DOI: 10.22092/vj.2022.356031.1896
شماره ۱۳۷ زمستان ۱۴۰۱
تحقیقات دامپزشکی و فرآورده های بیولوژیک

مطالعه میزان شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای استان ایلام با استفاده از آزمون الایزای خانگی

• **علیرضا البرزی(نویسنده مسئول)**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• **سارا عباسی**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز،اهواز، ایران
• **محمدحسین راضی جلالی**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
• **مسعود قربانپور**
گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

تاریخ دریافت: ۰۴-۰۷-۱۴۰۰ تاریخ پذیرش: ۱۶-۱۲-۱۴۰۰
Email: a.alborzi@scu.ac.ir

چکیده

لینگواتولا سراتا عامل لینگواتولوزیس، یک بیماری انگلی مشترک بین انسان و حیوان است. سگ‌سانان و نشخوارکنندگان به ترتیب میزبان‌های نهایی و واسط مهم این انگل هستند. هدف این مطالعه تعیین شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای مناطق مختلف استان ایلام با استفاده از روش سنجش ایمنی جاذب مرتبط با آنزیم (الایزا) بود. طراحی آزمون الایزا برای تشخیص آلودگی انگل در بزها با استفاده از آنتی‌ژن دفعی-ترشحی انگل، نمونه‌های سرم (۶۲ منفی و۴۰ مثبت) و کنژوگه-ضد IgG بز انجام شد. در مجموع ۸۰۵ نمونه سرم بز جمع‌آوری شده از پنج منطقه استان ایلام با آزمون الایزا آزمایش شد.

شیوع سرمی آلودگی انگلی در بزهای استان ایلام ۲۸/۵۷ ٪، ایلام (مرکز) ۶۵/۸٪، ، ایوان (شمال) ۶۳/۴٪، دهلران (جنوب) ۱۹/۲٪، چرداول (شرق) ۱۶/۹٪ و در مهران (غرب) ۹/۹٪ بود. شیوع سرمی بین مناطق مختلف استان بطور معنی‌داری متفاوت بود(P<۰/۰۱).

میزان شیوع بین جنس‌های نر و ماد به ترتیب ۳۲/۲٪ و ۲۴/۶٪ بود و اختلاف معنی‌داری بین دو جنس وجود داشت(P= ۰/۰۰۴). اختلاف معنی‌داری بین میزان آلودگی در گروه‌های سنی۲>-۱، ۳>-۲، ۴≥-۳ به ترتیب با ۲۷/۷٪، ۲۹/۵٪، ۲۸/۳٪ (P=۰/۸۴۹) و همچنین در گله‌های ساکن (۲۹/۱٪) و کوچ رو(۲۶/۹٪) مشاهده نشد (P=۰/۵۴۵).

نتیجه این مطالعه نشان داد که آزمون الایزا می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های سرولوژی مناسب در تشخیص آلودگی به لینگواتولا سراتا در بز مورد استفاده قرار گیرد. به دلیل وجود آلودگی در دام‌های منطقه، اقدامات آموزشی، پیشگیرانه برای کنترل و مدیریت بیماری توصیه می‌گردد.

کلمات کلیدی: الایزا، آنتی‌ژن، ایلام، بز، لینگواتولا سراتا

● Veterinary Researches & Biological Products No 137 pp: 52-58

Study on seroprevalence of *Linguatula serrata* infection in goats from Ilam province using an in-house ELISA test

By: Alborzi, A.R, (Corresponding Author) Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Abbasi, S., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. Razi jalali, M.H., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran. and Ghorbanpour, M., Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

Received: 2021-09-26 **Accepted: 2022-03-07**

Email:a.alborzi@scu.ac.ir

Linguatula serrata is the cause of linguatolosis, a parasitic disease common to humans and animals. Canines and ruminants are important final and intermediate hosts for the parasite respectively. The objective of this study was to determine the seroprevalence of *Linguatula serrata* infection in goats of different regions in Ilam province by using the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The ELISA test was designed to detect *Linguatula serrata* infection in goats using excretory-secretory antigens, serum samples (62 negative and 40 positive) and anti-goat IgG conjugate. A total of 805 goat serum samples collected from five regions of Ilam province were tested by ELISA.

Seroprevalence of parasite infection among goats in the province of Ilam was 28.57 percent, along with 65.8% in Ilam (center), 63.4% in Ivan (north), 19.2% in Dehloran (south), 16.9% in Chardavol (east), and 9.9% in Mehran (west).

The seroprevalence varied significantly between different areas of the province ($p<0.01$). There was no significant difference between the rate of infection in age groups 1- <2, 2- 3>, 3- ≥4 with 27.7%, 29.5%, 28.3%, respectively ($P = 0.849$), and also in resident (29.1%) and nomadic (26.9%) herds were not observed ($P=0.545$).

The results of this study indicate that the ELISA test can be used as one of the convenient serological methods to detect *Linguatula serrata* infection in goats. To control and manage the disease, educational and preventive measures are recommended due to the presence of infection in livestock of the region.

