

The Investigation of Prevalence and Genotype of *Echinococcus Granulosus* in Owned Dogs of Shahrekord County, Southwestern Iran

Javad Forouzandeh¹, Ebrahim Saedi Dezaki², Somayeh Khodabakhshi³, Rahman Abdizadeh^{1,4}

1.MSc student, Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ORCID ID:00009-0006-0526-2255.

2.Assistant Professor, Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ORCID ID:0000-0003-1491-3911.

3.Master of Science of Medical Parasitology Department of Medical Parasitology and Mycology, Faculty of Medicine, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. ORCID ID: 0000-0002-9988-7304

4.Associate Professor, Cellular and Molecular Research Center, Basic Health Sciences Institute, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran. P.O. Box: 8813833435, (Corresponding Author), Email: rabdizadeh@yahoo.com, Tel: +98-38-3335635 ORCID ID:0000-0002-9977-1344.

ABSTRACT

Background and Aim: *Echinococcus granulosus* is one of the smallest cestodes of the digestive tract of dog and canids, with health and economic importance. Humans and herbivores animals are its intermediate hosts, and carnivores animals are its definitive hosts. So far, 10 genotypes of this parasite have been identified in different hosts. The present study was conducted to investigate the prevalence and determine the genotype of *E. granulosus* in owned dogs.

Materials and Methods: In this descriptive cross-sectional study 260 fecal samples of owned dogs were collected by recording demographic characteristics of Shahrekord County from 2018 to 2019. The samples were evaluated for *Echinococcus granulosus* infection using parasitological (formalin-ether and zinc sulfate concentration methods) and molecular (Polymerase Chain Reaction targeting the Cox1 gene, producing a 440 bp fragment), and sequencing methods. The results were then analyzed using SPSS Editor 24 software.

Result: The rate of infection with *Taenia* species in dogs using formalin-ether and zinc sulfate concentrations were 17.7% (46/260) and 18.1% (47/260), respectively. Furthermore the prevalence of *E. granulosus* in owned dogs using the PCR method was 5.4% (14/260). The sequencing results of the PCR products indicated that dogs were infected with the G1 genotype or the sheep strain. The statistical analysis of the data showed that there was not significant relationship between the prevalence of echinococcosis and age, gender, and habitat variables.

Conclusion: In this study, the infection of *E. granulosus* and G1 genotype were identified in owned dogs in Shahrekord County. Therefore, infection in dogs could pose a potential risk for their owners and the herbivores in this region, and it is recommended that control programs be designed and implemented. Furthermore, future studies should investigate infection in other hosts of parasite.

Keyword: Dog, *Echinococcus granulosus*, Genotype G1, PCR, Shahrekord county.

Received: Mar 27, 2025

Accepted: Sep 7, 2025

How to cite the article: Javad Forouzandeh, Ebrahim Saedi Dezaki, Somayeh Khodabakhshi, Rahman Abdizadeh. The Investigation of Prevalence and Genotype of *Echinococcus Granulosus* in Owned Dogs of Shahrekord County, Southwestern Iran. SJKU 2025;30(5):121-142. DOI: [10.22034/30.5.99](https://doi.org/10.22034/30.5.99)

Copyright © 2018 the Author (s). Published by Kurdistan University of Medical Sciences. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-Non Commercial License 4.0 (CCBYNC), where it is permissible to download, share, remix, transform, and buildup the work provided it is properly cited. The work cannot be used commercially without permission from the journal

بررسی شیوع و سویه‌های اکینو کوکوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد، جنوب غربی ایران

جواد فروزنده^۱، ابراهیم ساعدی دزکی^۲، سمیه خدابخشی^۳، رحمان عبدی زاده^۴

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. کد ارکید: ۲۲۵۵-۰۵۲۶-۰۰۰۶-۰۰۰۰.
۲. استادیار، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. کد ارکید: ۳۹۱۱-۱۴۹۱-۰۰۰۳-۰۰۰۰.
۳. کارشناسی ارشد انگل‌شناسی، گروه انگل‌شناسی و قارچ‌شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. کد ارکید: ۷۳۰۴-۹۹۸۸-۰۰۰۲-۰۰۰۰.
۴. دانشیار، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، پژوهشکده پایه سلامت، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران. (نویسنده مسئول) پست الکترونیک: r_abdizadeh@yahoo.com، تلفن: ۰۳۸۳۳۵۶۳۵، کد ارکید: ۱۳۴۴-۹۹۷۷-۰۰۰۳-۰۰۰۰.

چکیده

زمینه و هدف: اکینو کوکوس گرانولوزوس یکی از کوچک‌ترین سستوهای دستگاه گوارش سگ و سگ‌سانان بااهمیت بهداشتی و اقتصادی است که انسان و حیوانات گیاهخوار میزبان واسط و حیوانات گوشت‌خوار میزبان نهایی آن می‌باشند. تاکنون ۱۰ ژنوتایپ از این انگل در میزبان‌های مختلف شناسایی شده است. مطالعه حاضر جهت بررسی شیوع و تعیین ژنوتایپ اکینو کوکوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار انجام گرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه مقطعی توصیفی، ۲۶۰ نمونه از مدفوع سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد با ثبت مشخصات جمعیت شناختی طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید و با استفاده از روش‌های انگل‌شناسی تغلیظی فرمالین-اتر، سولفات روی و روش مولکولی (واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ژن *Cox1* به طول قطعه ۴۴۰ bp) و تعیین توالی از نظر آلودگی اکینو کوکوس گرانولوزوس مورد بررسی قرار گرفتند، سپس نتایج با نرم‌افزار SPSS ویراستار ۲۴ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج: میزان آلودگی سگ‌ها به گونه‌های انگل تنها با استفاده از روش‌های تغلیظی فرمالین-اتر و سولفات روی به ترتیب ۱۷/۷ درصد و ۱۸/۱ درصد بود، همچنین میزان شیوع اکینو کوکوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ۵/۴ درصد است. بررسی‌های تعیین توالی نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بیانگر آلودگی سگ‌ها به ژنوتایپ G1 یا سویه گوسفندی است. تجزیه و تحلیل داده‌ها بیانگر عدم ارتباط آماری معنی‌داری بین آلودگی اکینو کوکوس گرانولوزوس با متغیرهای جنسیت، سن و محل زیست است.

نتیجه‌گیری: در این مطالعه آلودگی اکینو کوکوس گرانولوزوس و ژنوتایپ G1 در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد شناسایی گردید؛ بنابراین آلودگی سگ‌ها می‌تواند خطر بالقوه‌ای برای صاحبان این حیوانات و آلودگی علفخواران این منطقه باشد که توصیه می‌شود برنامه‌های کنترلی طراحی و اجرا گردند. همچنین در مطالعات آینده آلودگی سایر میزبان‌های انگل بررسی شوند.

