شیوع سرمی آلودگی به نوچه‌ی *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان غرب ایران

علیرضا البرزی[۱*]، مسعود قربانپور[۲]، حسین حمیدی‌نجات[۳]، سمیه چمن‌آرا[۴] و سپیده نوری[۴]

تاریخ دریافت: ۹۳/۱۲/۳ تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۷

خلاصه

لینگواتولا سراتا، انگل زئونوزی است که بالغ آن در مجاری تنفسی سگسانان و مراحل لاروی در احشاء علفخواران زندگی می‌کند. این مطالعه برای تعیین میزان شیوع *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان غرب ایران و با روش الایزا انجام گرفت. تعداد ۱۰۴۸ نمونه خون از گوسفندان دو استان غربی ایران، ایلام و کرمانشاه و از هر استان (حداقل از ۵ شهر) گرفته شد. سرمها با الایزا و استفاده از آنتی‌ژن دفعی - ترشحی نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* و کنژوگه ضد IgG گوسفندی آزمایش شد. داده‌ها با توجه به جنس، مناطق، سن (۲>-۱، ۳>-۲ و ۴≤-۳ سال) و وجود سگ در گله با نرم‌افزار SPSS مورد آنالیز آماری قرار گرفت. از مجموع ۱۰۴۸ نمونه سرم از گوسفندان غرب ایران ۳۱۷ نمونه (۳۰/۵ درصد) و به تفکیک از ۴۵۰ نمونه از گوسفندان استان کرمانشاه ۱۲۵ نمونه (۲۷/۸ درصد) و از ۵۹۸ نمونه از استان ایلام ۱۹۲ نمونه (۳۲/۱ درصد) به *لینگواتولاسراتا* آلوده بودند. در رابطه با شیوع آلودگی و مناطق تا حدی اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۱). از کل تعداد ۵۲۳ نمونه از جنس نر، ۱۶۵ نمونه (۳۱/۵ درصد) و از ۵۲۵ نمونه از جنس ماده، ۱۵۲ نمونه (۲۸/۹ درصد) آلوده بودند. بین میزان آلودگی و جنسیت اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (P>۰/۰۵). کم‌ترین میزان شیوع در گروه سنی ۲>-۱ سال با ۱۲/۱ درصد و بیش‌ترین میزان در گروه سنی ۴≤-۳ سال با ۴۹/۳ درصد مشاهده شد. در گروه‌های سنی اختلاف معنی-داری در میزان آلودگی با افزایش سن مشاهده گردید (P<۰/۰۱). در گله‌های دارا و فاقد سگ به ترتیب میزان آلودگی ۳۹/۸ درصد و ۲۳/۴ درصد نشان داده شد. بین میزان آلودگی و بودن سگ در گله اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (P<۰/۰۱). این اولین گزارش در بررسی آلودگی گوسفند به روش الایزا است. با توجه به شیوع نسبتاً بالای آلودگی *لینگواتولا سراتا* در بین گوسفندان که به طور غیرمستقیم نشان دهنده‌ی آلودگی سگ‌های منطقه به این انگل می‌باشد، اجرای برنامه‌های کنترلی در میزبانان واسط و اصلی ضروری به نظر می‌رسد.

کلمات کلیدی: گوسفند، *لینگواتولا سراتا*، آنتی‌ژن، الایزا، ایران

مقدمه

لینگواتولا سراتا انگلی از خانواده‌ی لینگواتولیده و رده‌ی پنتاستومیدا است . انگل‌های بالغ در مجاری تنفسی گوشتخوارانی چون سگ، روباه، گربه، (میزبان اصلی) زندگی می‌کنند. انسان و علفخواران (میزبانان واسط) با خوردن تخم حاوی نوزاد انگل مبتلا می‌شوند و نوزاد آن در احشاء آن‌ها (گره‌های لنفاوی مزانتر، کبد و ریه) به نوچه (عفونت‌زا) تبدیل می‌شود (Shakerian et al. 2008, Tajik et al. 2006). میزبان اصلی با خوردن احشاء آلوده، مبتلا می‌شود. *لینگواتولا سراتا* یکی از عوامل زئونوز و عامل لینگواتولوز احشائی (با خوردن تخم) و نیز لینگواتولوزیس نازوفارنژیال یا سندرم هالزون (با خوردن نوچه) در انسان است (Koehsler et al. 2011, Shakerian et al. 2008, Soulsby 1982). با این که آلودگی *لینگواتولا سراتا* در حیوانات میزبان واسط از جمله

[۱*] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز E-mail: Alirezaalborzi@yahoo.com (نویسنده‌ی مسئول)

[۲] استاد گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۳] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز

[۴] دانش‌آموخته‌ی کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهیدچمران‌اهواز

