ORIGINAL ARTICLE

Morphological and Molecular (28s rDNA) Characterization of Dicrocoelium dendriticum Isolates from Sheep, Goat and Cattle in Mazandaran Province, Iran

Simin Bari[1],
Mohsen Arbabi[2],
Pooria Gill[3],
Mehdi Sharif[4],
Hajar Ziaei Hezarjaribi[5],
Samira Dodangeh[6],
Abbas Alizadeh[7],
Zeinab Hedayati[1],
Shahabeddin Sarvi[5]

[1] MSc in Parasitology, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2] Associate Professor, Department of Parasitology, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran
[3] Departments of PhysioPharmacology & NanoBioMedicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[4] Professor, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[5] Associate Professor, Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[6] PhD Student in Medical Parasitology, Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[7] PhD in Veterinary Physiology, Mazandaran Provincial Veterinary Service, Sari, Iran

(Received December 24, 2017 ; Accepted February 12, 2018)

Abstract

Background and purpose: Dicrocoeliasis is a prevalent parasite in ruminants caused by different species of *Dicrocoelium* spp. This parasite lives in bile duct and gallbladder of ruminants and accidentally in human. The economic significance of dicroceliasis is due to direct damage to the liver and, consequently, to the loss of significant amounts of protein. The present study aimed to investigate the morphometric and molecular (PCR and PCR-RFLP) parameters of *Dicrocoelium* species isolates from sheep, goat, and cattle in Mazandaran province, Iran during 2013-2015.

Materials and methods: In this descriptive study, 50 trematodes isolated from livers of sheep (n= 20), goat (n= 20), and cattle (n= 10) were collected form abattoirs in Mazandaran province. Adult worms were studied by morphometric and molecular methods on 28s rDNA. The RFLP technique was used to identify the genus. Some samples were also sequenced.

Results: All isolates of three hosts (sheep, goat, and cattle) showed significant differences in many morphological parameters. According to characterization of testicles that is a remarkable characteristic for differential diagnosis of *Dicrocoelium* species, they were in tandem position in all isolates. Moreover, no significant difference was observed in their size in different hosts. Four bands, including 116, 145, 393, and 409 bp were produced from PCR method after treatment by enzyme. In molecular technique, there were no any significant differences but in morphometric analysis, some differences were found.

Conclusion: The molecular and morphometric results indicated that *D. dendriticum* is the only species infecting sheep, goat, and cattle in Mazandaran province.

Keywords: *Dicrocoelium*, morphology, 28s rDNA, PCR-RFLP

J Mazandaran Univ Med Sci 2018; 28(159): 38-45 (Persian).

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و هشتم شماره ۱۵۹ فروردین سال ۱۳۹۷ (۴۵-۳۸)

بررسی خصوصیات مورفولوژیکی و مولکولی(28s rDNA) دیکروسلیوم دندرتیکوم جدا شده از گوسفند، بز و گاو در استان مازندران

سیمین باری[۱]
محسن اربابی[۲]
پوریا گیل[۳]
مهدی شریف[۴]
هاجر ضیایی[۵]
سمیرا دودانگه[۶]
عباس علیزاده[۷]
زینب هدایتی[۱]
شهاب الدین سروی[۵]

چکیده

سابقه و هدف: دیکروسلیازیس بیماری شایع در نشخوارکنندگان است که توسط گونه‌های مختلف دیکروسلیوم ایجاد می‌شود. این انگل در مجاری صفراوی و کیسه صفرای نشخوارکنندگان و به طور تصادفی انسان دیده می‌شود. اهمیت اقتصادی دیکروسلیازیس به علت خسارت به کبد و در نتیجه از دست دادن مقادیر قابل توجهی از مواد پروتئینی می‌باشد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی پارامترهای مورفومتریک و مولکولی (PCR و PCR-RFLP) ایزوله‌های گوسفندی، بزی و گاوی دیکروسلیوم دندرتیکوم در استان مازندران در سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۴ می‌باشد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه توصیفی، در مجموع ۵۰ ایزوله ترماتود از کبدهای گوسفندی (۲۰ مورد)، بزی (۲۰ مورد) و گاوی (۱۰ مورد)، از کشتارگاه‌های مازندران جمع‌آوری شدند. کرم‌های بالغ با روش‌های مورفومتریک و مولکولی ناحیه 28s rDNA مورد بررسی قرار گرفتند. برای تشخیص گونه‌ی انگل از تکنیک PCR-RFLP استفاده شد. علاوه بر این، تعدادی از نمونه ها تعیین توالی شدند.

یافته‌ها: تمام ایزوله‌های سه میزبان (گوسفند، بز و گاو) در اغلب شاخصه های مرفولوژیک با هم اختلاف معنی‌دار داشتند. در مورد شاخص بیضه‌های انگل، که شاخص قابل اعتمادی برای تشخیص افتراقی گونه‌های دیکروسلیوم می‌باشد، در تمام ایزوله‌ها، بیضه‌ها پشت سر هم قرار داشتند و اختلاف معنی‌داری در اندازه آن‌ها در بین میزبانان مختلف مشاهده نشد. در بررسی مولکولی چهار باند ۱۱۶bp، ۱۴۵bp، ۳۹۳ bp و ۴۰۹ bp از محصول PCR بعد از تماس با آنزیم مشاهده شد. در بررسی توالی ایزوله های انگل، اختلاف ژنتیکی چندانی دیده نشد، در حالی که در بررسی مورفومتریک، تفاوت‌هایی مشاهده شد.