کلمات کلیدی: اکینو کوکوس گرانولوزوس، ژنوتایپ G1، سگ، شهرستان شهرکرد، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز.

وصول مقاله: ۱۴۰۴/۰۱/۰۷ اصلاحیه نهایی: ۱۴۰۴/۰۵/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۶/۱۶

مقدمه

این بیماری بین ۱/۳ تا ۳ نفر در هر ۱۰۰۰۰۰ نفر گزارش شده است (۶). کیست‌های هیداتید در میزبان‌های واسط بسیار آهسته پیشرفت می‌کنند و اندازه آن‌ها طی مدت چند ماه تا بیش از ۱۰ سال از چند سانتیمتر تا بیش از بیست سانتیمتر می‌رسد که در اکثر بیماران برای مدت طولانی بدون علامت هستند و حتی در طول زندگی علیرغم ابتلا هیچ نشانه‌ای را ظاهر نمی‌کنند که منجر به نادیده گرفتن تعداد کل عفونت‌ها می‌شود اما کیست‌ها می‌توانند بسته به بافت درگیر، اندازه و محل آن‌ها، همچنین ژنوتایپ انگل علائمی مانند درد شکم، زردی، سرفه، درد قفسه سینه، سردرد، تشنج، نقص‌های عصبی کانونی، اختلال شناختی و علائم افزایش فشار داخل جمجمه، حالت تهوع و استفراغ ایجاد کنند، به‌طور کلی علائم بیماری معمولاً زمانی که کیست‌ها بزرگ‌شده، عفونی یا پاره شوند، بروز می‌کنند که می‌تواند منجر به عوارض شدید گردند. غالباً کیست‌ها بافت‌های کبد و ریه را درگیر کرده که همراه با علائم غیراختصاصی مانند کاهش وزن، کسالت و کاهش اشتها هستند. در برخی افراد چندین کیست ممکن است بدون علائم بالینی فوری برای ساله در بافت‌های مختلف تشکیل گردند که پارگی ناگهانی کیست‌ها نشان‌دهنده یک رویداد بحرانی است و می‌تواند منجر به واکنش‌های آلرژیک شدید، عفونت‌های ثانویه یا انتشار انگل و گاهی مرگ میزبان گردد که شدت عوارض به اندام آسیب‌دیده و اینکه آیا نشت یا عفونت ثانویه رخ می‌دهد یا خیر، بستگی دارد (۷). مطالعه بیماری‌زایی و بقا اکینوкокوزیس انسانی نشان می‌دهد که بدون درمان یا با دسترسی محدود به آن، میزان مرگ‌ومیر بیمار در عرض ۱۰ تا ۱۵ سال پس از تشخیص عفونت بیش از ۹۰ درصد است (۷). علاوه بر تأثیر هیداتیدوزیس بر سلامت عمومی، عفونت‌های دامی منجر به خسارات اقتصادی عمده‌ای به دلیل از بین رفتن امعا و احشاء، کاهش وزن لاشه و تولید شیر، باروری و ارزش پوست دام‌ها می‌شود که سالانه منجر به ضرر و زیان اقتصادی حدود ۲ میلیارد دلاری در سطح جهان می‌شود لذا کیست

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره سی / آذر و دی ۱۴۰۴

اکینوкокوزیس یا هیداتیدوزیس یکی از مهم‌ترین و مخاطره‌آمیزترین بیماری‌های مشترک انسان و حیوان با انتشار جهانی است که به‌عنوان دومین عفونت انگلی منتقله از طریق غذا مطرح است و از جمله ۲۰ بیماری گرمسیری نادیده گرفته‌شده است که توسط سازمان بهداشت جهانی در اولویت قرار گرفته است (۱). این بیماری متعاقب جایگزینی و رشد مرحله لاروی سستوهای جنس اکینوкокوس متعلق به خانواده تنیده به شکل کیست شبیه کیسه در اندام‌ها و نسوج میزبان‌های واسط از قبیل علفخواران و انسان متعاقب مصرف تصادفی آب و مواد غذایی آلوده به تخم انگل از قبیل سبزی‌ها، همچنین تماس مستقیم با پوست و موی بدن میزبان‌های قطعی آلوده، خاک‌خواری ایجاد می‌شود و سالیانه موارد زیادی از ابتلای انسان به آن از مناطق مختلف جهان گزارش می‌شود که مبالغه‌ناگفتنی نیز جهت تشخیص و مداوای بیماران صرف می‌گردد (۲). در طبیعت کرم بالغ در روده باریک سگ و سگ‌سانان مانند گرگ، شغال، روباه و کاپوت یافت می‌شود و مرحله لاروی آن در بافت‌ها و اندام‌های طیف وسیعی از میزبانان واسط از قبیل انسان و علفخواران اهلی و وحشی مانند گوسفند، گاو، شتر جایگزین می‌گردد (۳). سازمان بهداشت جهانی احتمال ابتلا ۲ تا ۳ میلیون نفر به هیداتیدوزیس در سراسر جهان را گزارش کرده است که خسارت جهانی آسیب‌های سالانه انسانی مربوط به اکینوкокوزیس را ۱۹۳۰۰ مرگ و تقریباً ۸۷۱۰۰۰ سال زندگی تعدیل‌شده با ناتوانی را تخمین زده است که با توجه به آسیب‌های صنعت دامپروری هزینه کلی سالانه کیست هیداتید را در حدود ۳ میلیارد دلار آمریکا برآورد کرده است (۴). شیوع هیداتیدوزیس انسانی در مناطق اندمیک بیماری در جهان شامل آمریکای جنوبی، مدیترانه، اروپای شرقی، خاورمیانه، آفریقا و آسیای مرکزی به‌ویژه در مناطقی با صنعت دامداری و دامپروری سنتی بین ۱ تا ۷ درصد تخمین زده و سالانه تقریباً ۱۸۸۰۰۰ مورد جدید گزارش می‌گردد (۵). همچنین در ایران میزان بروز