گوسفند ضایعات مختلفی در گره‌های لنفی، کبد و ریه ایجاد می‌کند (Nourollahi Fard et al. 2010, Schmidt and Roberts 2009) ولی در این حیوانات نشانه‌ی بالینی مشخصی دیده نمی‌شود (Tajik et al. 2006). مطالعاتی که تا کنون در ایران در مورد فراوانی و شیوع آلودگی به این انگل انجام گرفته در میزبان‌های اصلی (سگ) با روش کالبدگشایی (Nematollahi et al. 2005, Rezaei et al. 2011) یا تهیه‌ی مقاطع پاتولوژیک (Esmailzadeh et al. 2008) و در میزبان‌های واسط به طور عمده در نشخوارکنندگان با بررسی‌های کشتارگاهی بوده است (البرزی و درخشنده ۱۳۸۷، Alborzi et al. 2013, Bahrami et al. 2010, Nourollahi Fard et al. 2011, Shekarforoush et al. 2004, Tavassoli et al. 2007, Yakhchali et al. 2009). به علت اهمیت این انگل در حفظ سلامت و بهداشت انسان، میزبان اصلی و واسط، آگاهی از میزان آلودگی‌های مناطق مختلف کشور جهت اجرای برنامه‌های کنترلی و درمانی ضروری به نظر می‌رسد. با توجه به مطالعه‌ی قبلی که با طراحی و ارزیابی الایزای غیر مستقیم و با استفاده از آنتی‌ژن‌های دفعی- ترشحی نوچه‌ی *لینگواتولا سراتا* در مقایسه با آنتی‌ژن‌های پیکری آن، حساسیت و ویژگی مناسب و به ترتیب ۸۹ درصد، ۹۳/۸ درصد را نشان داد شد (البرزی و همکاران ۱۳۹۴)، مطالعه‌ی حاضر به منظور آگاهی از میزان شیوع سرمی آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان غرب ایران و به روش الایزا انجام گرفت. نتایج یافته‌های این مطالعه می‌تواند مورد استفاده سازمان و ادارات دامپزشکی مسئول برنامه‌ریزی، کنترل و پیش‌گیری بیماری‌های انگلی قرار گیرد.

مواد و روش کار

از فروردین تا شهریور ماه ۱۳۹۲ از گوسفندان دو استان غربی کشور (ایلام و کرمانشاه) و از هر استان از ۶-۵ منطقه (شهرستان) و در هر منطقه از ۱۰-۵ گله نمونه‌ی خون گرفته شد. در استان کرمانشاه از گوسفندان شهرستان‌های (کرمانشاه، بیستون، هرسین، گیلان‌غرب، اسلام‌آبادغرب و منطقه‌ی اورامانات (روانسر، پاوه و جوانرود)، در استان ایلام از گوسفندان شهرستان‌های (ایلام، آبدانان، سیروان، دهلران و مهران) به صورت تصادفی با استفاده از لوله‌های ونوجکت از ورید وداج خون‌گیری به عمل آمد. نمونه‌های گرفته شده از استان ایلام تا حد امکان بر اساس فصل (بهار، تابستان و پائیز) دسته‌بندی شد. در مجموع ۱۰۴۸ نمونه خون از گوسفندان منطقه‌ی غرب ایران (۴۵۰ نمونه از استان کرمانشاه و ۵۹۸ نمونه از استان ایلام) گرفته شد. کلیه‌ی نمونه‌ها با استفاده از یخ خشک به آزمایشگاه بخش انگل‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی اهواز انتقال داده شدند. بعد از جداسازی، سرم نمونه‌ها به میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی-لیتری منتقل و با ثبت مشخصات در فریزر ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند.

جهت تهیه‌ی آنتی‌ژن دفعی- ترشحی نوچه‌های *لینگواتولا سراتا*، با مراجعه به کشتارگاه، گره‌های لنفی مزانتری تعدادی از گوسفندان کشتار شده جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شد. گره‌های لنفی به روش ماکروسکوپی یا با استفاده از لوپ از نظر وجود نوچه‌ها (نوزادها) بررسی شدند. نوچه‌ها، پس از جداسازی و شمارش، در پلیت‌های حاوی سرم فیزیولوژی قرار داده شدند. نوچه-های زنده جمع آورده شده، بعد از ۴ بار شستشو با سرم فیزیولوژی و ۴ بار با بافر فسفات آنتی‌بیوتیک‌دار، (mM ۱۵۰، PBS با pH = ۷/۲)، تعداد ۲۰۰-۱۰۰ عدد از آن‌ها در ۱۰- ۵ میلی‌لیتر از محیط کشت (RPMI-1640) در ظرف مخصوص، در گرم‌خانه (انکوباتور) و در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد، به مدت ۲۴ ساعت نگهداری شد (البرزی و همکاران ۱۳۹۴). پس از آن نوچه‌ها از محیط خارج و محتویات پلیت با فیلتر ۰/۲ میکرون پالایش گردیده، غلظت پروتئین آن به روش برادفورد سنجیده شده و در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شد.

