



# دانشگاه علوم پزشکی کرمان

دانشکده پزشکی

پایان نامه مقطع دکتری تخصصی رشته انگل شناسی پزشکی

عنوان:

بررسی فراوانی توکسوپلازما گوندی در دام های ذبح شده (گوسفند، بز) به روش Nested PCR با ژن B1 و GRA6 و ایزولاسیون توکسوپلازما از شترهای ذبح شده به روش زیست سنجی و مقایسه تنوع ژنتیکی توکسوپلازما با مارکر GRA6 در شهر کرمان

توسط: امیر توکلی کارشک

استاد راهنما: دکتر ناصر ضیاعلی

استاد مشاور: دکتر زهرا بابایی

سال تحصیلی: ۹۶-۱۳۹۵



**Kerman University of Medical Sciences**

**Faculty of Medicine**

In Partial Fulfillment of the Requirements for the Ph.D Degree  
of medical parasitology

**Title:**

**Survey on frequency *T. gondii* in in slaughtered animals (sheep, goat) with  
Nested PCR(B1&GRA6) and isolation toxoplasma from slaughtered camel  
with bioassay method and comparison genetic variation with markers GRA6  
in Kerman district**

**By:**

**Amir Tavakoli kareshk**

**Supervisor:**

**Dr.Naser Zia-Ali**

**Advisor:**

**Dr.Zahra Babaei**

**Year:**

**2017**

## چکیده

### مقدمه و اهداف:

توکسوپلاسموز یک بیماری زئونوز شایع انگلی در جهان می باشد که سالانه ضررهای جانی و اقتصادی زیادی را به کشورهای درگیر متحمل می سازد؛ عامل این بیماری تک یاخته داخل سلولی به نام توکسوپلاسمای گوندی می باشد. تخمین زده شده است که حدود یک سوم مردم جهان آلوده به این انگل می باشند. این انگل از روش های مختلفی نظیر انتقال به وسیله آب آلوده حاوی اووسیت های دفع شده از گربه سانان، خوردن گوشت نیم پز یا خام آلوده به کیست و یا از طریق مادرزادی منتقل می گردد. این مطالعه برای تشخیص DNA انگل توکسوپلاسمای گوندی در گوشت دام (گوسفند و بز) و همچنین در شتر به روش بیواسی انجام شده است.

### مواد و روش ها:

در این مطالعه که در شهرستان کرمان انجام شد نمونه های مختلفی از دام های ذبح شده در کشتارگاه های کرمان شامل دیافراگم و قلب مغز مربوط دام های اهلی (گوسفند، بز، شتر) جمع آوری شد و از نظر آلودگی به توکسوپلاسموزیس بررسی گردید. در این پژوهش از ۴۰ گوسفند، ۴۰ بز، ۵۰ شتر در کشتارگاه نمونه های قلب و دیافراگم جمع آوری گردید. ابتدا نمونه ها هموزن شده و پس از فرایند تخلیص DNA آزمایش Nested PCR- RFLP و sequencing بر روی مارکر های GRA6 و B1 آن ها انجام شد و نتایج مورد بررسی قرار گرفت.

### نتایج:

در نمونه های گوسفند شهرستان کرمان در مجموع آلودگی به توکسوپلاسمای ۵۶٫۶٪ گزارش گردید که ۲۷٫۵٪ آلودگی در نمونه های دیافراگم، ۵۲٫۵٪ آلودگی در نمونه های قلب و ۹۰٪ آلودگی در نمونه های مغز به دست آمد. همچنین در نمونه های بز، مجموع آلودگی به توکسوپلاسمای ۴۴٫۱۶٪ گزارش گردید که ۵۰٪ آلودگی در نمونه های دیافراگم، ۲۲٪ آلودگی در نمونه های قلب بود. مجموع آلودگی به توکسوپلاسمای شتر با روش بیواسی ۲۶٪ گزارش گردید که ۱۴٪ آلودگی در نمونه های دیافراگم، ۱۲٪ آلودگی در نمونه های قلب بود.