Keyword: Antigen, ELISA, Goat, Ilam, *Linguatula serrata*

مقدمه

لینگوآتولاسراتا برای اولین بار در سال ۱۷۸۹ به‌وسیله فرولیش گزارش گردید. این انگل از نظر رده‌بندی در شاخه‌ی بندپایان و خانواده‌ی لینگواتولیده قرار دارد. این انگل یکی از عوامل بیماری‌زای مشترک بین انسان و حیوانات (زئونوز) محسوب می‌شود. فرم بالغ آن در بینی و مجاری تنفسی میزبان نهایی بویژه سگ‌سانان زندگی می‌کند. آلودگی سگ به فرم بالغ انگل ممکن است فاقد و یا با نشانه‌های درمانگاهی شامل: عطسه، سرفه و ترشحات موکوسی اغلب خون آلود از بینی همراه باشد. تخم عفونی‌زای انگل همراه با ترشحات تنفسی یا مدفوع خارج شده و سبب آلودگی محیط می‌شود. نشخوارکنندگان به عنوان میزبان واسط با خوردن تخم انگل همراه آب و علوفه به لینگواتولوز احشایی مبتلا می‌شود. آلودگی در میزبان‌های واسط(لینگواتولوز احشایی) فاقد نشانه درمانگاهی است (۹، ۲۴). میزان شیوع آلودگی آن بستگی به وجود میزبان‌های نهایی و واسط آلوده، عوامل محیطی موثر در بقاء، پراکندگی و انتقال تخم انگل دارد. آلوده شدن نشخوارکنندگان نقش مهمی در ابتلای سگ‌ها با تغذیه آنها از احشاء آلوده دارد، بنابراین مطالعه در مورد این حیوانات (نشخوارکنندگان) از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۶، ۲۵، ۲۶).

انسان بطور تصادفی با خوردن تخم‌های انگل همراه مواد غذایی آلوده به مدفوع یا ترشحات تنفسی گوشتخواران آلوده شبیه میزبانان واسط به فرم احشایی و چشمی لینگواتولوزیس مبتلا می‌شود. علاوه براین در اثر بلع نوچه‌های انگل همراه با کبد خام یا نیم‌پزِ آلوده‌ی نشخوارکنندگان دچار لینگواتولوزیس حلقی می‌شود، اما معمولاً نوچه‌ها فرصت بلوغ پیدا نمی‌کنند (۶، ۱۸، ۲۲، ۲۹). لینگواتولا سراتا انگلی با پراکندگی جهانی است. در ایران گزارش‌های متعددی از آلودگی به نوچه لینگواتولا سراتا در انسان (۷، ۱۴، ۲۱، ۲۳)، نشخوارکنندگان یاسوج (۴۶/۷۶٪)(۱)، غرب کشور (۳۰/۵٪)(۳)، اهواز (۱۶/۶٪)(۵)، مازندران (۳۳/۹٪)(۱۰)، تبریز (۲۷/۱٪) (۱۱)، کرمان (۴۹/۱٪)(۱۶)، ارومیه (۶۸٪)(۲۸)، و نیز آلودگی به انگل بالغ در سگ‌ها (۸، ۱۵، ۱۷، ۲۰) وجود دارد. روش تشخیص آلودگی به این انگل بخصوص در نشخوارکنندگان غیر زنده، بررسی‌های کشتارگاهی و یافتن نوچه انگل اندام‌ها بویژه، غدد لنفاوی، کبد و ریه می‌باشد. بنابراین ارزیابی روش‌های سرولوژیکی که بتواند آلودگی در دام‌های زنده را نشان دهد. برای بررسی‌های اپیدمیولوژیک و برنامه‌های کنترلی از اهمیت خاصی برخوردار است. اگرچه، برای تشخیص آلودگی به لینگواتولا سراتا

در گوسفندان، روش سرمی الایزای غیر مستقیم طراحی و مورد ارزیابی قرار گرفته است(۲)، اما تاکنون روش الایزا برای تشخیص آلودگی به این انگل در بزها ارزیابی و اجرا نشده است. بنابراین با توجه به شیوع نسبتاً بالای آلودگی لینگواتولا سراتا در دام‌های برخی مناطق ایران، عدم وجود نشانه‌های درمانگاهی در نشخوارکنندگان مبتلا و نیز عدم وجود روشی برای تشخیص آن در دام‌های زنده بویژه در بزها، مطالعه‌ی حاضر به منظور طراحی روش الایزا در تشخیص لینگواتولا سراتا در بز و بررسی شیوع سرمی آلودگی به این انگل در بزهای استان ایلام انجام شد.