در مجموع ۱۰۴۸ نمونه خون از گوسفندان منطقه‌ی غرب ایران (۴۵۰ نمونه از ۶ منطقه‌ی استان کرمانشاه و ۵۸۹ نمونه از ۵ منطقه‌ی استان ایلام) به روش الایزا و با

استفاده از مناسب‌ترین رقت آنتی‌ژن دفعی ترشحی، سرم و کنژوگه به صورت زیر مورد آزمایش قرار گرفتند:

برای پوشاندن هر میکروپلیت، در چاهک‌ها، ۷۵ میکرولیتر از آنتی‌ژن با رقت ۱:۳۶ (۳۰/۲ میکروگرم در میلی‌لیتر) ریخته شده و به مدت یک شب در یخچال ۴+ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شد. پس از ۳ بار شستشوی میکروپلیت با محلول PBS، هر چاهک پلیت با ۲۰۰ میکرولیتر بلوک کننده (شیر پس چرخ ۷ درصد) پر شد و پلیت دو ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. پس از ۳ بار شستشوی پلیت، نمونه‌های سرم با رقت ۱:۲۰ به چاهک‌ها اضافه و به مدت ۱ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد. نمونه‌های سرم شاهد مثبت از خون گوسفندانی که بعد از ذبح در کشتارگاه، در غدد لنفاوی آن‌ها نوچه‌های *لینگواتولا سراتا* مشاهده شده بود و در طراحی قبلی کیت الایزا جذب نوری بالایی را داشت انتخاب شد (البرزی و همکاران ۱۳۹۴). نمونه‌های سرم شاهد منفی نیز از نمونه‌های سرم بره‌های ۲ و ۳ ماهه که جذب نوری کمی را داشته و منفی در نظر گرفته شده بودند استفاده شد. در مرحله‌ی بعدی پس از ۴ بار شستشو (۲ بار با PBS توئین و دو بار با PBS)، مقدار ۷۵ میکرولیتر از رقت ۱:۸۰۰۰ کنژوگه پر اکسیداز ضد IgG گوسفند (Sigma، آمریکا) به چاهک اضافه و یک ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده و دوباره پلیت ۳ بار شستشو داده شد، سپس ۷۵ میکرولیتر محلول کروموژن و سوبسترای مربوطه (H_2O_2+TMB) (مرک، آلمان) اضافه و پس از ۱۵ دقیقه، توقف واکنش با محلول اسید کلریدریک ۱۰ درصد انجام شد. جذب نوری نمونه‌ها در دستگاه خوانشگر الایزا در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده و ثبت شد.

دو برابر میانگین جذب نوری (OD) نمونه‌های منفی در هر پلیت محاسبه و به عنوان نقطه‌ی برش (کات آف) در نظر گرفته شد. پس از تعیین میزان آلودگی، یافته‌های مربوطه با توجه به سن، جنس، منطقه‌های مختلف و بود و نبود سگ در گله به منظور تعیین ارتباط آن‌ها با میزان آلودگی با نرم‌افزار آماری SPSS و با آزمون مربع کای Chi-square و رگرسیون لاجستیک و لاجستیک چند متغیره مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفتند.

نتایج

چنانچه در جدول ۱ نشان داده شده است، از مجموع ۱۰۴۸ نمونه سرم از گوسفندان منطقه‌ی غرب ایران ۳۱۷ نمونه (۳۲/۲ درصد) و به تفکیک استانی از ۴۵۰ نمونه سرم از گوسفندان استان کرمانشاه ۱۲۵ نمونه (۲۷/۸ درصد) و از ۵۹۸ نمونه از استان ایلام ۱۹۲ نمونه (۳۲/۱ درصد) به *لینگواتولا سراتا* آلوده بودند. همان طور که در نتایج مشخص است بین شیوع آلودگی به انگل *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان دو استان ایلام و کرمانشاه تفاوت معنی‌داری آماری وجود ندارد ($p=۰/۱۳۱$). در استان کرمانشاه بیش‌ترین میزان شیوع در گوسفندان مناطق شمالی استان (اورامانات با ۴۵/۳ درصد) و کم‌ترین میزان شیوع در منطقه‌ی جنوبی (اسلام‌آباد غرب با ۹/۵ درصد) مشاهده شد. نتایج بررسی آزمون مربع‌کای نشان می‌دهد بین شهرستان‌های استان کرمانشاه از لحاظ شیوع آلودگی به *لینگواتولا سراتا* تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p\leq۰/۰۱$). در استان ایلام بیش‌ترین میزان شیوع به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان مناطق جنوبی استان (دهلران و آبدانان به ترتیب با ۴۹/۰ و ۴۰/۸ درصد) و کم‌ترین میزان شیوع در منطقه‌ی شمال غربی (ایلام با ۱۸ درصد) مشاهده شد، که نتایج حاکی از آن است که بین شهرستان‌های استان ایلام نیز از لحاظ شیوع آلودگی به *لینگواتولا سراتا* تفاوت معنی‌دار وجود دارد ($p\leq۰/۰۱$). همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، شیوع آلودگی در جمعیت گوسفندان غرب کشور با ۹۵ درصد اطمینان در فاصله (۳۳-۲۷/۵ درصد) و این درصد شیوع در استان ایلام در فاصله (۳۵/۸-۲۸/۴ درصد) و در استان کرمانشاه در فاصله (۳۱/۹-۲۳/۶ درصد) قرار گرفته است.