استنتاج: بررسی های مولکولی و مورفومتریک نشان داد که دیکروسلیوم دندریتیکوم تنها گونه‌ی آلوده کننده‌ی گوسفند، بز و گاو در استان مازندران است.

واژه های کلیدی: دیکروسلیوم، مورفولوژی، 28s rDNA، PCR-RFLP

مقدمه

دیکروسلیوم دندریتیکوم ترماتودی است که انگل پستانداران اهلی و وحشی به خصوص نشخوارکنندگان می‌باشد و حتی انسان نیز ممکن است به طور تصادفی به این انگل مبتلا شود. این کرم، انگل مجاری صفراوی،

مولف مسئول: شهاب الدین سروی- ساری: مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم- دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی E-mail: shahabesarvi@yahoo.com
۱. کارشناسی ارشد انگل شناسی، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. دانشیار گروه انگل شناسی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران
۳. دانشیار گروه فیزیوفارماکولوژی و نانو بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۴. استاد، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۵. دانشیار، مرکز تحقیقات توکسوپلاسموز، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۶. دانشجوی دکترای انگل شناسی پزشکی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۷. دکترای تخصصی فیزیولوژی دامپزشکی، اداره کل دامپزشکی استان مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۶/۱۰/۳ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۶/۱۱/۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۶/۱۱/۲۳

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

کبد و کیسه صفرا است(۱). میزبان اصلی آن، گوسفندها، میزبانان واسط اول، حلزون‌های خاکزی از جمله هلی‌سلا و زبرینا و میزبان واسط دوم آن مورچه‌ها به‌ویژه فورمیکا فوسکا هستند(۲). اندازه‌ی این کرم نسبت مستقیمی با اندازه جثه‌ی میزبان نهایی دارد.

دیکروسلیوم انتشار جهانی دارد و در اروپا، آسیا و امریکای شمالی و جنوبی شایع‌تر است(۲،۱). در ایران نیز آلودگی به این انگل در اکثر نقاطی که پرورش دام رایج است، دیده می‌شود(۳). مطالعات نشان داده است که آلودگی به این کرم موجب زیان‌های اقتصادی فراوانی می‌شود، که از جمله می‌توان به افت کیفیت محصولات دام در اثر جایگزینی انگل در کبد، حذف کبدهای آلوده، ضبط و حذف لاشه‌های آلوده در اثر لاغری مفرط، مرگ و میر گوسفندها در آلودگی‌های بسیار شدید و هزینه‌های درمانی آن اشاره کرد(۴). این کرم در گاو، بز و گوسفند جوان علایم بالینی مشخصی ایجاد نمی‌کند، اما به‌علت این‌که به مدت طولانی در بدن زنده می‌ماند، به مرور زمان بر حدت و بیماری‌زایی آن افزوده می‌شود و در گوسفندهای مسن باعث سیروز کبدی پیشرفته می‌شود. از علایم بالینی آن می‌توان به لاغری مفرط، کاهش تولید پشم و شیر و کاهش رشد اشاره نمود. هم چنین استقرار این کرم باعث مستعد شدن گوسفند و بز به بیماری مهلک تورم قانقاریایی کبد می‌گردد(۵). اختلالات کبدی در انسان، که معمولاً دچار عفونت خفیف می‌شود، چندان بارز نیست. علائم بیماری در انسان شامل اختلالات گوارشی، نفخ، استفراغ، کولیت صفراوی، یبوست مزمن یا اسهال بوده و مسمومیت با آن، خفیف‌تر از فاسیولیازیس است(۶-۸). به همین دلایل دیکروسلیازیس از نظر اقتصادی و پزشکی حائز اهمیت است. اختلافات مرفولوژیکی بین گونه‌های دیکروسلیوم وجود دارد. بنابراین هدف از این مطالعه، بررسی مورفومتریک و مولکولی(PCR و PCR-RFLP) ایزوله‌های گوسفندی، بزی و گاوی دیکروسلیوم دندرتیکوم در استان مازندران در سال‌های ۱۳۹۲-۱۳۹۴ می‌باشد.

مواد و روش ها

جمع‌آوری انگل دیکروسلیوم

در این مطالعه که از نوع توصیفی می‌باشد، با مراجعه به کشتارگاه‌های استان مازندران، تعداد ۵۰ کبد (۲۰ نمونه گوسفند، ۲۰ بز و ۱۰ گاو) آلوده به *دیکروسلیوم* از استان مازندران جمع‌آوری شد. کبدهای آلوده به آزمایشگاه دانشگاه علوم پزشکی مازندران انتقال یافت و سپس با استفاده از قیچی جراحی و بیستوری، تمامی مجاری کبدی باز گردید و با سرم فیزیولوژی شسته شدند.