مواد و روش کار

تهیه سرم آلوده و غیرآلوده

برای تهیه سرم، با مراجعه به کشتارگاه اهواز، ۳۱۰ راس بز را شماره‌گذاری کرده، از هرکدام بطور جداگانه خون‌گیری بعمل آمده و در لوله‌های شماره‌گذاری شده جمع‌آوری شد. برای مشخص کردن آلودگی همزمان با خون‌گیری از عقده‌های لنفاوی مزانتری هریک از بزان بطور تقریباً یکسان نمونه‌گیری شد. تمام نمونه‌های جمع‌آوری شده به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی اهواز انتقال داده شد. سرم آن‌ها با دور ۱۵۰۰ سانتریفوژ به مدت ۲ دقیقه تهیه و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد. برای تعیین آلودگی نمونه‌ها به نوچه لینگواتولا سراتا، نمونه‌های عقده‌های لنفاوی را بطور جداگانه در پتری دیش حاوی آب ولرم قرار داده و با دسته آنس اقدام به له کردن عقده‌ها و نیز به منظور حصول نتیجه بهتر چند شیار مورب در سطح عقده‌های لنفاوی ایجاد می‌شد. در صورت وجود انگل، نوچه‌های سالم و زنده را با قلم مو جمع‌آوری و سرم آن‌ها به عنوان مثبت (آلوده) در نظر گرفته شد. نمونه سرم منفی (غیر آلوده) از بزغاله‌های چند ماهه که قبلاً تیتر آزمایش هماگلوتیناسیون آن‌ها صفر شده بود، تهیه گردید.پس از ارزیابی الایزای طراحی شده، در مجموع تعداد ۸۰۵ نمونه سرم بز از پنج منطقه جغرافیایی استان ایلام شامل: شهرستان های دهلران (جنوب)، ایوان (شمال)، چرداول (شرق)، مهران (غرب) و شهرستان ایلام (مرکز) و به صورت خوشه‌ای و با توجه به جمعیت دامی آن (از حدود ۴۰ گله و هر یک حدود ۲۰ نمونه) گرفته شد و با توجه برخی متغیرها (منطقه، سن، جنس و نوع گله) به روش الایزا مورد بررسی قرار گرفت.

تهیه آنتی‌ژن دفعی-ترشحی

برای تهیه آنتی‌ژن دفعی-ترشحی، تعداد ۲۰۰ نوچه زنده در ۱۰ میلی‌لیتر RPMI -۱۶۴۰، آنتی‌بیوتیک‌دار (استرپتومایسین ۱۰۰ میکروگرم در میلی‌لیتر- پنی‌سیلین ۱۰۰ واحد میلی‌لیتر) در داخل ظرف کشت قرار داده شد، برای جلوگیری از آلودگی ثانویه نوچه‌ها را در زیر هود و تحت شرایط استریل به ظرف کشت انتقال داده شد. ظرف‌های کشت در انکوباتور Co_2 دار به‌مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. سپس نوچه‌ها از محلول جدا و مایع باقی مانده با دور ۴۰۰۰ به مدت ۴ دقیقه سانتریفیوژ گردید و با فیلتر ۰/۲ میکرون پالایش شد و محلول باقی‌مانده به‌عنوان آنتی‌ژن دفعی-ترشحی در تعدادی میکروتیوپ در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. غلظت آنتی‌ژن دفعی-ترشحی به روش برادفورد به میزان حدود ۲۵ میکروگرم در میلی‌لیتر تعیین گردید(۲).

ارزیابی آزمون الایزای طراحی شده

برای ارزیابی آزمون الایزا تعداد ۱۰۲ نمونه سرم بز(۶۲ نمونه سرم منفی و تعداد ۴۰ نمونه سرم مثبت) مورد استفاده قرار گرفت.

سرم‌های مثبت از بزهایی که در بررسی غدد لنفاوی آن‌ها تعدادی نوچه انگل مشاهده شده بود تهیه شد. سرم‌های منفی از بزغاله‌های چند ماهه‌ای که تیتر آزمایش هماگلوتیناسیون آن‌ها صفر شده بود و در بررسی غدد لنفاوی آن‌ها نیز هیچ نوچه‌ای مشاهده نشده بود تهیه گردید. با توجه به نتایج بدست آمده شاخص‌های ارزیابی آزمون الایزا، حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی مثبت، ارزش پیشگویی منفی و دقت) تعیین شد. برای انجام آزمون الایزا ، ۱۰۰ میکرولیتر از رقت ۱:۵ آنتی‌ژن دفعی-ترشحی در چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه ریخته شد و به مدت یک شب در یخچال(۴ درجه سانتی‌گراد) گذاشته شد، سپس ۲ بار با محلول نمکی بافر فسفات توئین‌دار(PBST) و ۱ بار با محلول نمکی بافر فسفات(PBS) شسته شد. برای انجام مسدودسازی(بلوکینگ) ۲۰۰ میکرولیتر شیرپس چرخ بدون چربی به چاهک‌ها اضافه شد و پس از گذشت ۲ ساعت (در دمای آزمایشگاه) مانند مرحله قبل شستشو انجام شد سپس رقت بهینه سرم (۱:۲۵) پس از رقیق‌سازی (به مدت ۱ ساعت در پلیت الگو) به پلیت اصلی اضافه شد و پس از گذشت مدت ۳۰ تا ۴۵ دقیقه، ۳ بار با PBST و ۱ بار با PBS شستشو داده شد و مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از رقت بهینه کنژوگه ۱:۵۰۰۰ (ضد IgG بزی) در پلیت ریخته شد و به‌مدت ۴۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه گذاشته شد و مانند مرحله قبل شستشو انجام شد و به میزان ۸۰ میکرولیتر محلول کروموژن سوبسترای تترامتیل بنزیدین (TMB) به همه‌ی چاهک‌ها اضافه شد و پس از گذشت زمان ۱۵دقیقه، مقدار ۴۰ میکرولیتر محلول متوقف‌کننده واکنش به چاهک‌ها اضافه نموده و در مرحله آخر جذب نوری چاهک‌ها در دستگاه خوانش‌گر الایزا با طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده و ثبت شد(۲).