جدول ۱: شیوع سرمی آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان غرب ایران به روش الایزا بر حسب منطقه

استان	شهرستان	تعداد	تعداد آلوده (٪)	حداکثر فاصله ٪	حداقل فاصله ٪	X^2	p
ایلام	ایلام	۱۲۲	۲۲ (۱۸)	۲۴/۹	۱۱/۲	۴۰/۴۲	۰/۰۰۱
	آبدانان	۱۲۰	۴۹ (۴۰/۸)	۴۹/۶	۳۲		
	سیروان	۱۲۰	۳۴ (۲۸/۳)	۳۶/۴	۲۰/۳		
	دهلران	۱۱۶	۵۷ (۴۹)	۵۸/۲	۴۰		
	مهران	۱۲۰	۳۰ (۲۵)	۳۲/۷	۱۷/۳		
کرمانشاه	کرمانشاه	۱۰۸	۲۷ (۲۵)	۳۳/۲	۱۶/۸	۲۵/۴۲	۰/۰۰۱
	اورامانات	۸۶	۳۹ (۴۵/۳)	۵۵/۹	۳۴/۸		
	هرسین	۹۹	۲۲ (۲۲/۲)	۳۰/۴	۱۴		
	گیلانغرب	۹۴	۳۱ (۳۳)	۴۲/۵	۲۳/۵		
	اسلام آباد	۶۳	۶ (۹/۵)	۱۶/۸	۲/۳		
استان‌ها	ایلام	۵۹۸	۱۹۲ (۳۲/۱)	۳۵/۸	۲۸/۴	۲/۲۸	۰/۱۳۱
	کرمانشاه	۴۵۰	۱۲۵ (۲۷/۸)	۳۱/۹	۲۳/۶		
کل منطقه		۱۰۴۸	۳۱۷ (۳۰/۲)	۳۳	۲۷/۵		

جدول ۲: شیوع سرمی آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان غرب ایران برحسب جنسیت، وجود سگ در گله و سن

متغیر	گروه	ایلام		کرمانشاه		غرب	کشور	X^2	p
		تعداد	تعداد آلوده(٪)	تعداد	تعداد آلوده(٪)	تعداد کل	تعداد آلوده(٪)		
جنسیت	نر	۲۹۸	۹۷ (۳۲/۵)	۲۲۵	۶۸ (۳۰/۲)	۵۲۳	۱۶۵(۳۱/۵)	۱/۰۱	۰/۳۱۳
	ماده	۳۰۰	۹۵ (۳۱/۷)	۲۲۵	۵۷ (۲۵/۳)	۵۲۵	۱۵۲(۲۸/۹)		
سگ در گله	بله	۱۵۸	۹۴ (۵۹/۵)	۲۸۸	۹۷ (۳۳/۷)	۴۳۷	۱۷۴(۳۹/۸)	۳۲/۵۱	۰/۰۰۱
	خیر	۴۴۰	۹۸ (۲۲/۳)	۱۶۲	۲۸ (۱۷/۳)	۶۱۱	۱۴۳(۲۳/۴)		
سن	۱ –<۲	۶۲	۹ (۱۴/۵)	۵۴	۵ (۲۹/۳)	۱۱۶	۱۴ (۱۲/۱)	۱۴۰/۴۰	۰/۰۰۱
	۲ –<۳	۲۱۵	۵۰ (۲۳/۳)	۲۲۱	۳۸ (۱۷/۲)	۴۳۶	۸۸ (۲۰/۲)		
	۳ ≥ ۴	۳۲۱	۱۳۳ (۴۱/۴)	۱۷۵	۸ (۴۶/۹)	۴۹۶	۲۱۵(۴۳/۳)		

چنانچه در جدول ۲ مشاهده می‌شود، از مجموع ۱۰۴۸ نمونه سرم بر اساس جنسیت ۱۶۵ نمونه (۳۱/۵ درصد) از ۵۲۳ گوسفند نر و ۱۵۲ نمونه (۲۸/۹ درصد) از ۵۲۵ گوسفند ماده‌ی منطقه‌ی غرب به انگل *لینگواتولا سراتا* آلوده بودند که در شیوع آلودگی در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید ($p>۰/۰۵$)، اما در شیوع آلودگی براساس وجود سگ در گله تفاوت معنی-داری به دست آمد ($p\leq۰/۰۱$). به طوری که ۱۷۴ نمونه (۳۹/۸ درصد) از گوسفندان واجد سگ در گله و ۱۴۳ نمونه (۲۳/۴ درصد) از گوسفندان فاقد سگ در گله به *لینگواتولا سراتا* آلوده بودند. همچنان که در جدول ۲ نیز مشخص است با افزایش سن میزان شیوع آلودگی به *لینگواتولاسراتا* بالاتر رفته است. این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار ($p\leq۰/۰۱$) می‌باشد.

به طور کلی نتایج آزمون مربع کای در رابطه با متغیرهای مختلف نشان داد که از لحاظ آماری در سطح

P<۰/۰۱ بین سن، وجود سگ در گله و تاحدی شهرستان‌های مورد مطالعه با شیوع سرمی آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان اختلاف معنی‌داری وجود دارد، اما بین جنسیت و میزان آلودگی رابطه‌ی معنی‌داری به دست نیامد.