### نتیجه گیری:

نتایج این پژوهش نشان داد که آلودگی گوسفند و بز نسبت به اکثر مطالعات قبلی در سایر مناطق کشور بالاتر می باشد. به نظر می رسد تست استفاده شده برای تعیین آلودگی، شرایط اکولوژیک منطقه، نحوه پرورش و تغذیه دام، سن دام و سایر عوامل در میزان آلودگی

موثر می باشند. آلودگی در گوسفند ماده بیشتر از جنس نر دیده شد و در اکثر مطالعات بین دو جنس این تفاوت وجود دارد. در این مطالعه برای اولین بار آلودگی به توکسوپلاسموز در گوشت شتره روش بیواسی انجام شد.

#### کلمات کلیدی :

ایزولاسیون، زیست سنجی، GRA6 nested-PCR، توکسوپلاسم گوندی، دام

## Abstract

**Background and objectives:** Toxoplasmosis is a common parasitic zoonosis in the world that has suffered annual losses of life and property on the countries involved makes factor called *Toxoplasma gondii* is an intracellular protozoan disease. This study was designed to detect parasitic DNA in tissues from sheep, goats and camels raised and slaughtered in the southeastern Iran as well as to genetically characterize infecting strains of *T. gondii*.

**Materials and methods:** A total of 300 tissue samples consisting of heart, brain, and diaphragm were obtained from sheep (n=40), goats (n=40) and camels (50) slaughtered in abattoirs from three provinces located in southeastern Iran including Kerman, Razavi Khorasan, and South Khorasan Provinces between February to October 2015. Nested PCR amplified the B1 and GRA6 genes. To determine the genetic characterization of positive samples, all genotyped positive samples were examined by PCR-RFLP. Sequencing analysis was performed to evaluate the prevalence of type strains (I, II and III).

**Results:** A total of 68 (56.66%) tissue samples of sheep and 53 (44.16%) from goats and 13 (26%) tissue samples of camels were found positive for the *T. gondii* B1 gene, that included 11 (27.5%) diaphragm, 21 (52.5%) heart, and 36 (90%) brain of sheep; and 20 (50%) diaphragm, 11 (22%) heart of goat and 7(14%) diaphragm, 6 (12%) heart of camels. Moreover, 22 (18.3%) tissue samples of sheep and 20 (16.6%) tissue samples of goats and 3(6%) tissue samples of camels were found positive with GRA6 gene for *T. gondii*. There are three genotypes and mix genotype using *mseI* enzyme among all positive samples.

**Conclusion:** The results demonstrated the presence of *T. gondii* DNA in tissues of sheep, goats and camels from southeast of Iran. Control of *Toxoplasma* infection animal products are important in consumer protection.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*, nested-PCR, sequencing, isolation, sheep&goat&camel



دانشگاه علوم پزشکی کرمان

مرکز تحصیلات تکمیلی دانشگاه

بسمه تعالی

صور تجلسه دفاع از پایان نامه

تاریخ .....

شماره .....

پیوست .....

دفاعیه پایان نامه تحصیلی آقای امیر توکلی کارشک دانشجوی دکتری تخصصی (Ph.D) رشته انگل شناسی پزشکی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان تحت عنوان " بررسی فراوانی توکسو پلازما گوندی در دامهای ذبح شده به روش Nested-PCR با ژن B<sub>1</sub> و GRA6 و زولاسیون توکسو پلازما از شترهای ذبح شده به روش بیواسی و مقایسه تنوع ژنتیکی توکسو پلازما با مارکر GRA6 در شهر کرمان " در ساعت ۱۰ صبح روز چهارشنبه مورخ ۹۶/۱۰/۶ با حضور اعضای محترم هیات داوران به شرح ذیل:

امضا	نام و نام خانوادگی	سمت
	جناب آقای دکتر ناصر ضیاعلی	الف: استاد راهنما
	سرکار خانم دکتر زهرا بابایی	ب: استاد مشاور
	جناب آقای دکتر محمد احمدی نژاد	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	جناب آقای دکتر حمید دانشور	ج: عضو هیات داوران (داخلی)
	سرکار خانم دکتر بهارک اختر دانش	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	جناب آقای دکتر حسین محمودوند	د: عضو هیات داوران (خارجی)
	جناب آقای دکتر حسین حسینی نوه	ه: نماینده تحصیلات تکمیلی

کلی گردید و ضمن ارزیابی به شرح پیوست با درجه ..... عالی ..... و نمره ..... ۱۹.۹۲ ..... مورد تأیید قرار گرفت.