روش تعیین حد آستانه(نقطه برش) و شاخص‌های ارزیابی آزمون الایزا و نمونه‌گیری

برای تعیین حد آستانه، برای هر پلیت به‌صورت جداگانه و با محاسبه میانگین جذب نوری(OD) نمونه‌های کنترل منفی ضربدر ۱/۵ محاسبه گردید(Cut off = mean X ۱,۵). با استفاده از داده‌های بدست آمده از بررسی ۴۰ نمونه سرم مثبت و ۶۲ نمونه سرم منفی، شاخص‌های ارزیابی: حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی مثبت، ارزش پیشگویی منفی و دقت برای تشخیص آلودگی به این انگل در دام‌های مورد مطالعه تعیین گردید. در این رابطه مشاهده انگل در بررسی‌های کشتارگاهی نمونه‌ها به عنوان استاندار طلایی استفاده شد. نمونه‌هایی که نتیجه تست الایزا و بررسی کشتارگاهی آنها مثبت(دارای انگل) بودند به عنوان مثبت حقیقی (۳۵ نمونه)، نمونه‌هایی که نتیجه تست الایزا و بررسی کشتارگاهی آنها منفی(فاقد انگل) بودند به عنوان منفی حقیقی(۶۰ نمونه) در نظر گرفته شدند. علاوه براین نمونه‌های منفی که تست آنها مثبت بود، مثبت کاذب(۵ نمونه)، و نمونه‌های مثبتی که تست آنها منفی شده بود به عنوان منفی کاذب(۲ نمونه) در نظر گرفته شدند.

آزمون آماری

جهت تعیین ارتباط آلودگی با متغیرهای سن، جنس، گله‌های ساکن یا کوچرو (مربوط به عشایر کوچ رو) و، مناطق (شهرستان‌ها) از نرم‌افزار آماری SPSS نسخه ۲۱ و آزمون مربع کای با سطح معنی‌داری (P<۰/۰۵) در تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

نتایج

رقت مناسب آنتی‌ژن، کنژوگه و سرم

نتایج آزمون الایزا نشان داد که از بین ۴ رقت از ۱:۵، تا ۱:۴۰ آنتی‌ژن دفعی ترشحی رقت ۱:۵ مناسب‌ترین رقت آنتی‌ژن تشخیص داده شد. از بین ۷ رقت از ۱:۲۰۰۰ تا ۱:۶۴۰۰۰ کنژوگه ضد IgG بزی مورد ارزیابی رقت ۱:۵۰۰۰ بهترین رقت مشخص شد. از بین ۳ رقت از ۱:۵ تا ۱:۲۵ سرم بز رقت ۱:۲۵ به‌عنوان رقت مناسب بدست آمد.

نتایج ارزیابی الایزا و شاخص‌های آن برای تشخیص آلودگی به لینگواتولا سراتا در بز

ارزیابی۴۰ نمونه سرم مثبت (آلوده به لینگواتولا سراتا) و ۶۲ نمونه سرم منفی بز با رقت‌های مناسب سرم، آنتی‌ژن، کنژوگه و با آزمون الایزای طراحی‌شده انجام شد. نتایج شاخص‌های ارزیابی الایزا شامل: حساسیت (۸۷/۵ درصد)، ویژگی (۹۷/۶ درصد)، ارزش پیشگویی مثبت (۹۴/۶ درصد)، ارزش پیشگویی منفی (۹۲/۳ درصد) و دقت (۹۳/۱ درصد) برای تشخیص آلودگی انگل در بزها تعیین شد.

نتایج آزمایش نمونه‌های سرم بزهای ایلام با الایزای طراحی‌شده

از مجموع ۸۰۵ نمونه سرم از بزهای مناطق استان ایلام ۲۳۰ نمونه (۲۸/۵۷ ٪) به انگل لینگواتولاسراتا آلوده بودند. بیشترین میزان شیوع آلودگی به انگل در بزهای شهرستان ایلام و ایوان به‌ترتیب با (۶۵/۸ ٪ و ۶۳/۴ ٪) و کم‌ترین میزان شیوع در شهرستان مهران با (۹/۹ ٪ درصد) مشاهده شد. همان‌طور که در جدول یک مشاهده می‌شود، شیوع آلودگی در استان ایلام با ۹۵ درصد اطمینان در فاصله (۳۱/۷ ٪- ۲۵/۵ ٪) قرارگرفته است. نتایج بررسی آزمون کای‌دو نشان داد که بین شهرستان‌های استان ایلام از لحاظ شیوع آلودگی به انگل لینگواتولاسراتا تفاوت معنادار وجود دارد (P ≤ ۰/۰۰۱ و X۲ =۱۷۳/۱).

شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای استان ایلام برحسب سن

بر اساس جدول دو، اگرچه به نظر بیشترین شیوع آلودگی به انگل لینگواتولاسراتا با ۲۹/۵ درصد در بزهای دو تا کمتر از سه سال، ولی نتایج آزمون کای‌دو نشان می‌دهد بین گروه‌های سنی استان ایلام ازلحاظ شیوع آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (X۲=۰/۸۰۲ و p =۰/۸۴۹).

شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای استان ایلام برحسب جنس

با توجه به جدول سه از نمونه‌های نر ۳۲/۲، و از نمونه‌های ماده ۲۴/۶ درصد به لینگواتولاسراتا آلوده بودند. بر اساس نتایج به‌دست‌آمده می‌توان بیان کرد که میزان شیوع آلودگی در نمونه‌های نر بیشتر است که این میزان شیوع در فاصله‌ی (۳۶/۷ ٪-۲۷/۸ ٪) قرارگرفته است. نتایج آزمون کای‌دو نشان می‌دهد که بین بزهای نر و ماده از لحاظ آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود دارد (X۲ =۸/۳۳ و P=۰/۰۰۴).

شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای استان ایلام برحسب نوع گله (ساکن یا کوچرو)

همان‌طور در جدول چهار نشان داده شده میزان شیوع آلودگی در گله‌های ساکن (۲۹/۱ ٪) و در گله‌های کوچرو (۲۶/۹ ٪) بود. شیوع آلودگی در نمونه‌های گله‌های ساکن با ۹۵ درصد اطمینان در فاصله (۳۲/۸ ٪ - ۲۵/۵ ٪) و در نمونه‌های گله‌های کوچرو در فاصله (۳۲/۹ ٪ - ۲۱/۱ ٪) قرار دارد. نتایج آزمون کای دو نشان داد که بین گروه‌ها (ساکن و کوچ رو) ازلحاظ آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود ندارد (X۲ =۰/۳۶۶

جدول ۱- شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزهای استان ایلام برحسب مناطق(شهرستان‌های) استان ایلام.

منطقه	تعداد	تعداد آلوده	حد بالا٪	حد پائین٪
ایلام	۱۲۰	[a] (۶۵/۸٪)۷۹	۷۴/۳	۵۷/۳
ایوان	۸۲	[a] (۶۳/۴٪)۵۱	۷۲/۷	۵۱/۷
چرداول	۲۰۱	[b] (۱۶/۹٪)۳۴	۲۲/۱	۱۱/۷
مهران	۱۲۱	[c] (۹/۹٪)۱۲	۱۵/۲	۴/۶
دهلران	۲۸۱	[b] (۱۹/۲٪)۵۴	۲۳/۸	۱۴/۶
جمع	۸۰۵	(۲۸/۵۷٪)۲۳۰	۳۱/۷	۲۵/۵

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ می‌باشد.

و ۰/۵۴۵ P=).

بحث و نتیجه‌گیری

در آزمون الایزای حاضر، برای تشخیص آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزها مناسب‌ترین رقت‌ها برای سرم آنها ۱:۲۵، آنتی‌ژن دفعی-ترشحی ۱:۵، و برای کنژوگه ضدایمونوگلوبین بز ۱:۵۰۰۰ بدست آمد. البرزی و همکاران (۲) در ارزیابی الایزا برای تشخیص آلودگی لینگواتولا سراتا در گوسفند رقت (۱:۵۰۰۰) را مناسب‌ترین رقت برای کنژوگه-ضد IgG گوسفند، گزارش کردند که در مقایسه با مطاله حاضر نتیجه مشابهی را نشان داد. در مطالعه آنها مناسب‌ترین رقت‌ها برای سرم گوسفند و آنتی‌ژن دفعی-ترشحی انگل به ترتیب رقت ۱:۱۰۰ و رقت ۱:۴ گزارش شده است که با نتایج مطالعه حاضر متفاوت است. مقایسه نتایج این دو مطالعه نشان می‌دهد که برای طراحی الایزا، گرچه اطلاعات قبلی از رقت‌ها برای ارزیابی الایزا در یک حیوان (گوسفند) می‌تواند برای شروع کار مفید باشد اما، لازم است برای هر نوع حیوان (بز) تعیین مناسب‌ترین رقت‌ها (سرم، کنژوگه، آنتی‌ژن) به‌صورت جداگانه صورت بگیرد.