تعیین گونه‌های اکتینوکوکوس گرانولوزوس کمک شایانی به کنترل و پیشگیری بیماری خواهد داشت. مطالعات مولکولی و ارزیابی‌های فیلوژنتیکی اخیر با استفاده از بررسی توالی ژن‌های میتوکندریایی (cytochrome oxidase subunit 1 (Cox1), NADH dehydrogenase subunit 1 (nad1)) و ژن‌های rRNA هسته‌ای (ITS1) (internal transcribed spacers) نشان داده‌اند اکتینوکوکوس گرانولوزوس شامل مجموعه‌ای از ۹ ژنوتیپ و یک سوش است که شامل *Echinococcus granulosus sensu stricto* (ژنوتایپ‌های گوسفند/G1، گوسفند تاسمانی/G2، بوفالو/G3)، *E. equinus* (اسب/G4)، *E. ortleppi* (گاو/G5)، *E. canadensis* (گوزن سانان، G10)، *E. intermedium* (شتر/G6، خوک/G7) و سوش *E. felidis* (شیر) می‌باشند. اگرچه ژنوتیپ‌های مختلف میزبان‌های واسط متفاوتی را آلوده می‌کنند اما ۷ ژنوتایپ G1، G2، G3، G5، G6، G7 و G10 برای انسان آلوده‌کننده هستند (۱۸). مطالعات مولکولی انجام شده بر روی کیست هیداتید انسانی و نشخوارکنندگان کشتار شده در کشتارگاه‌های مختلف و همچنین کرم‌های بالغ جدا شده و تخم شناسایی شده در مدفوع گوشت‌خواران ایران وجود ژنوتایپ‌های G1، G2، G3، G5، G6 و G7 را نشان می‌دهد. ژنوتیپ G1 سویه گوسفندی عامل غالب کیست‌های هیداتید انسانی در اکثر نقاط جهان از جمله ایران است (۹، ۱۰، ۱۹-۲۱). اگرچه تشخیص زودهنگام و درمان‌های جراحی و دارویی جزء مهم‌ترین روش‌های درمانی اکتینوکوکوزیس جهت بهبود افراد است، اما کاهش عفونت میزبان‌های قطعی هنوز کلید کنترل و پیشگیری هیداتیدوزیس انسانی است بنابراین بررسی مداوم آلودگی گوشت‌خواران وحشی و اهلی اعم از سگ‌های ولگرد و صاحب‌دار در مناطق مختلف جهان می‌تواند در کنترل و پیشگیری اکتینوکوکوزیس نقش مهمی در سراسر جهان داشته‌باشد. استان چهارمحال و بختیاری با توجه به منطقه جغرافیایی که در فلات مرکزی ایران و سلسله جبال زاگرس

هیداتید هزینه‌های اقتصادی قابل توجهی را بر کشورهای با درآمدهای کم و متوسط از طریق هزینه‌های مستقیم و غیرمستقیم مرتبط با درمان انسانی و خسارت‌های مربوط به دام تحمیل می‌کند (۵). در ایران هزینه کلی سالانه کیست هیداتید شامل هزینه‌های مستقیم و غیرمستقیم ۲۳۲/۳ میلیون دلار آمریکا تخمین زده شده است که هزینه مرتبط با هیداتیدوزیس انسانی ۹۳/۳۹ میلیون دلار و هزینه سالانه مرتبط با کیست هیداتید در صنعت دامپروری ۱۳۲ میلیون دلار تخمین زده شده است (۸). سگ‌ها نقش مهمی در انتقال و برقراری چرخه زندگی انگل در طبیعت دارند بنابراین نگهداری سگ به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل خطر برای ابتلا به هیداتیدوزیس انسانی است (۹). کیست هیداتید در اغلب نقاط کشور ایران و به‌خصوص مناطق روستایی به واسط وجود دامپروری‌های سنتی که ارتباط دام و سگ نزدیک‌تر است و همچنین کشتارهای غیربهداشتی نسبتاً شایع است (۱۰). بررسی سرواپیدمیولوژی کیست هیداتید انسانی انجام گرفته در ایران بیانگر شیوع متفاوت این بیماری در مناطق مختلف جغرافیایی ایران است به‌گونه‌ای که در تهران ۹/۷ درصد، زنجان ۳ درصد، ایلام ۱/۲ درصد، مشکین شهر ۱/۷۹ درصد، سنندج ۷/۳ درصد، کاشان ۲/۴ درصد، استان چهارمحال و بختیاری ۴/۸ درصد و خوزستان ۱۳/۸ درصد گزارش شده است (۱۱-۱۳). در مناطق مختلف ایران، میزان آلودگی سگ‌ها از ۱/۰۹ درصد (مازندران) تا ۶۴ درصد (گرمسار) گزارش شده است که با دفع تخم‌ها همراه با مدفوع در طبیعت موجب آلودگی میزبان‌های واسط می‌شوند (۱۴-۱۶). اکتینوکوکوس گرانولوزوس بر اساس مطالعات مولکولی شناساگرهای ژنتیکی هسته و میتوکندریایی دارای ده سویه متفاوت است که ممکن است بر بسیاری از جنبه‌های بیماری نظیر همه‌گیرشناسی، چرخه زندگی انگل از نظر میزبان‌های نهایی و واسط مختلف، بیماری‌زایی، کنترل، پیشگیری و حتی درمان اثر بگذارد (۱۷). برخی سویه‌ها برای انسان بیشتر آلوده‌کننده است، بنابراین راه‌اندازی و به‌کارگیری روش‌های جدید و سریع

روش نمونه‌گیری و جمع‌آوری نمونه‌ها

موقعیت جغرافیایی شهرستان شهرکرد

شهرستان شهرکرد یکی از شهرستان‌های استان چهارمحال و بختیاری است که با مساحت حدود ۱۷۶۷ کیلومتر مربع، بالغ بر ۱۱ درصد از کل مساحت چهارمحال و بختیاری را تشکیل داده است و مرکز آن شهر شهرکرد است که در قسمت شمال شرقی استان چهارمحال و بختیاری قرار گرفته است. این شهرستان در طول شرقی ۴۹ درجه و ۲۲ دقیقه تا ۵۰ درجه و ۴۹ دقیقه واقع است و از نظر عرض جغرافیایی در عرض شمالی ۳۲ درجه و ۲۰ دقیقه تا ۳۳ درجه و ۳۱ دقیقه قرار گرفته است. به لحاظ وضعیت توپوگرافی این شهرستان در بخش شرقی سلسله جبال زاگرس و در حاشیه گسل زاگرس قرار گرفته و مهم‌ترین ارتفاعات آن کوه جهان‌بین است که با ارتفاع بیش از ۳۳۰۰ متر آن را پوشانیده است. شهرکرد دارای اقلیم نیمه مرطوب معتدل با تابستان‌های معتدل و زمستان‌های بسیار سرد است. میانگین سالانه دمای هوا در شهرکرد ۱۱/۵ درجه سانتی‌گراد است. شهرستان شهرکرد از مهم‌ترین شهرستان‌های استان است که از شهرهای مهم این شهرستان می‌توان به شهرکرد، چالستر، سودجان، سورشجان، طاقانک، فرخ شهر، کیان، نافچ، وردنجان، هارونی و هفشجان اشاره کرد (۲۲) (شکل ۱).

