲۶
د-۲-۴-آماده سازی نمونه ها.....	۲۶
فصل سوم: مواد و روش کار.....	۲۸
الف - مواد و وسایل لازم.....	۲۹
الف - ۱ - وسایل.....	۲۹
الف - ۲ - دستگاه های مورد استفاده.....	۳۰
الف - ۳ - مواد مورد استفاده.....	۳۱
ب - موقعیت جغرافیایی استان کرمانشاه.....	۳۲
ج - روش نمونه گیری از گوسفندان استان کرمانشاه.....	۳۳
د - طرز تهیه آنتی ژن دفعی - ترشحي نوچه های لینگواتولا سراتا.....	۳۴
ه - روش انجام آزمایش الیزا.....	۳۵
ه - ۱ - مراحل الیزا برای بدست آوردن رقت مناسب آنتی ژن، سرم و کنژوگه.....	۳۵

ه - ۲ - انجام آزمایش الیزا برای نمونه‌های مورد بررسی.....	۳۶
و- روش تعیین حد آستانه و آزمون آماری.....	۳۷
<b>فصل چهارم: نتایج.....</b>	۳۸
الف- نتایج آزمایش نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده با آزمون الیزا برحسب مناطق مختلف.....	۳۹
ب- نتایج آزمایش نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده با آزمون الیزا برحسب جنس.....	۴۱
ج- نتایج آزمایش نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده با آزمون الیزا برحسب سن.....	۴۲
<b>فصل پنجم: بحث و نتیجه گیری.....</b>	۴۳
پیشنهادات.....	۵۲
<b>فهرست منابع.....</b>	۵۳
خلاصه انگلیسی.....	۶۱

- ۴-۱: شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در گوسفندان استان کرمانشاه به روش الیزا برحسب منطقه..... ۴۰
- ۴-۲: شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در گوسفندان استان کرمانشاه به روش الیزا برحسب جنس..... ۴۱
- ۴-۳: شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در گوسفندان استان کرمانشاه به روش الیزا برحسب سن..... ۴۲

- ۱-۲: نمای شماتیک انگل لینگواتولا سراتا..... ۹
- ۲-۲: نمای شماتیک موقعیت قدامی نوچه لینگواتولا سراتا..... ۹
- ۳-۲: چرخه زندگی لینگواتولا سراتا..... ۱۱
- ۱-۳: جغرافیای شهرستان های استان کرمانشاه..... ۳۲

- نمودار ۴-۱. میزان فراوانی آلودگی به نوجه لینگواتولا سراتا درگوسفندان منطقه کرمانشاه برحسب منطقه.....۴۰
- نمودار ۴-۲. شیوع سرمی آلودگی به نوجه لینگواتولا سراتا درگوسفندان منطقه کرمانشاه برحسب جنس.....۴۱
- نمودار ۴-۳. شیوع سرمی آلودگی به نوجه لینگواتولا سراتا درگوسفندان منطقه کرمانشاه برحسب سن.....۴۲