بررسی مورفومتریک و استخراج DNA

در این مرحله با استفاده از میکروسکوپ نوری، ۱۷ پارامتر مرفولوژیک مختلف از جمله اندازه‌ی بدن (طول و عرض)، نسبت طول به عرض، قطر بادکش شکمی (داخلی و خارجی)، قطر بادکش دهانی (داخلی و شکمی)، نسبت اندازه‌ی بادکش شکمی به بادکش دهانی، طول و عرض بیضه‌ها، طول غدد ویتلوژن، نسبت طول بدن به غدد ویتلوژن، فاصله‌ی بین بادکش شکمی تا انتهای بدن، طول کیسه‌ی سیر، طول و عرض تخمدان و فاصله‌ی بین بادکش دهانی و شکمی بر حسب میکرون اندازه‌گیری شدند. در مرحله بعد، جهت آماده‌سازی برای آزمایشات مولکولی، DNA انگل‌ها با استفاده از روش فنل کلروفرم استخراج شدند.

انجام واکنش PCR و تعیین توالی ژن 28s rDNA

تکثیر قطعات 28s rDNA با استفاده از مخلوط PCR به حجم ۲۵ µl شامل ۴ µl انگل، Master Mix به میزان ۱۲/۵µl، ۰/۵ µl از هر آغازگر رفت و برگشت و ۷/۵ µl آب‌مقطر تزریقی انجام شد. قطعه باز 28s rDNA به اندازه‌ی ۹۶۳bp (Gen Bank accession no: AF151939.1) و با استفاده از پرایمرهای Dd28SF (5'-GTGGCCAGTTGGTCATTAGG- 3') و Dd28SR (5'-ACCTCAGTCTGGACAAGCCA- 3')

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

تکثیر شد. مراحل PCR شامل مرحله واسرشت ۹۵ °C به مدت ۱ دقیقه، مرحله‌ی اتصال پرایمرها ۵۵°C به مدت ۴۵ ثانیه، مرحله طویل شدن زنجیره ۷۲°C به مدت ۴۵ ثانیه، که این ۳ مرحله به تعداد ۳۰ سیکل و در نهایت یک سیکل ۱۰دقیقه در ۷۲°C انجام شد. ۴ µl محصول PCR داخل چاهک‌های ژل آگارز ۱/۵ درصد در کنار مارکر وزنی DNA (Fermentas) 100 bp بارگذاری و در ولتاژ ۹۰ به مدت ۳۰ دقیقه الکتروفورز گردید. در نهایت ۳ نمونه جهت سکانس به شرکت تکاپوزیست ارسال گردید.

انجام واکنش RFLP-PCR

برای انجام واکنش PCR- RFLP، مخلوطی به حجم نهایی ۳۰µl شامل ۱۰ µl محصول PCR انگل دیکروسلیوم، ۲µl بافر، ۱ µl آنزیم Tru1I و ۱۷ µl آب مقطر تزریقی تهیه شده و به مدت ۴۰ دقیقه در حمام آب گرم ۶۵ °C قرارداده شد. سپس ۴ µl از هر محصول PCR-RFLP داخل چاهک های ژل آگارز ۳ درصد در کنار مارکروزنی ۱۰۰ bp بارگذاری و در ولتاژ ۷۰ به مدت ۲۰ دقیقه الکتروفورز گردید.

یافته ها

الف- بررسی مرفولوژی: در این مطالعه در مجموع ۵۰ ایزوله‌ی گاوی(۱۰)، گوسفندی(۲۰) و بزی(۲۰) دیکروسلیوم از کبد دام‌های کشتار شده استان مازندران برای شناسائی ۱۷ پارامتر مورفومتریک برحسب میکرون اندازه‌گیری و ثبت شدند. مقایسه پارامترهای مورفومتریکی در هر میزبان، اختلاف معناداری مشاهده نشد (جداول شماره ۱، ۲ و ۳)، در صورتی که در مقایسه این پارامترها در بین میزبانان، اختلاف معنادار به غیر از اندازه طول بیضه‌ها مشاهده شد (جدول شماره ۴). در مشاهده میکروسکوپی، موقعیت بیضه‌ها که شاخص قابل اعتمادی برای تشخیص افتراقی گونه‌های دیکروسلیوم می‌باشد، نشان داد که در تمامی ایزوله‌ها، بیضه‌ها پشت سر هم قرار دارد، این امر تأیید کننده‌ی گونه‌ی دندریتیکم در میزبان‌های استان مورد مطالعه می‌باشد. علاوه بر شاخص فوق، موقعیت بیش‌ترین عرض بدن که در تمامی ایزوله‌ها پشت قسمت میانی بدن قرار گرفته بود نیز تفریق‌کننده‌ی گونه‌ی دیکروسلیوم دندریتیکم از دیکروسلیوم هاسپس و دیکروسلیوم چاینسیس می‌باشد.