واقع است و همچنین وجود تنوع آب و هوایی با میزان بارندگی قابل توجه به‌عنوان یکی از مهم‌ترین قطب‌های دامپروری کشور است و با حضور عشایر دامدار از مناطقی است که بیماری در آن اندمیک است. علاوه بر این می‌توان ذکر کرد که در این منطقه نگهداری دام سبک و سنگین همراه با نگهداری سگ به‌عنوان نگهبان گله، محافظ منازل و اماکن صنعتی به‌صورت عمومی رواج دارد و در اصل با زندگی مردم کاملاً آمیخته شده است. علاوه بر این وجود سگ‌های ولگرد در اطراف شهرها و روستاها و امکان ورود آن‌ها به اماکن مسکونی روستایی بخصوص در فصول سرد امکان آلودگی ساکنین این مناطق را محتمل می‌سازد، بنابراین وجود سگ‌های گله، سگ‌های ولگرد و در پاره‌ای موارد سگ‌سانان وحشی به‌عنوان میزبان نهایی اکینوкокوس گرانولوزوس در استان دارای نقش تعیین‌کننده‌ای در همه‌گیرشناسی انگل می‌باشند لذا در این مطالعه میزان شیوع و ژنوتیپ انگل اکینوкокوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد که ارتباط نزدیکی با انسان دارند مورد بررسی قرار گرفت که می‌تواند در ارزیابی‌های بعدی همه‌گیرشناسی، کنترل، پیشگیری و حتی درمان بیماری حائز اهمیت ویژه باشد.

مواد و روش‌ها



شکل ۱: تصویر نقشه شهرستان شهرکرد واقع در جنوب غربی ایران. محل نمونه‌گیری و جایگاه محل انجام مطالعه در شهرستان شهرکرد، استان چهارمحال و بختیاری، کشور ایران.

نمونه‌گیری

در این مطالعه مقطعی توصیفی تعداد نمونه‌ها با توجه به مطالعات انجام‌گرفته در ایران با فرض شیوع متوسط ۲۰ درصد، با در نظر گرفتن فاصله اطمینان ۹۵ درصد و دقت ۰/۰۵، حجم نمونه ۲۴۵ سگ تعیین گردید که ۲۶۰ نمونه مدفوع سگ‌های صاحب‌دار شامل سگ‌های نگهبان، مراکز دامپروری و سگ‌های گله از دوازده شهر و روستاهای تابعه شهرستان شهرکرد شامل شهرکرد، فرخ‌شهر، هفشجان، سورشجان، چالشر، شمس‌آباد، نافچ، سودجان، هارونی، وانان، نوآباد، سیرک، طاقانک، شهرکیان، بهرام‌آباد، اسدآباد و وردنجان طی سال ۹۸-۱۳۹۷ از مقعد حیوانات پس از مقید کردن به کمک صاحبان حیوانات یا بلافاصله پس از دفع مدفوع جمع‌آوری گردیدند. قبل از نمونه‌گیری اهمیت آلودگی انگل اکینو کوکوس گرانولوزوس و آزمایش‌های مربوطه برای صاحبان سگ‌ها توضیح داده شد و پس از کسب اجازه مبادرت به اخذ نمونه‌ها گردید. هر نمونه شامل حدود ۱۵ گرم مدفوع تازه بود که با رعایت کامل اصول بهداشتی از قبیل پوشیدن دستکش از حیوانات

گرفته‌شده و پس از جمع‌آوری داخل یک کیسه زیپ‌دار قرار می‌گرفت و بر روی آن مشخصات آن از قبیل محل نمونه‌گیری، جنسیت سگ و سن حیوان، همچنین سابقه دریافت داروهای ضد انگلی ثبت می‌شد. نمونه‌ها بلافاصله داخل ظرف coolbox قرار داده‌شده و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد منتقل گردیدند و به نمونه‌های جمع‌آوری‌شده شماره خاصی تخصیص داده می‌شد.

آماده‌سازی نمونه‌ها

ابتدا پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه، جهت رفع آلودگی‌های زئونوتیک احتمالی مدفوع‌ها در بسته‌های محکم و غیرقابل نفوذ در کیسه‌های پلاستیکی بسته‌بندی گردیدند و به فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی دانشکده پزشکی شهرکرد منتقل شدند و به مدت سه هفته در این دما نگهداری شدند. سپس نمونه‌ها به فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند (۲۳).

بررسی ماکروسکوپی

برابر از نظر آلودگی تخم گونه‌های تنیا بر اساس ویژگی‌های ریخت‌شناسی مورد بررسی قرار گرفتند (۲۴، ۲۵).

بررسی مولکولی

استخراج دزکسی ریبونوکلئیک اسید

در مطالعه حاضر برای استخراج دزکسی ریبونوکلئیک اسید از تخم‌های جداسازی شده از نمونه‌های آلوده در مشاهده مستقیم شناورسازی سولفات روی از کیت محصول کشور تایوان Favorprep stool DNA Isolation Mini استفاده گردید. پس از شناورسازی رسوب نمونه مدفوع با سولفات روی، ۵ میلی‌لیتر از مایع رویی در فالتکون‌های ۵۰ میلی‌لیتری جمع‌آوری گردید و با آب مقطر حجم محلول به ۵۰ میلی‌لیتر رسید و با دور ۱۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید سپس مایع رویی تخلیه گردید و ۵۰ میکرولیتر از رسوب که حاوی تخم انگل بود جهت استخراج DNA استفاده گردید. سپس دیواره مستحکم تخم‌های جداسازی شده با استفاده از روش فریز و انجماد در ازت مایع و آب جوش با ۸ تکرار متلاشی گردید و در ادامه استخراج DNA طبق دستورالعمل کیت انجام گرفت و کیفیت و کمیت DNA استخراج‌شده با نانودراپ ارزیابی گردید، نهایتاً در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری گردیدند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

در این مطالعه با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز قسمتی از ژن میتوکندریایی انگل (Cox1) به کمک آغازگرهای اختصاصی طراحی‌شده توسط Bowles و همکارانش تکثیر یافت (۲۶).

JB3: 5'-TTTTTTGGGCATCCTGAGGTTTAT-3'

JB4: 5'-

TAAAGAAAGAACATAATGAAAATG-3')

نمونه مدفوع سگ‌ها در هنگام نمونه‌گیری از لحاظ ماکروسکوپی شامل قوام، رنگ و وجود بند کرم‌ها، خون یا موکوس مورد ارزیابی قرار گرفتند و برای هر نمونه ثبت گردید.