در روش الایزای حاضر شاخص‌های ارزیابی آزمون الایزا برای تشخیص آلودگی لینگواتولا سراتا در بزها یعنی حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی مثبت، ارزش پیشگویی منفی به ترتیب ۸۷/۵، ۹۷/۶، ۹۴/۵۹ و ۹۲/۳ بدست آمد. در صورتی‌که در مطالعه البرزی و همکاران(۲)، این شاخص‌های آزمون الایزا با آنتی‌ژن دفعی ترشحی برای گوسفندان به ترتیب ۸۹/۰۴ و ۹۳/۸، ۹۵/۶، ۸۴/۹ گزارش شده است. تفاوت و بالا بودن شاخص‌های ارزیابی آزمون الایزا برای بز نسبت به گوسفند احتمالاً می‌تواند به دلیل حساسیت بالای سیستم ایمنی بز و بالا بودن میزان آنتی‌بادی در سرم آن باشد. بنابراین، شاید بتوان به این نتیجه رسید که آزمون الایزا برای تشخیص آلودگی به این انگل در بز روش حساس‌تر و مطمئن‌تری است که البته نیازمند مطالعات تکمیلی بیشتری است. با توجه به اینکه الایزا یک روش کمی است بنابراین به دلیل امکان تعیین دقیق‌تر شاخص‌های ارزیابی، این روش در مطالعات همه‌گیرشناسی از کارایی و حساسیت بیشتری برخوردار است. از روش الایزا در مطالعات متعددی به‌منظور ارزیابی و تشخیص آلودگی‌های انگلی استفاده شده است بطوری‌که گودارد و همکاران (۱۲)، در مطالعه‌ای با روش الایزای مستقیم با استفاده از آنتی‌ژن دفعی_ترشحی لارو مرحله اول استروس اویس فاکتورهای حساسیت و ویژگی آن را به ترتیب ۹۷/۴ و ۹۷/۴ درصد به دست آوردند.

با روش الایزای طراحی‌شده از مجموع ۸۰۵ نمونه سرم از بزهای مناطق استان ایلام میزان شیوع آلودگی در مناطق ایلام، ایوان، چرداول، مهران و دهلران به ترتیب ۶۵/۸ ٪، ۶۳/۴ ٪، ۱۶/۹ ٪، ۹/۹ ٪ و۱۹/۲ ٪ به دست آمد. در مطالعه البرزی و همکاران (۳) به روش الایزا در گوسفندان غرب ایران، میزان شیوع آلودگی در ایلام، سیروان، مهران، دهلران و آبدانان به ترتیب ۱۸٪، ۲۸/۳ ٪، ۲۵ ٪ ، ۴۹ ٪ و ۴۰/۸ ٪ گزارش شد. با مقایسه نتایج میزان شیوع آلودگی در بزان و گوسفندان ایلام در مناطق مشابه، تفاوت‌هایی مشاهده می‌شود، به نظر می‌رسد در میزان آلودگی

جدول ۲- شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در بزهای استان ایلام به روش الایزا برحسب سن.

سن (سال)	تعداد	تعداد آلوده	حد بالا٪	حد پائین٪
۱-<۲	۲۴۵	[a] (۲۷/۷٪)۶۸	۳۳/۴	۲۲/۱
۲-<۳	۲۸۱	[a] (۲۹/۵٪)۸۳	۳۴/۹	۲۴/۲
۳-≥۴	۲۷۹	[a] (۲۸/۳٪) ۷۹	۳۴/۸	۲۳/۴
جمع	۸۰۵	(۲۸/۵۷٪)۲۳۰	۳۱/۷	۲۵/۵

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ می‌باشد.

جدول ۳- شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در بزهای استان ایلام به روش الایزا برحسب جنس.

جنسیت	تعداد نمونه	تعداد آلوده	حد بالا٪	حد پائین٪
نر	۴۱۵	[a] (۳۲/۲٪)۱۳۴)	۳۶/۸	۲۷/۸
ماده	۳۹۰	[b] (۲۴/۶٪) ۹۶	۲۸/۹	۲۰/۳
جمع	۸۰۵	(۲۸/۵۷٪)۲۳۰	۳۱/۷	۲۵/۵

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با P<۰/۰۵ می‌باشد.