جدول شماره ۱: خصوصیات مرفولوژیکی دیکروسلیوم جدا شده از کبد گوسفند در استان مازندران

شاخص مرفولوژیک (µm)	گوسفند (X±SE)	بیش ترین	کم ترین	سطح معنی‌داری
طول بدن	۷۷۰۸/۷۵±۱۶۵/۶۹۵	۱۰۵۲۵	۵۱۲۵	۱
عرض بدن	۱۶۴۵/۱۷±۴۶/۲۸۹	۲۲۲۵	۳۰۰	۰/۹۹۷
قطر خارجی بادکش دهانی	۳۴۲/۸۳±۷/۳۳۰	۴۹۰	۱۶۰	۰/۹۱۰
قطر داخلی بادکش دهانی	۱۷۲/۳۳±۵/۲۹۰	۳۵۰	۱۰۰	۰/۹۹۹
قطر خارجی بادکش شکمی	۴۳۳/۱۷±۸/۳۰۷	۶۱۰	۲۰۰	۱
قطر داخلی بادکش شکمی	۲۳۵/۳۳±۱۱/۸۹۳	۸۰۰	۱۲۰	۱
طول بیضه	۷۶۰/۵۰±۱۵/۲۰۷	۱۰۲۰	۵۲۰	۱
عرض بیضه	۵۰۴/۶۷±۱۳/۸۳۶	۷۳۰	۲۵۰	۱
طول غدد زرده	۱۸۷۶/۶۷±۴۷/۴۵۲	۳۰۲۵	۱۲۵۰	۱
فاصله بین بادکش شکمی تا انتها	۶۰۵۰/۰۰±۱۵۲/۳۲۷	۸۵۵۰	۲۲۷۵	۱
طول سیروساک	۴۳۷/۵۰±۱۵/۷۸۶	۹۰۰	۲۳۰	۱
طول تخمدان	۳۴۹/۰۰±۶/۹۶۵	۵۰۰	۲۵۰	۱
عرض تخمدان	۲۴۹/۱۷±۶/۱۷۲	۳۵۰	۱۳۰	۱
فاصله بین بادکش دهانی تا شکمی	۱۳۸۷/۹۲±۲۷/۲۲۱	۱۷۷۵	۹۵۰	۱
نسبت طول به عرض	۴/۵۹±۰/۰۹۲	۷	۳	۰/۹۷۵
نسب بادکش شکمی به دهانی	۱/۲۳±۰/۰۱۶	۱	۱	۰/۷۹۸
نسبت طول بدن به غدد زرده	۴/۱۷±۰/۰۸۲	۶	۳	۰/۹۷۲

جدول شماره ۲: مقایسه خصوصیات مرفولوژیکی دیکروسلیوم جداشده از کبد بز در استان مازندران

شاخص مرفولوژیک (µm)	بز (X±SE)	بیش ترین	کم ترین	سطح معنی‌داری
طول بدن	۶۷۳۴/۱۷±۱۰۴/۰۸۸	۸۲۷۵	۴۸۷۵	۱
عرض بدن	۱۶۴۹/۱۷±۳۰/۱۰۷	۲۰۷۵	۱۰۲۵	۱
قطر خارجی بادکش دهانی	۳۴۷/۳۳±۴/۲۹۱	۴۰۰	۲۵۰	۰/۹۹۹
قطر داخلی بادکش دهانی	۱۵۸/۳۳±۲/۶۷۰	۲۱۰	۱۲۰	۰/۹۹۹
قطر خارجی بادکش شکمی	۴۲۵/۵۰±۳/۷۶۱	۴۸۰	۳۵۰	۱
قطر داخلی بادکش شکمی	۲۱۱/۶۷±۳/۷۴۴	۲۷۰	۱۶۰	۰/۹۹۹
طول بیضه	۷۴۶/۶۷±۲۰/۳۶۸	۱۰۰۰	۳۸۰	۱
عرض بیضه	۴۶۳/۳۳±۱۶/۳۹۰	۷۰۰	۲۱۰	۱
طول غدد زرده	۱۷۴۸/۳۳±۳۷/۵۸۲	۲۳۲۵	۱۲۲۵	۱
فاصله بین بادکش شکمی تا انتها	۵۳۴۱/۶۷±۹۰/۱۸۳	۶۶۵۰	۳۷۵۰	۱
طول سیروساک	۴۹۲/۰۰±۱۱/۴۴۶	۶۶۰	۳۳۰	۱
طول تخمدان	۳۴۸/۳۳±۸/۳۵۷	۴۵۰	۱۸۰	۱
عرض تخمدان	۲۴۵/۰۰±۶/۲۷۷	۳۳۰	۱۵۰	۰/۹۹۹
فاصله بین بادکش دهانی تا شکمی	۱۲۵۸/۳۳±۱۸/۹۱۰	۱۶۲۵	۸۷۵	۱
نسبت طول به عرض	۴/۲۱±۰/۱۰۳	۶	۳	۰/۹۹۹
نسب بادکش شکمی به دهانی	۱/۲۳±۰/۰۱۲	۱	۱	۰/۷۶۲
نسبت طول بدن به غدد زرده	۳/۸۸±۰/۰۷۶	۵	۲	۰/۹۸۲