## چکیده

نام خانوادگی: نوری	نام: سپیده	شماره دانشجویی: ۹۰۹۱۱۰۴
عنوان پایان نامه: مطالعه شیوع سرمی آلودگی به نوچه لینگواتولا سراتا در گوسفندان استان کرمانشاه با روش الایزا		
اساتید راهنما: دکتر علیرضا البرزی		اساتید مشاور: دکتر مسعود قربانپور، دکتر حسین حمیدی نجات
درجه تحصیلی: کارشناسی ارشد	رشته: انگل شناسی	گرایش: دامپزشکی
دانشگاه: شهید چمران اهواز	دانشکده: دامپزشکی	گروه: پاتوبیولوژی
تاریخ دانش آموختگی: ۱۳۹۲/۱۱/۲۹		تعداد صفحات: ۶۱
کلمات کلیدی: لینگواتولا سراتا، گوسفند، آنتی ژن دفاعی ترشحی، الایزا، کرمانشاه		
<p>لینگواتولا سراتا، یک انگل شبه بندپاست که در دسته پیتاستومیدا قرار دارد. انگل بالغ در مجاری تنفسی سگ سانان (میزبان اصلی) و مراحل لاروی آن در احشاء علفخواران نظیر گوسفند (میزبانان واسط) زندگی می کند. این مطالعه به منظور بررسی سرولوژی میزان شیوع انگل لینگواتولا سراتا در گوسفندان استان کرمانشاه و با روش الایزای طراحی شده انجام گرفت. نمونه گیری از خون گوسفندان ۵ منطقه (شهرستان) استان کرمانشاه به صورت تصادفی انجام گرفت. نمونه ها با روش الایزا و با استفاده از آنتی ژن دفاعی - ترشحی نوچه های لینگواتولا سراتا حاصل از نگهداری آنها در محیط RPMI و کنژوگه ضد ایمونوگلوبولین G گوسفندی انجام شد. نتایج با توجه به جنس، منطقه و سن (<math>1 &lt; \text{سن} &lt; 2</math>، <math>3 &lt; \text{سن} &lt; 4</math> و <math>\text{سن} \geq 3</math> سال) دسته بندی شد و با آزمون مربع کای و نرم افزار SPSS مورد آنالیز آماری قرار گرفت. از مجموع ۴۵۰ نمونه سرم گوسفندی مورد بررسی ۱۲۵ نمونه (۲۷/۸٪) از لحاظ سرولوژی مثبت بوده اند. از کل تعداد ۱۲۵ نمونه سرم آلوده، ۶۸ نمونه (۳۰/۲٪) مربوط به جنس نر و ۵۷ نمونه (۲۵/۳٪) مربوط به جنس ماده آلودگی به انگل را نشان دادند. در مقایسه نتایج بین میزان آلودگی در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی داری مشاهده نگردید (<math>p &gt; 0/05</math>). در گروه های سنی مختلف اختلاف معنی داری در میزان آلودگی با افزایش سن مشاهده گردید (<math>p &lt; 0/05</math>).</p> <p>میزان آلودگی در گوسفندان کرمانشاه (۲۵٪)، اورامانات (پاوه-روانسر-جوانرود) (۴۵/۳٪)، هرسین (۲۲/۲٪)، گیلان غرب (۳۳٪) و اسلام آباد غرب (۹/۵٪) بود. در شیوع آلودگی در این مناطق اختلاف معنی داری مشاهده شد (<math>p &lt; 0/05</math>). با توجه به شیوع نسبتاً بالای آلودگی لینگواتولا سراتا در بین گوسفندان که به طور غیر مستقیم نشان دهنده آلودگی سگ های منطقه به این انگل می باشد. به نظر می رسد بایستی برنامه های کنترلی در میزبانان واسط و اصلی مد نظر قرار داده شود.</p>		

## فصل اول: مقدمه و هدف



## مقدمه و هدف

پنتاستومیدا گروهی از بندپایان هستند که بیشتر به آراکنیدها نزدیک هستند. *لینگواتولا سراتا* انگلی است که در خانواده لینگواتولیده از این گروه قرار دارد. انگل بالغ به مخاط مجرای تنفسی سگ‌سانان (میزبان اصلی) می‌چسبد. تخم‌ها از مجرای تنفسی میزبان اصلی خارج می‌شوند و زمانی که توسط یک میزبان واسط بلعیده شوند، درگره‌های لنفاوی مزانتر، کبد و سایر اندام‌ها جایگزین می‌شوند و پس از چندبار پوست‌اندازی به مرحله نوچه‌ای می‌رسند که این مرحله عفونت زاست. حیواناتی نظیر بز، گوسفند، گاو، خوک، اسب و خرگوش و شتر ممکن است میزبان واسط آن قرار گیرند (البرزی و درخشنده، ۱۳۸۷)، (بهرامی و همکاران، ۱۳۹۰)، (یخچالی و همکاران، ۱۳۸۸)، (یخچالی و همکاران، ۲۰۰۸)، (نورالهی فرد و همکاران، ۲۰۱۰)، (Soulsby، ۱۹۸۲)، (شاکریان و همکاران، ۲۰۰۸).