جدول ۳: تحلیل رگرسیون لجستیک چندمتغیره مربوط به آلودگی به *لینگواتولا سراتا* با کنترل سن

	متغیر	β	خطای معیار β	P – value	Odds Ratio	حدود اطمینان ۰/۹۵
استان ایلام	ایلام	−۰/۷۵	۰/۴۹	۰/۱۲۸	۰/۴۶	۰/۱۷ – ۱/۲۴
	آبدانان	−۱/۱۷	۰/۴۹	۰/۰۱	۰/۳۰	۰/۱۱ –۰/۸۰
	سیروان	−۱/۳۷	۰/۴۸	۰/۰۰۴	۰/۲۵	۰/۰۹ – ۰/۶۴
	دهلران	−۱/۶۹	۰/۴۸	۰/۰۰۱	۰/۱۸	۰/۰۷ – ۰/۴۷
	مهران	۰/۱۸	۰/۵۳	۰/۷۳۵	۱/۱۹	۰/۴۱ –۳/۴۳
استان کرمانشاه	کرمانشاه	۱/۰۹	۰/۵۶	۰/۰۵۱	۳/۰۱	۰/۹۹ – ۹/۰۳
	اورامانات	۰/۳۱	۰/۵۶	۰/۵۸۱	۱/۳۶	۰/۴۵ –۴/۱۰
	هرسین	۱/۱۶	۰/۵۶	۰/۰۴	۳/۲۱	۱/۰۵ – ۹/۷۷
	گیلانغرب	−۱/۲۶	۰/۴۸	۰/۰۱	۰/۲۸	۰/۱۰ – ۰/۷۴
	اسلام آباد	–	–	–	–	–
جنسیت	نر	−۰/۰۷	۰/۱۴	۰/۵۹	۰/۲	۰/۶۹ –۱/۲۳
	ماده	–	–	–	–	–
سگ در گله	بله	−۱/۹۸	۰/۲۷	۰/۰۰۱	۰/۱۳	۰/۰۸ – ۰/۲۳
	خیر	–	–	–	–	–

نتایج آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که از بین متغیرها، تنها سن و وجود سگ در گله تأثیر بسیار قوی بر احتمال آلودگی گوسفندان با انگل دارد اما اثر متغیرهای چون جنسیت (نر و ماده) قابل چشم پوشی است. علاوه بر این نتایج آزمون لجستیک چند متغیره با کنترل سن به عنوان متغیر مخدوش کننده نیز نشان داد که رابطه‌ی آلودگی با وجود سگ در گله، کاملاً معنی‌دار بوده و شانس آلودگی را افزایش می‌دهد و با نوع منطقه (شهرستان) می‌تواند تا حدودی رابطه‌ی معنی‌داری داشته باشد. در صورتی که با جنسیت رابطه‌ی معنی‌داری نداشته و به بیان دیگر جنسیت شانس آلودگی را افزایش نمی‌دهد (جدول ۳).

با توجه به جدول ۴، از تعداد ۵۹۸ نمونه مورد بررسی در استان ایلام در سه فصل بهار، تابستان و پاییز، بیش‌ترین میزان آلودگی در فصل بهار (۴۳/۶ درصد) و کم‌ترین آن در فصل تابستان (۱۸/۲ درصد) دیده شد. بین فصل و میزان آلودگی از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری در سطح P<۰/۰۱ مشاهده شد.

جدول ۴: شیوع سرمی آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان استان ایلام به روش الایزا برحسب فصل

تعداد / فصل	تعداد کل نمونه	تعداد آلوده	درصد آلودگی	تعداد غیرآلوده	درصد غیرآلوده
بهار	۲۰۴	۸۹	۴۳/۶	۱۱۵	۵۶/۴
تابستان	۱۹۲	۳۵	۱۸/۲	۱۵۷	۸۱/۸
پاییز	۲۰۲	۶۸	۳۳/۷	۱۳۴	۶۶/۳
جمع	۵۹۸	۱۹۲	۳۲/۱	۴۰۶	۶۷/۹

بحث

لینگواتولا سراتا انگلی با انتشار جهانی است، انگل بالغ در سگ‌ها (میزبان اصلی) و حتی نوچه‌ی آن در ریه‌ی گربه می‌توانند سبب بیماری تنفسی با نشانه‌های درمانگاهی شود (Esmaeilzadeh et al. 2008, Soulsby 1982).