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

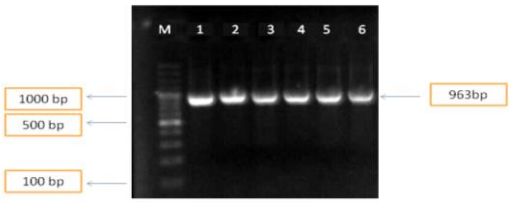
جدول شماره ۳: مقایسه خصوصیات مرفولوژیکی دیکروسلیوم جداشده از کبد گاو در استان مازندران

شاخص مرفولوژیک(µm)	گاو (X±SE)	بیش ترین	کم ترین	سطح معنی‌داری
طول بدن	۹۳۷۰/۰۰±۱۸۳/۲۵۹	۱۰۵۲۵	۷۴۰۰	۱
عرض بدن	۱۹۳۵/۰۰±۴۰/۵۰۰	۲۲۲۵	۱۶۰۰	۱
قطر خارجی بادکش دهانی	۴۴۱/۳۳±۲/۳۳۶	۴۶۰	۴۲۰	۰/۹۹۹
قطر داخلی بادکش دهانی	۳۹۲/۶۷±۵/۴۴۴	۴۵۰	۳۴۰	۱
قطر خارجی بادکش شکمی	۴۷۰/۰۰±۲/۰۳۴	۴۹۰	۴۶۰	۱
قطر داخلی بادکش شکمی	۴۱۸/۶۷±۵/۴۶۱	۴۶۰	۳۶۰	۱
طول بیضه	۷۴۸/۶۷±۱۵/۰۹۹	۸۸۰	۶۳۰	۱
عرض بیضه	۷۰۱/۳۳±۱۳/۸۱۱	۸۵۰	۶۰۰	۱
طول غدد زرده	۲۳۵۸/۳۳±۹۶/۱۲۷	۳۲۰۰	۱۶۲۵	۱
فاصله بین بادکش شکمی تا انتها	۷۵۷۳/۳۳±۱۶۰/۸۹۳	۸۶۲۵	۵۷۲۵	۱
طول سیروساک	۳۵۶/۰۰±۳/۵۷۵	۳۸۰	۳۱۰	۱
طول تخمدان	۴۴۰/۶۷±۱/۵۸۵	۴۶۰	۴۳۰	۰/۹۹۸
عرض تخمدان	۳۹۵/۳۳±۴/۰۰۴	۴۳۰	۳۶۰	۰/۹۹۹
فاصله بین بادکش دهانی تا شکمی	۱۷۶۸/۳۳±۳۷/۱۵۷	۲۰۷۵	۱۵۰۰	۱
نسبت طول به عرض	۴/۸۳±۰/۰۷۱	۵	۴	۰/۹۴۴
نسب بادکش شکمی به دهانی	۱/۰۹±۰/۰۱۸	۱	۱	۰/۸۲۲
نسبت طول بدن به غدد زرده	۴/۱۰±۰/۱۱۶	۵	۳	۰/۹۷۷

جدول شماره ۴: مقایسه‌ی شاخص‌های مرفومتریک دیکروسلیوم دندیتیکوم جدا شده از کبد گوسفند، بز و گاو در استان مازندران