بررسی میکروسکوپی

آزمایش میکروسکوپی نمونه‌های مدفوع با استفاده از دو روش سدیماتاسیون فرمالین-اتر و فلوتاسیون سولفات روی (وزن مخصوص ۱/۳۵) جهت مشاهده تخم کرم‌ها انجام گرفت؛ بنابراین لازم بود تا جهت مشاهده تخم انگل و محتویات داخل تخم، لام‌های تهیه‌شده با سرم فیزیولوژی و لوگل مورد بررسی میکروسکوپی قرارگیری. به‌طور خلاصه برای انجام آزمایش رسوبی فرمالین-اتر هر نمونه، به‌طور جداگانه مقدار ۵ گرم مدفوع را در ۱۵ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی ریخته شده و با یک آبسلانک یک سوسپانسیون یکنواخت تهیه گردید. سپس محلول از تنظیف دولایه عبور داده شد و به لوله‌های شیشه‌ای منتقل شد و در دور ۱۵۰۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس ۷ میلی‌لیتر فرمالین ۱۰ درصد به رسوب اضافه گردید و سوسپانسیون یکنواخت تهیه گردید و در ادامه سه میلی‌لیتر اتر به آن اضافه شد و بعد از تکان شدید لوله‌ها به مدت ده دقیقه با دور ۱۵۰۰ در دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از خالی کردن مایع رویی، چند قطره لوگل انگل‌شناسی به رسوب اضافه شد و بعد از تهیه گسترش با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت. همچنین جهت آزمایش شناورسازی، ابتدا مقدار ۳۷۰ گرم پودر سولفات روی در ۶۳۰ سی‌سی آب مقطر حل گردید و حجم نهایی به ۱۰۰۰ سی‌سی رسید. پس از تهیه رسوب از ۵ گرم نمونه‌های مدفوع، در محلول سولفات روی شناور شدند و بر سطح لوله‌های حاوی نمونه لامل ۲۲×۲۲ به مدت ۱۵ دقیقه گذاشته شد سپس لامل‌ها از سطح لوله‌ها برداشته شدند و روی لام قرار داده شدند و در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰۰

فراوانی اکتینوکوکوس گرانولوزوس بر اساس متغیرهای جنسیت، سن، محل نگهداری و پرورش (شهر و روستا) از درصد استفاده گردید. برای تحلیل ارتباط بین فراوانی عفونت اکتینوکوکوزیس و هر متغیر کیفی جنسیت، محل نگهداری و پرورش به تنهایی از آزمون دقیق فیشر و جهت بررسی ارتباط آلودگی و گروه سنی از آزمون آماری کای دو استفاده گردید. همچنین به منظور بررسی اثر هم‌زمان متغیرها بر میزان شیوع آلودگی اکتینوکوکوزیس از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده شد، مقادیر $(P \leq 0.05)$ به‌عنوان معناداری در آزمون آماری در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه تعداد ۲۶۰ نمونه مدفوع از سگ‌های بالغ و نابالغ از شهرها و روستاهای شهرستان شهرکرد طی سال‌های ۹۸-۱۳۹۷ جمع‌آوری گردید که شامل ۲۵۰ قلاده سگ نر و ۱۰ قلاده سگ ماده می‌باشند (جدول ۱). در بررسی ماکروسکوپی نمونه‌ها، تعداد ۳ نمونه از مدفوع‌های سگ‌ها از نظر شکل ظاهری به‌صورت اسهالی و به رنگ سبز بودند و سایر نمونه‌ها داری قوام طبیعی بوده‌اند و به رنگ قهوه‌ای روشن تا تیره مشاهده شدند و مواردی از وجود اسهال یا خون در آن‌ها مشاهده نگردید. علاوه بر این، حیوانات مورد مطالعه فاقد نشانه‌ی بالینی مبنی بر بیماری بودند و صاحبان سگ‌ها هم هیچ‌گونه اظهار مبنی بر بیماری حیواناتشان نداشتند. همچنین هیچ‌کدام از صاحبان حیوانات اطلاعی در مورد انگل اکتینوکوکوس گرانولوزوس نداشتند و سابقه‌ای از مصرف داروهای ضدانگلی برای سگ‌ها را اظهار نداشتند.

واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اولیه با استفاده از آغازگرهای JB3 و JB4.5 ($10 \mu\text{mol/l}$ هر آغازگر)، مسترمیکس شرکت Ampliqon محصول کشور دانمارک (شامل، PCR buffer، Ampliqon Taq و 0.4 mM dNTP، $10 \times \text{MgCl}_2$ 4 mM DNA polymerase)، آب مقطر استریل و DNA استخراج‌شده در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر حاوی ۱۰ میکرولیتر مسترمیکس، ۱ میکرولیتر از هر آغازگر JB3 و JB4.5، 2 میکرولیتر DNA هر نمونه و ۶ میکرولیتر آب مقطر به انجام رسید. همچنین از آب مقطر استریل و DNA استخراج‌شده از پرتواسکولکس‌های کیست هیداتید کبد گوسفند تهیه‌شده از کشتارگاه به‌عنوان کنترل منفی و مثبت استفاده گردید. سیکل دمایی و زمان واکنش زنجیره‌ای پلیمرز شامل مرحله اول (۹۴ درجه به مدت ۵ دقیقه) در یک سیکل، مرحله دوم (۹۴ درجه به مدت ۳۰ ثانیه، ۵۰ درجه به مدت ۴۵ ثانیه و ۷۲ درجه به مدت ۴۰ ثانیه) در ۳۲ سیکل و مرحله سوم (۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه) در یک سیکل انجام شد. طول قطعه حاصله در این مرحله ۴۴۰ جفت باز بود.

تعیین توالی محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز

در این مطالعه، محصول واکنش زنجیره‌ای پلی‌مرز نمونه‌های مثبت جهت تعیین توالی و مشخص شدن ژنوتیپ هر نمونه به شرکت تکاپوزیست تهران ارسال گردید که نمونه‌ها توسط این شرکت به کشور کره ارسال گردید. در مرحله بعد، توالی نوکلئوتیدی تمامی نمونه‌های ارسالی در قسمت Blast Nucleotide سایت NCBI (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) با توالی‌های ثبت‌شده مورد مقایسه و تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۴ تحلیل شدند. جهت توصیف ویژگی‌های حیوانات، از قبیل

جدول ۱: توزیع فراوانی مشخصات جمعیتی سنگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد بر حسب متغیرهای مورد مطالعه در سال ۹۸-۱۳۹۷.

شاخص‌های آماری حیوانات		وضعیت	صفت
درصد	تعداد		
۹۶/۲	۲۵۰	نر	جنسیت
۳/۸	۱۰	ماده	
۶۹/۲	۱۸۰	شهر	محل نگهداری
۳۰/۸	۸۰	روستا	
۱۰	۲۶	<۱	سن (سال)
۵۲/۷	۱۳۷	۵-۱	
۳۷/۳	۹۷	>۵	
۳۶/۶	۹۴	سنگ گله	کارایی حیوانات
۲۵	۶۵	سنگ دامپروری	
۳۸/۸	۱۰۱	سنگ نگهدارنده	
۴/۲	۱۱	اسدآباد	محل نگهداری شهر و روستا
۷/۷	۲۰	وردنجان	
۴/۲	۱۱	چالشر	
۲/۷	۷	سودجان	
۴/۶	۱۲	سورشجان	
۴/۲	۱۱	سیرک	
۴/۶	۱۲	شمس‌آباد	
۱۵/۴	۴۰	شهرکرد	
۵	۱۳	شهرکیان	
۶/۵	۱۷	طاقانک	
۷/۷	۲۰	فرخشهر	
۸/۱	۲۱	نافچ	
۲/۷	۷	نوآباد	
۲/۳	۶	وانان	
۳/۱	۸	هارونی	
۷/۳	۱۹	هفشجان	
۹/۶	۲۵	بهرام‌آباد	

در بررسی مشاهده میکروسکوپی نمونه‌ها تخم‌های تنیده، کروی شکل با قطری بین ۲۵ تا ۴۵ میلی‌متر بوده که پوسته‌ی آن‌ها ضخیم، قهوه‌ای‌رنگ و به‌صورت شعاعی مخطط

نتایج بررسی میکروسکوپی نمونه‌ها

گونه‌ای که این میزان با روش‌های رسوبی ۱۷/۷ درصد و شناورسازی ۱۸/۱ درصد تعیین گردید (جدول ۲). بر این اساس، بیشترین و کمترین تعداد نمونه از نظر آلودگی به گونه‌های تنیا به ترتیب، با استفاده از روش‌های رسوبی و شناورسازی تشخیص داده شدند.