اگرچه مراحل لاروی به ویژه نوچه‌ای این انگل در نشخوارکنندگان از جمله گوسفند ضایعات مختلفی در گره‌های لنفی، کبد و ریه ایجاد می‌کند و می‌تواند سبب کاهش تولیدات دامی شود (Nematollahi et al. 2005, Saiyari et al. 1996)، اما آلودگی به آن در این حیوانات فاقد نشانه‌ی درمانگاهی است. مطالعه‌ی قبلی ما نشان داد که الایزا و با استفاده از مواد دفعی ترشحی نوچه‌ی *لینگواتولا سراتا* روش مناسبی با حساسیت و ویژگی به ترتیب ۸۹ و ۹۳/۸ درصد برای تشخیص آلودگی به انگل در گوسفندان می‌باشد (البرزی و همکاران ۱۳۹۴). در مطالعه‌ی حاضر آلودگی گوسفندان منطقه‌ی غرب ایران به انگل *لینگواتولا سراتا* با روش الایزا ۳۰/۵ درصد و به تفکیک استانی در گوسفندان استان کرمانشاه ۲۷/۸ و استان ایلام ۳۲/۱ درصد تعیین شد. در شیوع آلودگی در دو جنس نر و ماده اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). در صورتی که در رابطه با سن گوسفندان اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۱). با این که بین شیوع آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان دو استان ایلام و کرمانشاه تفاوت معنی‌داری آماری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵)، اما در رابطه با شیوع آلودگی در گوسفندان برخی از شهرستان‌های گوناگون (۶- ۵ منطقه) هر استان اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (P<۰/۰۱). این تفاوت ممکن است عمدتاً به علت تفاوت شرایط مدیریتی و شاید آب و هوایی و اقلیمی باشد. با توجه به این که بین داشتن سگ در گله و آلودگی رابطه‌ی کاملاً معنی‌دار وجود دارد به نظر می‌رسد، مهم‌ترین عامل در بروز لینگواتولوز گوسفند وجود سگ آلوده در گله و یا محل‌های نگهداری حیوانات باشد، چنان که در گله‌های کوچ‌رو گاهی ۵-۴ قلاده سگ وجود دارد ولی در گله‌های ساکن معمولاً یا سگ وجود ندارد یا آن که تعداد آن‌ها کم‌تر از گله‌های کوچ‌رو است. افزایش تعداد سگ امکان آلوده شدن مراتع (غذا) و حتی آبشخورها را بیش‌تر فراهم ساخته و شانس آلودگی را افزایش می‌دهد.

گرچه تفاوت در امکان دسترسی سگ‌ها به امعاء و احشاء دام‌های آلوده و نیز در عادت تغذیه‌ی سگ‌ها با احشاء دام به ویژه گره‌های لنفی نیز ممکن است در بروز آلودگی نقش داشته باشد. بررسی منابع اطلاعات علمی موجود و در دسترس نشان داد که در ایران و جهان مطالعه‌ی مشابهی با مطالعه‌ی حاضر و با به کارگیری روش الایزا برای بررسی شیوع آلودگی *لینگواتولا سراتا* در نشخوارکنندگان صورت نگرفته است، ضمن این که می‌توان نتیجه گرفت که این مطالعه برای اولین بار در ایران و جهان انجام گرفته است به ناچار نتایج به دست آمده از این مطالعه با نتایج حاصل از بررسی‌های کشتارگاهی آلودگی به این انگل در نشخوارکنندگان به ویژه گوسفندان مورد مقایسه قرار می‌گیرد. مطالعات متعددی با بررسی کشتارگاهی (گره‌های لنفی مزانتری) شیوع آلودگی گوسفندان در مناطق مختلف ایران به این انگل را نشان داده است به طوری که البرزی و درخشنده در سال ۱۳۸۷، آلودگی به نوچه *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان استان کهگیلویه و بویر احمد (یاسوج) را ۴۶/۷۶ درصد، Shekarforoush و همکاران در سال ۲۰۰۴ در استان فارس (شیراز) ۱۱/۵ درصد، Nourollahi Fard و همکاران در سال ۲۰۱۱ در استان کرمان (کرمان) ۱۶/۱ درصد، Tavassoli و همکاران در سال ۲۰۰۷ در گوسفندان استان آذربایجان غربی (ارومیه) ۵۲/۵ درصد و Rezaei و همکاران در سال ۲۰۱۱ نیز ۴۲/۶۹ درصد گزارش نموده‌اند. در برخی از این مطالعات از جمله البرزی و درخشنده در سال ۱۳۸۷، Nourollahi Fard و

همکاران در سال ۲۰۱۱ و Rezaei و همکاران در سال ۲۰۱۱، به رابطه‌ی معنی‌دار بین سن و آلودگی اشاره شده است به طوری که با افزایش سن میزان آلودگی نیز افزایش داشته است. مطالعه‌ی حاضر نیز نشان داد که بین سن و آلودگی رابطه‌ی معنی‌داری وجود دارد. علت این موضوع می‌تواند به دلیل ماندگاری نوچه در بدن میزبانان واسط و از جمله گوسفند به مدت طولانی و عدم امکان خارج شدن از بدن میزبانان واسط باشد (Soulsby 1982). در مطالعه‌ی Rezaei و همکاران در سال ۲۰۱۱ که ارتباط معنی‌داری بین جنس و آلودگی در حیوانات مورد مطالعه گزارش شده است، ممکن است بیش از آن که به جنس حیوانات ارتباط داشته باشد به بالا بودن میانگین سنی ماده‌ها و احتمال بالاتر بودن آلودگی آن‌ها ارتباط داشته باشد. به هر حال مطالعات Nourollahi Fard و همکاران در سال ۲۰۱۱ و Garedaghi در سال ۲۰۱۱ و از جمله نتایج مطالعه حاضر ارتباط معنی‌داری را بین جنس و آلودگی در حیوانات نشان نداده است.