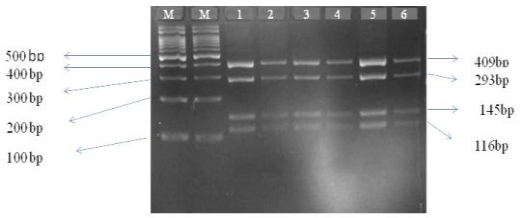
شاخص مرفولوژیک (µm)	گوسفند X±SE	بز X±SE	گاو X±SE	سطح معنی‌داری
طول بدن	۷۷۰۸/۷۵±۱۶۵/۶۹۵	۶۷۳۴/۱۷±۱۰۴/۰۸۸	۹۳۷۰/۰۰±۱۸۳/۲۵۹	۰/–
عرض بدن	۱۶۴۵/۱۷±۴۶/۲۸۹	۱۶۴۹/۱۷±۳۰/۱۰۷	۱۹۳۵/۰۰±۴۰/۵۰۰	۰/۰۰۰
قطر خارجی بادکش دهانی	۳۴۲/۸۳±۷/۳۳۰	۳۴۷/۳۳±۴/۲۹۱	۴۴۱/۳۳±۲/۳۳۶	۰/۰۰۰
قطر داخلی بادکش دهانی	۱۷۲/۳۳±۵/۲۹۰	۱۵۸/۳۳±۲/۶۷۰	۳۹۲/۶۷±۵/۴۴۴	۰/۰۰۰
قطر خارجی بادکش شکمی	۴۳۳/۱۷±۸/۳۰۷	۴۲۵/۵۰±۳/۷۶۱	۴۷۰/۰۰±۲/۰۳۴	۰/۰۰۰
قطر داخلی بادکش شکمی	۲۳۵/۳۳±۱۱/۷۹۳	۲۱۱/۶۷±۳/۷۴۴	۴۱۸/۶۷±۵/۴۶۱	۰/۰۰۰
طول بیضه	۷۶۰/۵۰±۱۵/۲۰۷	۷۴۶/۶۷±۲۰/۳۶۸	۷۴۸/۶۷±۱۵/۰۹۹	۰/۸۳۰
عرض بیضه	۵۰۴/۶۷±۱۳/۸۳۶	۴۶۳/۳۳±۱۶/۳۹۰	۷۰۱/۳۳±۱۳/۸۱۱	۰/۰۰۰
طول غدد زرده	۱۸۷۶/۶۷±۴۷/۴۵۲	۱۷۴۸/۳۳±۳۷/۵۸۲	۲۳۵۸/۳۳±۹۶/۱۲۷	۰/۰۰۰
فاصله بین بادکش‌شکمی تا انتها	۶۰۵۰/۰۰±۱۵۲/۳۲۷	۵۳۴۱/۶۷±۹۰/۱۸۳	۷۵۷۳/۳۳±۱۶۰/۸۹۳	۰/۰۰۰
طول سیروساک	۴۳۷/۵۰±۱۵/۷۸۶	۴۹۲/۰۰±۱۱/۴۴۶	۳۵۶/۰۰±۳/۵۷۵	۰/۰۰۰
طول تخمدان	۳۴۹/۰۰±۶/۹۶۵	۳۴۸/۳۳±۸/۳۵۷	۴۴۰/۶۷±۱/۵۸۵	۰/۰۰۰
عرض تخمدان	۲۴۹/۱۷±۶/۱۷۲	۲۴۵/۰۰±۶/۲۷۷	۳۹۵/۳۳±۴/۰۰۴	۰/۰۰۰
فاصله بین بادکش‌دهانی تا شکمی	۱۳۸۷/۹۲±۲۷/۲۲۱	۱۲۵۸/۳۳±۱۸/۹۱۰	۱۷۶۸/۳۳±۳۷/۱۵۷	۰/۰۰۳
نسبت طول به عرض	۴/۵۹±۰/۰۹۲	۴/۲۱±۰/۱۰۳	۴/۸۳±۰/۰۷۱	۰/۰۰۰
نسب بادکش شکمی به دهانی	۱/۲۳±۰/۰۱۶	۱/۲۳±۰/۰۱۲	۱/۰۹±۰/۰۱۸	۰/۰۰۰
نسبت طول بدن به غدد زرده	۴/۱۷±۰/۰۸۲	۳/۸۸±۰/۰۷۶	۴/۱۰±۰/۱۱۶	۰/۰۳۴

ب- مطالعه مولکولی: الکتروفورز تمام ایزوله‌ها پس از PCR، باند pb ۹۶۳ را نشان دادند (تصویر شماره ۱). برای تایید گونه انگل از محصول به‌دست آمده از PCR تعیین توالی گردید و سپس در بانک جهانی ژن با شماره‌های MF952875, MF946552 MF946561 ثبت شد. مقایسه توالی‌ها با موارد ثبت شده در بانک ژن، تشابه ۹۹ درصد را نشان دادند.



تصویرشماره۱: محصولPCR دیکروسلیوم از ایزوله‌های گاو، بز و گوسفند M ستون مارکر ۱۰۰bp، ستون ۱ و ۲ ایزوله گوسفندی، ۳و ۴: ایزوله گاوی، ۵ و ۶ ایزوله بزی

علاوه براین، برای تشخیص گونه از تکنیک RFLP نیز جهت تشخیص گونه استفاده شد. به‌دلیل وجود آنزیم محدودالاثر FastDigest Tru1I (Fermentas) الگوی RFLP نشان دهنده ۴ محل برش و تشکیل باندهای ۱۱۶ bp، ۱۴۵ bp، ۲۹۳ bp و ۴۰۹ bp بود (تصویر شماره ۲). آنزیم FastDigest Tru1I به طور اختصاصی دیکروسلیوم دندریتکوم را از گونه‌های مشابه آن شامل دیکروسلیوم‌ها سپس و دیکروسلیوم چاینسیس تفکیک نمود. در این مطالعه، سایر گونه‌های دیکروسلیوم یافت نشدند.



تصویر شماره ۲: الگوی PCR-RFLP ایزوله‌های گوسفند، گاو و بز دیکروسلیوم دندریتیکوم با استفاده از آنزیم Fast Digest Tru1I ستون M مارکر bp ۱۰۰، ستون ۱ و ۲: ایزوله گوسفندی، ۳ و ۴: ایزوله گاوی، ۵ و ۶: ایزوله بزی

بحث

انگل دیکروسلیوم دندریتیکم تقریباً در تمام مناطق جهان انتشار دارد و کم‌تر جایی در دنیا یافت می‌شود که عاری از این ترماتود باشد. تنوع فنوتیپی و ژنتیکی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

(عمدتاً مناطق DNA ریبوزومی) این انگل قبلاً از کشورهای مختلف از جمله ایران گزارش شده است(۹،۲). به رغم شیوع فراوان دیکروسلیازیس در ایران (۳/۱، ۱/۳ و ۱/۲ درصد به ترتیب در بین گوسفند، بز و گاو)(۳)، در زمینه‌ی شناخت مرفولوژیک و مولکولی عامل این بیماری تحقیقات کمی صورت گرفته و مطالعات عمدتاً در زمینه‌ی موارد شیوع، روش‌های تشخیصی سرولوژیک و بررسی‌های ریخت‌شناسی انگل بوده است. با استفاده از سه روش مورفومتریک، PCR و RFLP مشخص شد که از بین ۳ گونه‌ی جنس دیکروسلیوم، تنها دیکروسلیوم دندریتیکوم باعث آلودگی گوسفند، بز و گاو شمال ایران می شود.