پوشیده شده بودند و درون هر تخم یک انکوسفر (یا جنین شش‌تایی) وجود داشت که حاوی سه جفت قلاب بود (شکل ۲ و ۳). نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی نشان داد که میزان فراوانی گونه‌های تنیا در بین سگ‌های مورد مطالعه بر اساس هر یک از روش‌های تغلیظی رسوبی فرمالین اتر و شناورسازی سولفات روی با یکدیگر تفاوت داشتند، به



شکل ۲: تصویر تخم تنیا مشاهده شده در مدفوع سگ با استفاده از روش رسوبی فرمالین اتر با بزرگنمایی X۴۰۰



شکل ۳: تصویر تخم تنیا مشاهده شده در مدفوع سگ با استفاده از روش شناورسازی سولفات روی با بزرگنمایی X۴۰۰

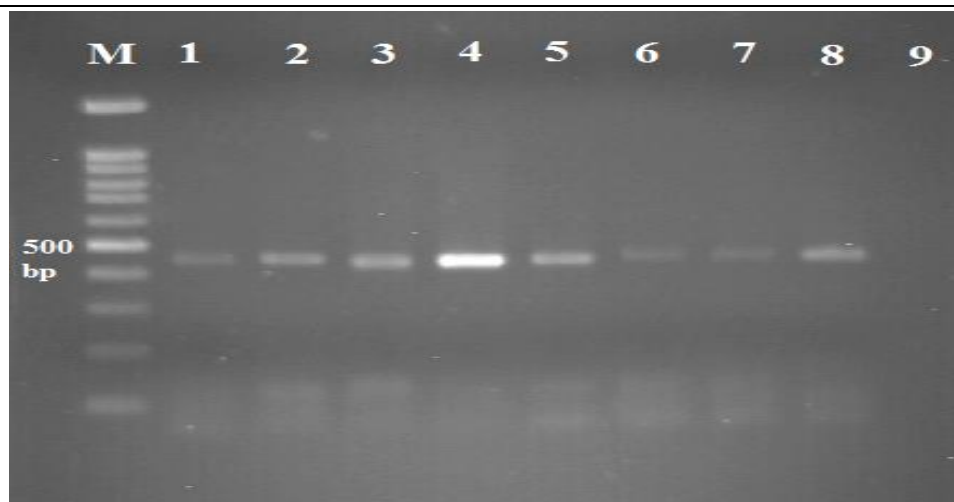
جدول ۲: توزیع فراوانی گونه‌های تنیا در سگ‌های صاحبدار شهرستان شهرکرد برحسب روش‌های مختلف انگل‌شناسی در سال ۹۸-۱۳۹۷.

روش تشخیص	مثبت		منفی		نتایج
	تعداد	فراوانی.٪	تعداد	فراوانی.٪	
شناورسازی سولفات روی	۴۷	۱۸/۱	۲۱۳	۸۱/۹۰	تعداد ۲۶۰ فراوانی.٪ ۱۰۰
رسوبی فرمالین-اثر	۴۶	۱۷/۷	۲۱۴	۸۲/۳	تعداد ۲۶۰ فراوانی.٪ ۱۰۰

نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

در این مطالعه از ۲۶۰ نمونه مدفوع که با روش میکروسکوپی بررسی گردید، تعداد ۴۷ نمونه (۱۸/۱٪) آلوده به گونه‌های مختلف تنیا بوده‌اند که با استفاده از کیت استخراج دزکسی ریبونوکلیک اسید پس از انجام مراحل انجماد در ازت مایع و ذوب در آب جوش DNA آنها استخراج گردید و با دستگاه نانودراپ کیفیت آنها ارزیابی گردید. سپس با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

تعداد ۱۴ نمونه (۵/۴٪) از آنها از جنس اکینووکوکوس گرانولوزوس بوده و مورد تأیید نهایی قرار گرفتند به طوری که در بارگذاری محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز آنها با آغازگرهای اختصاصی بر روی ژل آگاروز قطعه‌ای به اندازه ۴۴۰ جفت باز مشاهده گردید که بیانگر آلودگی به انگل اکینووکوکوس گرانولوزوس می‌باشند (شکل ۴).

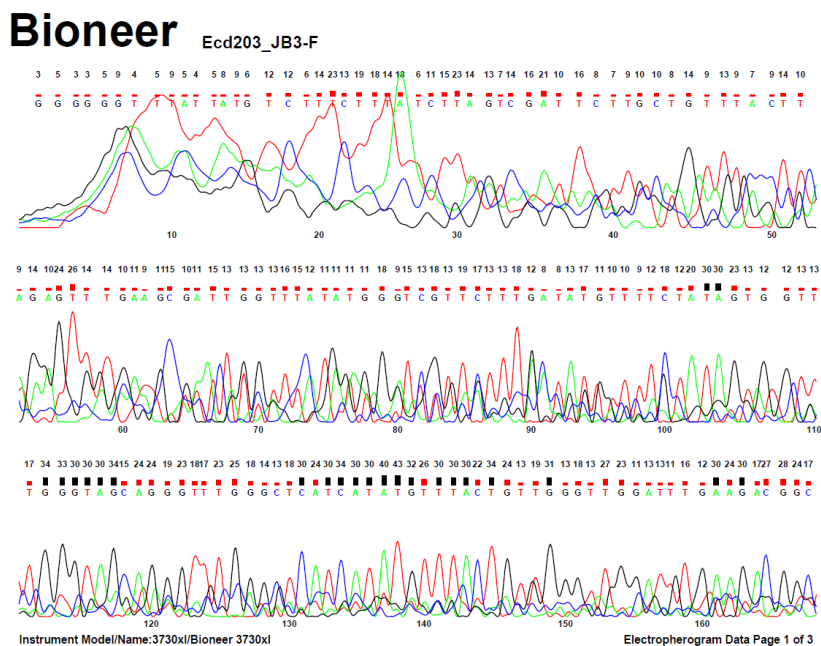


شماره ۴: تصویر محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز اکینوکوکوس گرانولوزوس ژن COX1 در مدفوع سگ.