بین فصل و آلودگی میزبانان واسط به این انگل در مطالعه Nourollahi Fard و همکاران در سال ۲۰۱۱ در گوسفند رابطه‌ی معنی‌داری وجود نداشته در حالی که در مطالعه‌ی Nematollahi و همکاران در سال ۲۰۰۵ در میزان شیوع آلودگی به نوچه *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان و مطالعه‌ی Nourollahi Fard و همکاران در سال ۲۰۱۰ در شیوع آلودگی انگل در بزها اختلاف آماری معنی‌داری میان فصول مختلف مشاهده شده است. گرچه فصل در بقای تخم انگل در شرایط بیرون از بدن میزبان (مرتع و زمین) در آلودگی‌های اولیه ممکن است رابطه‌ی معنی‌داری داشته باشد ولی با توجه به سیر تکاملی انگل در بدن میزبانان واسط و ماندگاری طولانی چند ماهه و شاید چند ساله نوچه‌ی انگل در بدن آن‌ها که نیازمند مطالعه‌ی بیش‌تری می‌باشد، به نظر نمی‌رسد که تفاوتی در فصول مختلف در آلودگی وجود داشته باشد. با این حال در مطالعه‌ی حاضر هم در آلودگی گروه‌های سنی مختلف و فصول مورد بررسی اختلاف معنی‌داری دیده شد به طوری که در استان ایلام بیش‌ترین میزان آلودگی در فصل بهار و کم‌ترین آن در تابستان بود. به نظر می‌رسد چون در این مطالعه تشخیص آلودگی در گوسفندان آلوده با ردیابی آنتی‌بادی IgG در سرم آن‌ها صورت گرفته است بنابراین احتمال دارد تغییرات هورمون‌های جنسی یا حالت فیزیولوژیک حیوان سبب فعال شدن نوچه و در نتیجه تولید بیش‌تر آنتی‌بادی و ردیابی بهتر آن‌ها در این فصول شده باشد. به طور کلی با توجه به شیوع نسبتاً بالای آلودگی *لینگواتولا سراتا* در بین گوسفندان منطقه‌ی غرب ایران که به طور غیر مستقیم بیان‌گر آلودگی سگ-های منطقه به این انگل می‌باشد به طوری که Bahrami و همکاران در سال ۲۰۱۰ میزان آلودگی سگ‌های شهر ایلام را ۴۰/۶ درصد گزارش کرده‌اند، در مجموع نتیجه‌گیری می‌شود که مد نظر قرار دادن پیش‌گیری از لینگواتولوز در برنامه‌های کنترل و پیش‌گیری از بیماری‌های دامی غرب کشور ضروری به نظر می‌رسد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تأمین هزینه‌ی اجرای این تحقیق تشکر و قدردانی می‌نمایند.

منابع

البرزی، علیرضا و درخشنده، تیمور (۱۳۸۷). بررسی میزان آلودگی به نوچه *لینگواتولا سراتا* در گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه شهرستان یاسوج. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۴، شماره ۱، صفحات ۱۰۹-۱۰۳.

البرزی، علیرضا؛ قربانپور، مسعود؛ حمیدی‌نجات، حسین؛ پورمهدی‌بروجنی، مهدی و مهدی‌زاده، امین (۱۳۹۴). طراحی و ارزیابی الایزای غیرمستقیم برای تشخیص آلودگی به *لینگواتولا سراتا* در گوسفند. مجله دامپزشکی ایران، دوره ۱۱، شماره ۱، صفحات ۳۳-۲۴.

Alborzi, A.; HaddadMolayan, P. and Akbari, M. (2013). Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in mesenteric lymph nodes of cattle and buffaloes slaughtered in Ahvaz abattoir, Iran. Iranian Journal of Parasitology, 8(2): 327-332.

Bahrami, A.M.; Yousofzadeh, S. and Kermanjani, A. (2010). Study of *Linguatula serrata* infection rate among shepherd and stray dogs in Ilam (western Iran). Scientific Journal of Ilam University of Medical Sciences, 19: 60-65.

Esmaeilzadeh, S.; Mohammadian, B. and Rezaei, A. (2008). *Linguatula serrata* nymph in a cat. Iranian Journal of Veterinary, 9 (4): 387-389.

Garedaghi, Y. (2011). Prevalence of *Linguatula serrata* nymph in goat in Tabriz, North-West of Iran. Veterinary Research Forum, 2 (2): 129-133.

Koehsler, M.; Walochnik, J.; Georgopoulos, M.; Pruente, C.; Boeckeler, W.; Auer, H. el al. (2011). *Linguatula serrata* tongue worm in human eye, Austria. Emerging Infectious Diseases, 17(5): 870-872.

Nematollahi, A.; Karimi, H. and Niyazpour, F. (2005). The survey of infection rate and histopathological lesions due to nymph of *linguatula serrata* on slaughtered farm animals in East Azarbaijan slaughterhouses during different seasons of year. Journal of Veterinary faculty, University of Tehran, 60: 161-165.