یکی از شاخص‌های مورفومتریک قابل اعتماد برای تشخیص افتراقی گونه‌های دیکروسلیوم، موقعیت بیضه‌ها می‌باشد. در دیکروسلیوم دندریتیکوم دو بیضه به صورت پشت سرهم (tandem) قرار دارد، درحالی‌که در دیکروسلیوم چاینسیس به صورت دو طرفه (bilatera) قرار دارد(۱۰،۹). با توجه به یافته‌های مطالعه حاضر، بیضه‌ها در تمامی ایزوله‌های جمع‌آوری شده از استان مازندران، در موقعیت پشت سر هم قرار داشتند و با نتایج مطالعات گرجی‌پور و اربابی همخوانی دارد(۱۰،۹). در مطالعه‌ای Otranto و همکاران، دو گونه دندریتیکوم و چاینسیس را بر اساس موقعیت بیضه‌ها در گوسفندهای اتریشی، آلمانی و ایتالیایی تشخیص دادند(۱۱). علاوه براین، Taira و همکاران با استفاده از شاخص نامبرده، دیکروسلیوم چاینسیس را تنها گونه‌ی آلوده کننده‌ی آهوی Sika در ژاپن تشخیص دادند(۱۲).

بر اساس مطالعه حاضر، طول بدن کرم در بین ایزوله‌های گوسفندی، بزی و گاوی به ترتیب (۱۰/۵۲-۵/۱۲μm)،(۸/۲۷-۴/۸۷μm)،و(۷/۴۰-۱۰/۵۲μm) و عرض آن نیز به ترتیب (۲/۲۲- ۰/۹ μm)، (۲/۰۷-۱/۰۲ μm)، و (۲/۲۲-۱/۶۰ μm) متغیر گزارش شد. در مطالعه‌ای، Otranto و همکاران، طول انگل را در گوسفند ۴/۷۰-۵/۶۰ μm و عرض آن را ۱/۳۰-۱/۸۰ μm گزارش کردند(۱۱). در مطالعه دیگر، اربابی و همکاران، طول انگل را در همین میزبان ۶/۱۲-۷/۱۲ μm و عرض بدن را ۱/۵۱-۱/۵۷ μm گزارش نمودند(۹). این در حالی است که در مطالعه‌ی گرجی‌پور و همکاران، طول بدن ۱/۵۶±۶/۳۸ μm و عرض بدن ۰/۳۹±۱/۷۰ μmگزارش شده است(۱۰)، ولی هیچ گونه اشاره‌ای به کم‌ترین و بیش‌ترین اندازه طول و عرض بدن انگل در میزبان‌های مورد مطالعه نشده است.

هم‌چنین، بر اساس یافته‌های پژوهش حاضر، اختلاف معنی‌داری بین اندازه‌ی شاخص‌های مورفومتریک در استان مازندران مشاهده می‌شود و این یافته‌ها با یافته‌های به دست آمده از مطالعه‌ی اربابی و همکاران همخوانی داشته است(۹). این در حالی است که در مطالعات بررسی شده در کشورهای ایتالیا، اتریش و آلمان و هم‌چنین در شیراز (ایران)، اختلافات معناداری بین شاخص‌های مورفومتریک دیکروسلیوم دندریتیکوم در بین میزبانان انگل در مناطق مورد مطالعه‌ی خود گزارش نکردند (۱۱،۱۰). احتمالاً این اختلاف ناشی از سن، وضعیت تغذیه‌ای میزبان، وضعیت بلوغ کرم، شدت آلودگی، شرایط اقلیمی و اکولوژیکی مناطق مورد مطالعه می‌باشد(۱۳).

بررسی مولکولی به خصوص در ژن 28s rDNA نشان داد که تفاوت ژنتیکی در میان ایزوله‌های دیکروسلیوم دندریتیکم موجود در ایران وجود ندارد. این در حالی است که آنالیز نتایج حاصل از مورفومتری شاخص‌های نامبرده به غیر از طول بیضه دارای اختلاف معناداری در بین ایزوله‌ها نشان داد. مطالعات اخیر مولکولی انگل بر اساس زیرواحد کوچک ریبوزومی (ناحیه‌ی 18s rDNA) و زیرواحد بزرگ ژن ریبوزومی (28s rDNA) موفق به نشان دادن تفاوت‌های ژنتیکی میان ایزوله‌های این انگل نشده است، به نظر می‌رسد این امر به دلیل بالا بودن سطح حفاظت شده‌ی این نواحی از انگل باشد(۱۱،۱۰). Maurelli و همکاران (۲۰۰۷) و هم‌چنین اربابی و همکاران (۲۰۱۲)، تنوع ژنتیکی