عواملی چون: نوع دام، تفاوت‌های پاسخ‌های ایمنی، رفتاری و تغذیه‌ای آن‌ها تأثیرگذار باشد و احتمالاً بزها یا بیشتر آلوده می‌شوند و یا سیستم ایمنی حساس‌تر و یا پاسخ دهنده‌تری نسبت به گوسفند دارد. بالا بودن آلودگی بزهای شهرستان ایلام ۶۵/۸ ٪ نشان‌دهنده آلودگی بالای سگ‌های منطقه است، چنانکه بهرامی و همکاران(۸)، به روش بررسی کالبدگشایی، آلودگی سگ‌های اطراف کشتارگاه شهرستان ایلام به لینگواتولا سراتا را حدود ۴۰/۶ درصد گزارش کرده‌اند، بنابراین بالا بودن شیوع آلودگی در بزان این منطقه دور از انتظار نخواهد بود. ولی‌نژاد و همکاران(۲۸) میزان فراوانی آلودگی بزهای استان لرستان را به این انگل ۵۲/۹۱ درصد گزارش کردند. نورالهی فرد و همکاران(۱۶) ۴۹/۱ درصد از بزهای کرمان را آلوده به نوچه لینگواتولا سراتا گزارش نمودند. در مطالعه توسلی و همکاران(۲۷) در جمعیت بزهای ارومیه، ۳۶/۷۵ درصد از عقده لنفاوی مزانتریک در آن‌ها آلوده به نوچه لینگواتولا سراتا بودند. به نظر می‌رسد روش بررسی آلودگی نیز از دیگر دلایل این تفاوت باشد چراکه در روش کشتارگاهی بطور معمول تمام عقده‌های لنفاوی، کبد و یا سایر ارگان‌های داخلی یک دام مورد بررسی قرار نمی‌گیرد در صورتی‌که در روش‌های سرمی به علت نوع نمونه (سرم)، ردیابی آنتی‌بادی مربوطه در آن، دقت و حساسیت بالا، امکان وسیع‌تر و مطمئن‌تری را فراهم می‌کند. در مطالعه حاضر برخلاف انتظار میزان شیوع آلودگی به لینگواتولا سراتا در گروه‌های سنی مختلف در بزان استان ایلام تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، شاید به تفاوت فعالیت نوچه‌ها در میزبان‌ها مرتبط باشد. در مطالعه کشتارگاهی حسن‌زاده و همکاران(۴) در بزهای شهریار میزان آلودگی با افزایش سن ارتباط مستقیمی داشت. در بررسی حاضر نشان می‌دهد که در استان ایلام بین دام‌های نر و ماده از لحاظ آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($P \leq ۰/۰۱۶$). در مطالعه البرزی و همکاران(۳) میزان شیوع سرمی آلودگی در در گوسفندان نر(۳۱/۵ ٪) بیشتر از ماده (۲۸/۹ ٪) بود. در این بررسی میزان شیوع آلودگی در گله‌های ساکن ۲۹/۱ ٪ و در گله‌های کوچ رو ۲۶/۹ ٪ به دست آمد و بین گروه‌ها (ساکن و کوچ‌رو) ازلحاظ آلودگی تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این‌حال همانطور که انتظار می‌رود در گله‌های ساکن به دلیل حضور و پرسه سگ‌ها بخصوص سگ‌های بدون صاحب و افزایش انتشار تخم انگل احتمال آلودگی حیوانات در اطراف شهرها، بخش‌ها، روستاها و مناطق نگهداری آنها بیشتر خواهد بود.

در یک نتیجه‌گیری نهایی، الایزا می‌تواند به عنوان یکی از روش‌های سرولوژی کاربردی و مناسب برای تشخیص آلودگی به لینگواتولا سراتا در بزها مورد استفاده قرار گیرد. به علت آلودگی نسبتاً بالا در بزهای منطقه، اقدامات آموزشی، پیشگیرانه و کنترلی برای کاهش آلودگی در دام‌ها به ویژه سگ‌های منطقه ضروری است.

تشکر و قدردانی

از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر تامین هزینه این تحقیق که در قالب طرح پایان‌نامه کارشناسی ارشد اجرا گردید، کمال تشکر و قدردانی را داریم.

منابع مورد استفاده

1-Alborzi, A. and T. Darakhshandeh. 2008. A survey on infection of *Linguatula serrata* nymphs in sheep slaughtered at Yasuj abattoir. *Iranian Veterinary Journal* 4(1):103-109

2-Alborzi, A.R., M. Ghorbanpoor., H. Hamidinejat., M. Poormehdi Boroujeni and A. Mehdizadeh. 2015. Development and evaluation of an indirect ELISA test for serodiagnosis of *Linguatula serrata* infection in sheep. *Iranian Veterinary Journal* 11(1):24-33.

3- Alborzi, A.R., M. Ghorbanpoor., H. Hamidinejat., S. Chamanara and S. Noori. 2016. Seroprevalence of *Linguatula serrata* nymph infection in sheep from west of Iran by ELISA. *Iranian Veterinary Journal* 12(2):1-9.

4- Hassanzadeh khanbaghi, A., Sh. Ranjbar bahadori. And N. Hooghogi Rad. 2013. Survey of linguatulosis occurrence in small ruminants Slaughtered in Shahriyar Abattoir. Comparative Pathology, *Journal of Islamic Azad University, Tehran* 10(4): 1059-1064.

5-Alborzi, A.R., P. Haddad Molayan and M. Akbari. 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.

6-Acha, P.N. and B. Szyfre. 2003. Zoonoses and communicable diseases common to man and animals (Parasitosis). PP. 345-380, Pan American Health Organization. Washington, DC,

جدول ۴- شیوع سرمی آلودگی به لینگواتولاسراتا در بزهای استان ایلام به روش الایزا برحسب نوع گله.

ساکن-کوچ رو	تعداد	تعداد آلوده	حد بالا٪	حد پائین٪
ساکن	۵۹۰	۱۷۲ (۲۹/۱٪) [a]	۳۲/۸	۲۵/۵
کوچ رو	۲۱۵	۵۸ (۲۶/۹٪) [a]	۳۲/۹	۲۱/۱
جمع	۸۰۵	۲۳۰ (۲۸/۵۷٪)	۳۱/۷	۲۵/۵

تفاوت حروف در هر ستون نشانه اختلاف معنی‌دار با $P<۰/۰۵$ می‌باشد.