M- مارکر ۱۰۰ bp، چاهک‌های ۱-۷: نمونه‌های آلوده به تخم اکینوکوکوس گرانولوزوس، چاهک ۸: کنترل مثبت کیست هیداتید گوسفندی و چاهک ۹: کنترل منفی، آب مقطر.

PX090920، PX090922، PX090923، PX090931،
 PX088763، PX088796، PX088850، PX090919،
 PX088760، PX088751، PX088758 و PX088750) در
 بانک ژنی NCBI ثبت شده. نتایج ترادف حاصله جهت
 انجام آنالیز فیلوژنتیکی با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 مورد
 ارزیابی قرار گرفتن و درختچه فیلوژنتیک رسم گردید
 (شکل ۷).

نتایج حاصل از بررسی تعیین توالی محصولات واکنش
 زنجیره‌ای پلیمرز نتایج حاصل از تعیین توالی ۱۴ نمونه مثبت
 اکینوکوکوس گرانولوزوس شناسایی شده در سگ‌های
 شهرستان شهرکرد با استفاده از نرم‌افزار Chromas مورد
 تجزیه و تحلیل قرار گرفتند که با توالی‌های موجود در Gen
 Bank شباهت و همپوشانی ۹۸ تا ۱۰۰ درصدی را نشان دادند
 و تمامی نمونه‌ها به‌عنوان سویه G1 شناسایی شدند (شکل ۵
 و ۶) و با شماره‌های دستیابی (PX090933، PX091292).



شماره ۵: نتیجه تعیین توالی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از ژن واحد C_{ox}1 انگل اکینو کوکوس گرانولوزوس جدا شده از سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهر کرد

Download GenBank Graphics Next Previous Descriptions

Echinococcus granulosus isolate P80 cytochrome oxidase subunit I (COI) gene, partial cds; mitochondrial
 Sequence ID: [GU951513.1](#) Length: 414 Number of Matches: 1

Range 1: 1 to 414 GenBank Graphics Next Match Previous Match

Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
737 bits (399)	0.0	409/414 (99%)	0/414 (0%)	Plus/Plus

```

Query 1 TTTACCTGGATTTGGTATAATTAGTCATATTTGTTGAGTATTAGTGCTAAATTTGATGC 60
Sbjct 1 TTTGCTGGATTTGGTATAATTAGTCATATTTGTTGAGTATTAGTGCTAAATTTGATGC 60

Query 61 GTTGGGTTCTATGGGTTGTTGTTGCTATGTTTTCTATAGTGTGTTGGGAGCAGGGT 120
Sbjct 61 GTTGGGTTCTATGGGTTGTTGTTGCTATGTTTTCTATAGTGTGTTGGGAGCAGGGT 120

Query 121 TTGGGCTCATCATATGTTTACTGTTGGGTTGGATGGAAGACGGCTGTTTTTLAGCTC 180
Sbjct 121 TTGGGCTCATCATATGTTTACTGTTGGGTTGGATGGAAGACGGCTGTTTTTLAGCTC 180

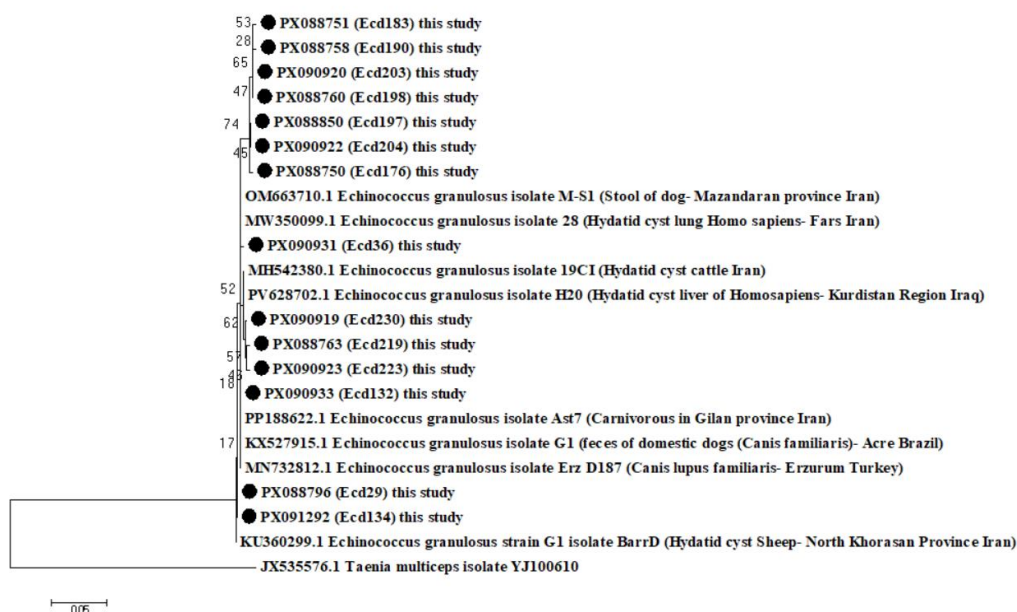
Query 181 TGTACTATGATTATAGGGGTTCTACTGGTATAAAGGGTTTACTTGGGTATATATGTT 240
Sbjct 181 TGTACTATGATTATAGGGGTTCTACTGGTATAAAGGTGTTTACTTGGGTATATATGTT 240

Query 241 GTTGAATTCGAGTGTAAATGTTAGTGATCCGGTTTTGTGATGGGTTGTTCTTTTATAGT 300
Sbjct 241 GTTGAATTCGAGTGTAAATGTTAGTGATCCGGTTTTGTGATGGGTTGTTCTTTTATAGT 300

Query 301 GTTGTTCACGTTTGGGGAGTTACGGGTATAGTTTTGCTGCTTGTTGTTTTAGATAAT 360
Sbjct 301 GTTGTTCACGTTTGGGGAGTTACGGGTATAGTTTTGCTGCTTGTTGTTTTAGATAAT 360

Query 361 TTTGCATGATACTGGTTTGGTGGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAA 414
Sbjct 361 TTTGCATGATACTGGTTTGGTGGCTCATTTTCATTATGTTCTTTCTTTAAA 414
    
```

شماره ۶: نتیجه مقایسه تعیین توالی محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمرز از نمونه اکینو کوکوس گرانولوزوس جدا شده از سگ صاحب‌دار شهرستان شهر کرد با توالی ثبت شده در Gen Bank در قرابت ۱۰۰ درصدی دارد.