Nourollahi Fard, S.R.; Kheirandisha, R.; Norouzi Asl, E. and Fathi, S. (2010). The prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in goats slaughtered in Kerman slaughterhouse, Kerman, Iran, Veterinary Parasitology, 171: 176-178.

Nourollahi Fard, S.R.; Kheirandish, R.; Nourouzi-Asl, E. and Fathi, S. (2011). Mesenteric and mediastinal lymph node infection with *Linguatula serrata* nymphs in sheep slaughtered in Kerman slaughterhouse, Southeast Iran. Tropical Animal Health and Production, 43: 1-3.

Rezaei, F.; Tavassoli, M. and Mahmoudian, A. (2011). Prevalence of *Linguatula serrata* infection among dogs (definitive host) and domestic ruminants (intermediate host) in the North West of Iran. Veterinarni Medicina, 56 (11): 561-567.

Saiyari, M.; Mohammadian, B. and Sharma, R.N. (1996). *Linguatula serrata* (Forlich 1789) nymphs in lungs of goats in Iran. Tropical Animal Health and Production, 28: 312-314.

Schmidt, G.D. and Roberts, L.S. (2009). Foundation of Parasitology, 8th ed., McGraw- Hill International Editions, Singapore, Pp: 485-490.

Shakerian, A.; Shekarforoush, S.S. and Ghafari Rad, H. (2008). Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in one-humped camel (*Camelus dromedarius*) in Najaf-Abad, lranian Research Veterinary Science, 84: 243-245.

Shekarforoush, S.S.; Razavi, S.M. and Izadi, M. (2004). Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in sheep in Shiraz, Iran. Small Ruminant Research, 52: 99-101.

Soulsby, E.J.L. (1982). Helminths, Arthropods and Protozoa of domesticated Animals, the 7 edition printed by Bailliere Tindal in London, Pp: 497-498.

Tajik, H.; Tavassoli, M.; Dalirnaghadeh, B. and Danehloipour, M. (2006). Mesenteric lymph nodes infection with *Linguatula serrata* nymphs in cattle. Iranian Journal of Veterinary Research, 7: 82-85.

Tavassoli, M.; Tajic, H.; Dalir-Naghadeh, B. and Hariri, F. (2007). Prevalence of *Linguatula serrata* nymphs and gross changes of infected mesenteric lymph nodes in sheep in Urmia, Iran. Small Ruminant Research, 72: 73-76.

Yakhchali, M.; Athari, Sh.; Hajimohammadi, B. and Raeisi, M. (2009). Prevalence of *linguatula serrata* in the ruminants slaughtered in urmia Slaughterhouse. Iranian Journal of Veterinary Research, 64: 329-332.

Seroprevalence of *Linguatula serrata* nymph infection in sheep from west of Iran by ELISA

Alborzi, A.R.[1]; Ghorbanpoor, M.[2]; Hamidinejat, H.[3]; Chamanara, S.[4] and Noori, S.[4]

Received: 22.02.2015 Accepted: 29.09.2015

Abstract

Linguatula serrata is one of the parasitic zoonoses. The adults, larval stages of the parasite live in nasal airways of canids and visceral organs of herbivors respectively. The aim of this study was to determine the seroprevalence of *L. serrata* nymph infection in sheep from west of Iran by indirect enzyme-linked immunosrobent assay (ELISA). Blood samples (n=1048) were taken from sheep of two provinces (Ilam (n= 598) and Kermanshah (n=450)) in west of Iran (at least five different cities of each province). The collected sera were tested by ELISA using excretory-secretory antigens of *L. serrata* nymph and anti IgG sheep conjugate. Data were classified according to sex, ages of the animals (1-<2, 2-<3, 3-≥4 years), area, and sheep herds with or without dogs, analyzed using statistical software (SPSS). Seroprevalence of *L. serrata* infection in sheep was 30.5% (317 of 1048) from west of Iran, 27.8%(125 of 450) from Ilam and 32.1% (192 of 598) from Kermanshah provinces. There was significant difference in prevalence among five different area of two provinces(P<0.001). Of the animal males 31.5% (165 of 523) and females 28.9% (152 of 525) were infected with *L. serrata*. Infection with the parasite was not significantly associated with gender of the animals (p>0.05). Seroprevalence was significantly increased with the increase of age, lower (12.1%) in 1-<2 years and higher (49.3%) in 3-≥4 years old of the animals(P<0.01). There was significant difference in prevalence among sheep herds with (39.8%) and without (23.4%) dogs (P<0.01). This is the first report in assessment of *L. serrata* infection in sheep by ELISA. Relatively high prevalence of *L. serrata* infection in the sheep is reflection of linguatolosis in dogs from the areas, it must be consider to all progamms for control and reduction of the infection in definitive and intermediate hosts.

Key words: Sheep, *Linguatulla serrata*, Antigen, ELISA, Iran

1- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
2- Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
3- Associated Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
4- Msc. Graduated of Veterinary Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
Corresponding Author: Alborzi, A.R., E-mail: Alirezaalborzi@yahoo.com