7- Anaraki Mohammadi, G., I. Mobedi., M. Ariaiepour., Z. Pourmohammadi and M. Zare Bidaki. 2008. A Case Report of Nasopharyngeal Linguatuliasis in Tehran, Iran and Characterization of the Isolated Linguatula serrata. *Iranian Journal of Parasitology* 3(1):53-5.

8- Bahrami, A.M., S. Yousofzadeh. and A. Kermanjani. 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.

9-Bowman, D.D., R.C Lynn. and M.L. Eberhard. 2003. Georgis Parasitology for Veterinarians. PP: 76-77. In: (8th ed). Elsevier Science, USA.

10- Esmail-Nia K., S. Hadizadeh-Moalem., A. Derakhshanfa and G. Moatamedi. 2000. A study on the prevalence of *Linguatula serrata* infestation in small ruminants of Mazandaran Province in Babol abattoir. *Pajouhesh and Sazandegi* 54: 94–97. (in Farsi)

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

12- Goddard, P., P. Bates. and K.A. Webster. 1999. Evaluation of a direct ELISA for the serodiagnosis of Osterus ovis infection in sheep. *Veterinary Record* 12(144):497-501.

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

14- Maleky, F. 2001. A case report of *Linguatula serrata* in human throat from Tehran, central Iran. *Indian Journal of Medicine Science* 55:439-41.

15- Meshgi, B. and O. Asgarian. 2009. Prevalence of *Linguatula serrata* Infestation in Stray Dogs of Shahrekord, Iran. Journal of Veterinary Medicine, Series B 50(9): 466–467.

16-Nourollahi-Fard, S. R., R. Kheirandish., E. Norouzi-Asl. and S. Fathi. 2010.The prevalence of *Linguatula serrata* nymphs in goats slaughtered in Kerman slaughterhouse, Kerman, Iran. *Veterinary Parasitology*171(1-2):176–178.

17- Oryan, A., S. Sadjjadi., D. Mehrabani and M. Rezaei. 2007. The status of *Linguatula serrata* infection of stray dogs in Shiraz, Iran. *Comparative Clinical Pathology*17(1):55-60.

18 –Saumya, Pal, S., M. Bhargava., A. Kumar., N. Mahajan., S. Das., K. Nandi., S. Guha., M. Raman., N. Jeyathilakan. and J. Biswas. 2011. An unusual intraocular tongue worm in anterior chamber: a case report. *Ocular Immunology and Inflammation* 19(6):442-443.

19- Razavi, SM., SS. Shekarforoush and M. Izadi. 2004. Prevalence of *Linguatula serrata* nymph in goats in Shiraz, Iran. *Small Ruminant Research* 54: 213–217.

20- Rezaei, F., M. Tavassoli and A. Mahmoudian. 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.

21- Sadjjadi, S.M., S.M. Ardehali and A. Shojaei. 1998. A case report of *Linguatula serrata* in human pharynx from Shiraz, Southern Iran. *Medical Journal of Islamic Republic of Iran*12:193-194.

22- Schmidt, G.D. and L.S. Roberts. 2000. Foundation of Parasitology. (6th ed.). McGraw- Hill International Editions, Singapore. pp: 485 - 490.

23- Siavashi M. R., M. Assmar and A. Vatankhah. 2002. Nasopharyngeal pentastomiasis (Halzoun): report of 3 cases. *Iranian Journal of Medical Sciences* 27(4):191-192.

24-Soulsby, E.J.L. 1982. Helminths, Arthropods & Protozoa of domesticated Animals. (7th ed.). Bailliere Tindall and Cassell Ltd, London. pp: 497-498.

25-Tappe, D. and D.W. Buttner. 2009. Diagnosis of human visceral pentastomosis, *PLOS Neglected Tropical Diseases* 3(2):320.

26- Tappe, D., R. Winzer., D. W. Buttner., P. Strobel., A. Stich., H. Klinker and M. Frosch. 2006. Linguatuliasis in Germany. *Emerging infectious diseases* 12(6):1034-6.

27- Tavassoli M., H. Tajik., B. Dalir-Naghadeh. and H. Lotfi. 2007. Study of *Linguatula serrata* infestation in mesenteric lymph nodes of goats in slaughterhouse of Urmia, Iran. *Iranian Veterinary Journal* 3: 85–90.

28.Valinejad MR., H. Shokrani. and Gh. Farjanikish. 2019. Frequency, pathology and public health importance of linguatulosis in goats slaughtered in Lorestan province abattoirs, *Veterinary Researches & Biological Products* 125: 51-58.

29-Yilmaz H., Z. T. Cengiz., M. Cicek. and A.C. Dulger. 2011. A nasopharyngeal human infestation caused by *Linguatula serrata* nymphs in Van province: a case report. *Turkiye Parazitol Derg* 35:47-9.