با خوردن احشاء آلوده میزبان واسط، توسط میزبان اصلی سیر تکاملی ادامه می‌یابد. *لینگواتولا سراتا* یکی از انگل‌های زئونوتیک محسوب می‌شود و انسان ممکن است به هر دو مرحله تخم و نوچه آن آلوده شود. آلودگی انسان به مرحله تخم در اثر مصرف میوه و سبزیجات و منابع آب آلوده به تخم انگل حاصل شده که سبب ایجاد لینگواتولوز احشائی می‌شود و آلودگی به مرحله نوچه‌ای که متعاقب خوردن کبد، ریه و سایر احشاء آلوده به شکل خام یا نیم پخته ایجاد می‌شود به سندرم هالزون یا لینگواتولوزیس نازوفارنژیال معروف است

(سیاوشی و همکاران، ۲۰۰۲). بیماری در حیوانات میزبان واسط از جمله گوسفند فاقد نشانه‌های بالینی است (رفیعی و راک، ۱۳۶۴)، (Soulsby، ۱۹۸۲).

مطالعاتی که در مورد فراوانی و شیوع آلودگی به این انگل تاکنون در میزبان‌های اصلی و واسط انجام گرفته عمدتاً با روش بررسی‌های کشتارگاهی انجام شده است. بنابراین با توجه به اهمیت آن در حفظ سلامت و بهداشت انسان و میزبان اصلی، آگاهی از میزان آلودگی‌های مناطق مختلف کشور مهم و ضروری به نظر می‌رسد. از آنجا که در پایان نامه‌ی آقای مهدی زاده در طراحی و ارزیابی الایزا با آنتی‌ژن‌های دفعی - ترشحي نوچه *لینگوتولاسراتا* نتایج حساسیت و ویژگی مناسبی در مقایسه با آنتی‌ژن‌های پیکری نشان داده شد و در نتیجه امکان تشخیص آلودگی به این انگل در دام زنده (گوسفند) به منظور مطالعات اپیدمیولوژیک فراهم گردید، بنابراین هدف از انجام این طرح، بررسی میزان شیوع آلودگی به *لینگوتولاسراتا* در گوسفندان استان کرمانشاه به روش الایزا می باشد.

سپیده نوری

۱۳۹۲/۱۱/۲۹

## فصل دوم: مروری بر منابع

## الف- مقدمه

پتاستومیلا گروهی از انگل های آلوده کننده دستگاه تنفس مهره داران هستند ( Paré, ۲۰۰۸). آنها ترکیبی از ویژگی های آنالیدها و آراکنیدها را دارا می باشند. جایگاه فیلوژنتیک پتاستومیلا، تا مدت طولانی دست مایه مشاجره بود (Almeida and Christoffersen, ۱۹۹۹). اگر چه موقعیت این گروه در درخت جانوران باقی مانده است این موضوع تا حدودی بحث برانگیز است، طیف وسیعی از داده ها در حال حاضر نشان می دهد که این گروه در گروه بندپایان و احتمالاً سخت پوستان قرار می گیرد (Abele و همکاران، ۱۹۸۹)، (Lavrov و همکاران، ۲۰۰۴)، (Chen و همکاران، ۲۰۱۰)، (Almeida و همکاران، ۲۰۰۸). فسیل های سخت پوستان پتاستوم مربوط به کامبرین جمع آوری شده اند، مطابق با تخمین های مولکولی اصل و نسب پتاستوم از حدود یک و نیم میلیارد سال قبل گسترش یافته است (Sanders and Lee, ۲۰۱۰).

پتاستومیلا دارای بدن های صاف، نرم هستند و اندازه طول آن ها ۲ تا ۱۵ سانتی متر است. ماده ها بسیار بزرگتر از نرها هستند. بالغین همه گونه های پتاستومیلا را می توان به راحتی بر اساس دوجفت قلاب منقبض مشخص روی هردو طرف دهان از انگل های دیگر شناسایی کرد ( Paré, ۲۰۰۸). در حدود ۱۱۰ تا ۱۳۰ گونه پتاستوم از جمله چند گونه مهاجم انسان شرح داده شده است (Riley, ۱۹۸۶)، (Margulis and