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

دیکروسلیوم دندریتیکم را با تکنیک PCR مورد بررسی قرار دادند و هیچ اختلافی بین s 28s rDNA تمامی دیکروسلیوم‌های جدا شده از گوسفند مشاهده نکردند(۱۴،۹). در مطالعه ای Otranto و همکاران، با وجود اختلاف درون گونه‌ای دیکروسلیوم (۱/۳ درصد)، با استفاده از ناحیه حفاظت شده‌ی 28s، هیچ ارتباطی بین میزبان و مناطق جغرافیایی گزارش نکردند(۱۱). در نتیجه، مطالعه‌ی حاضر به روشنی نشان داد که تنها گونه ی دیکروسلیومی که باعث دیکروسلیازیس در گوسفند، بز و گاو در استان مازندران می‌شود، دیکروسلیوم دندریتیکوم است. از این رو با توجه به زیان های اقتصادی که این انگل بر اقتصاد کشور تحمیل می کند، کنترل و پیشگیری از آن کاملاً ضروری می‌باشد.

سپاسگزاری

این مطالعه بخشی از پایان نامه دوره ارشد رشته انگل شناسی پزشکی می باشد که هزینه آن طی طرح شماره ۱۳۶۷ مصوب تامین شده است. بنابراین نویسندگان، از معاونت محترم پژوهشی و کمیته تحقیقات دانشجوئی دانشگاه علوم پزشکی مازندران کمال تشکر و قدردانی را دارند.

References

1. Otranto D, Traversa D. Dicrocoeliosis of ruminants: a little known fluke disease. Trends Parasitol 2003; 19(1): 12-15.
2. Manga-González M, González-Lanza C, Cabanas E, Campo R. Contributions to and review of dicrocoeliosis, with special reference to the intermediate hosts of Dicrocoelium dendriticum. Parasitology 2001; 123(7): 91-114.
3. Bari S, Sarvi S, Daryani A, Ziaeei Hezarjaribi H, Arbabi M, Pirestani M, et al. Dicrocoelium dentriticum infection among domestic animals in iran: A systematic review and meta-analysis. J Mazandaran Uni Med Sci 2016; 25(132): 367-375 (Persian).
4. Manga-González M, Quiroz-Romero H, Gonzalez-Lanza C, Minambres B, Ochoa P. Strategic control of Dicrocoelium dendriticum (Digenea) egg excretion by naturally infected sheep. Vet Med 2010; 55(1): 19-29.
5. Manga-González M, Ferreras M, Campo R, González-Lanza C, Perez V, García-Marín J. Hepatic marker enzymes, biochemical parameters and pathological effects in lambs experimentally infected with Dicrocoelium dendriticum (Digenea). Parasitol Res 2004; 93(5): 344-355.
6. Fauci AS. Harrison's principles of internal medicine. New York: McGraw-Hill; 2008.
7. Helmy M, Al-Mathal E. Human infection with Dicrocoelium dendriticum in Riyadh district (Saudi Arabia). J Egypt Soc Parasitol 2003; 33(1): 139-144.
8. Magi B, Frati E, Bernini L, Sansoni A, Zanelli G. Dicrocoelium dendriticum: a true infection. Infez Med 2009; 17(2): 115-116.
9. Arbabi M, Dalimi-Asl A, Ghaffarifar F, Foorozandeh-Moghadam M. Morphological and molecular characterization of Dicrocoelium isolated from sheep in the north and center of Iran. Feyz J Kashan Uni Med Sci 2012; 16(2): 135-145 (Persian).
10. Gorjipoor S, Moazeni M, Sharifiyazdi H. Characterization of Dicrocoelium dendriticum haplotypes from sheep and cattle in Iran based on the internal transcribed spacer 2 (ITS-2) and NADH dehydrogenase gene (nad1). J Helminthol 2015; 89(2): 158-164.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]

11. Otranto D, Rehbein S, Weigl S, Cantacessi C, Parisi A, Lia RP, et al. Morphological and molecular differentiation between Dicrocoelium dendriticum (Rudolphi, 1819) and Dicrocoelium chinensis (Sudarikov and Ryjikov, 1951) Tang and Tang, 1978 (Platyhelminthes: Digenea). Acta Trop 2007; 104(2): 91-98.
12. Taira K, Shirasaka S, Taira N, Ando Y, Adachi Y. Morphometry on lancet flukes found in Japanese sika deer (Cervus nippon centralis) captured in Iwate Prefecture, Japan. J Vet Med Sci 2006; 68(4): 375-377.
13. Tkach V, Pawlowski J, Mariaux J. Phylogenetic analysis of the suborder Plagiorchiata (Platyhelminthes, Digenea) based on partial lsrDNA sequences1. Int J Parasitol 2000; 30(1): 83-93.
14. Maurelli M, Rinaldi L, Capuano F, Perugini A, Veneziano V, Cringoli G. Characterization of the 28S and the second internal transcribed spacer of ribosomal DNA of Dicrocoelium dendriticum and Dicrocoelium hospes. Parasitol Res 2007; 101(5): 1251-1255.

[Downloaded from jmums.mazums.ac.ir on 2026-11-09]