شماره ۷: درختچه فیلوژنتیکی جدا به‌های اکینو کوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد (●) در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌های ثبت‌شده اکینو کوس گرانولوزوس در بانک جهانی بر اساس آنالیز فیلوژنتیکی توالی‌های نوکلئوتیدی میتوکندری (COX1) با مدل Kimura2-parameter بر پایه Maximum Likelihood، بوت استرپ ریلیکاسیون ۱۰۰۰ و مقیاس فاصله ۰/۰۵ با استفاده از نرم‌افزار MEGA6 طراحی و پیاده‌سازی شده است.

اکینو کوزیس و شهر و روستاهای مختلف نگهداری حیوانات نیز ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نشد. به‌طوری‌که بیشترین میزان آلودگی در بین سگ‌ها در شهرهای وردنجان و نافچ وجود داشت و حیوانات مورد بررسی در برخی از شهرها و روستاهای شهرستان شهرکرد از قبیل شهرکرد، سورشجان، شمس‌آباد، شهرکیان، نوآباد و هفشجان فاقد آلودگی بوده‌اند (آزمون آماری کای دو $P = ۰/۰۸۹$). ارزیابی نتایج آلودگی اکینو کوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار بر اساس کارایی حیوانات نشان داد که بیشترین میزان آلودگی در سگ‌های گله وجود دارد (۴۲/۸٪) و کمترین میزان آلودگی در سگ‌های نگهدارنده بوده است (۲۱/۵٪) و آنالیز آماری نتایج با استفاده از آزمون آماری کای دو بیانگر عدم وجود ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان فراوانی انگل و کارایی سگ‌ها است (آزمون آماری کای دو $P = ۰/۴۵۳$) (جدول ۳). همچنین نتایج آزمون رگرسیون لجستیک نشان داد که بین

نتایج حاصل از بررسی شیوع انگل اکینو کوس گرانولوزوس در سگ‌های شهرستان شهرکرد بر حسب متغیرهای مورد مطالعه نتایج به‌دست آمده نشان داد با وجود این که بیشترین حیوانات جنس نر بوده‌اند بین شیوع انگل و جنسیت حیوانات ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (آزمون دقیق فیشر، $P = ۰/۵۶۹$). همچنین، آنالیز آماری نتایج با استفاده از آزمون آماری کای دو بیانگر عدم وجود ارتباط آماری معنی‌داری بین میزان فراوانی انگل و گروه سنی است به‌گونه‌ای که فراوانی انگل اکینو کوس گرانولوزوس در گروه سنی کمتر از یک سال ۷/۱ درصد، گروه سنی ۱-۵ سال ۳۵/۷ درصد و در گروه سنی بیشتر از ۵ سال ۵۷/۱ درصد بوده است ($P = ۰/۳۰۲$). همچنین بررسی نتایج شیوع اکینو کوس گرانولوزوس در سگ‌های شهرستان شهرکرد نشان داد که بین میزان فراوانی انگل و محل نگهداری و پرورش ارتباط معنی‌داری وجود ندارد به‌طوری‌که بیشترین میزان آلودگی در مناطق شهری وجود داشت (آزمون آماری فیشر $P = ۰/۵۵۶$) علاوه بر این، بین میزان شیوع عفونت

متغیرهای مطالعه و آلودگی اکینوکوکوزیس در سگ‌ها ارتباط آماری معناداری وجود ندارد (جدول ۴).

جدول ۳: فراوانی انگل اکینوکوکوس گرانولوزوس در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهرکرد بر حسب متغیرهای مورد مطالعه در سال ۱۳۹۷-۹۸.

متغیر	حالت	فراوانی آلودگی		مقدار *P
		تعداد	درصد	
جنسیت	نر	۱۴	۱۰۰	۰/۵۶۹
	ماده	۰	۰	
محل نگهداری	شهر	۱۰	۲۸/۶	۰/۵۵۶
	روستا	۴	۷۱/۴	
سن (سال)	<۱	۱	۷/۱	۰/۳۰۲
	۱-۵	۵	۳۵/۷	
	>۵	۸	۵۷/۱	
کارایی حیوانات	سگ گله	۶	۴۲/۸	۰/۴۵۳
	سگ دامپروری	۵	۳۵/۷	
	سگ نگهبان	۳	۲۱/۵	
محل نگهداری (شهر و روستا)	اسدآباد	۰	۰	۰/۰۸۹
	بهرام‌آباد	۰	۰	
	وردنجان	۳	۲۱/۴	
	چالستر	۱	۷/۱	
	سودجان	۱	۷/۱	
	سورشجان	۰	۰	
	سیرک	۱	۷/۱	
	شمس‌آباد	۰	۰	
	شهرکرد	۰	۰	
	شهرکیان	۰	۰	
	طاقانک	۱	۷/۱	
	فرخشهر	۱	۷/۱	
	نافچ	۳	۲۱/۴	
	نوآباد	۰	۰	
وانان	۱	۷/۱		
هارونی	۲	۱۴/۳		
هفشجان	۰	۰		

*مقدار P با استفاده از آزمون‌های دقیق فیشرو کای دو محاسبه شده است.

جدول ۴: مدل رگرسیون لجستیک چند متغیره از عوامل مرتبط با شیوع اکتینوکوکوزیس در سگ‌های صاحب‌دار شهرستان شهر کرد در سال ۹۸-۱۳۹۷.

متغیر	P-value	Odds ratios	95% confidence intervals	
			Lower	Upper
محل نگهداری (شهر و روستاهای مختلف شهرستان شهر کرد)	۰/۰۷۲	۱/۱۲۸	۰/۹۸۹	۱/۲۸۶
محل نگهداری (شهر/روستا)	۰/۹۳۹	۰/۹۵۳	۰/۲۷۵	۳/۲۹۹
جنسیت	۰/۹۹۹	-	-	-
سن	۰/۵۸۲	۱/۳۳۲	۰/۴۸۰	۳/۶۹۸
کارایی حیوانات	۰/۲۹۸	۱/۴۳۵	۰/۷۲۷	۲/۸۳۴

بحث

سگ‌ها به‌عنوان میزبان نهایی اکتینوکوکوس گرانولوزوس نقش قابل توجهی در پراکندگی تخم انگل از طریق مدفوع به محیط‌زیست دارند و از این رو می‌توانند خطر انتقال بیماری را به انسان به‌ویژه در جوامع روستایی که رابطه سگ-انسان نزدیک‌تر است و بر اساس سبک زندگی روستائیان که به علت شغل اکثر افراد از قبیل دامداری بیشتر همراه با دام‌ها و سگ می‌باشند، افزایش دهند. همچنین برخی از افراد از قبیل چوپانان، جوامع عشایری، دامپزشکان و کارگران مراکز دامپزشکی به‌واسطه شغلشان بیشتر در معرض خطر آلودگی هستند (۱،۴). در مطالعه حاضر میزان آلودگی تخم گونه‌های تنیا در سگ‌های صاحب‌دار با استفاده از روش‌های رسوبی و شناورسازی ۱۷/۷ درصد و ۱۸/۱ درصد بود که مقایسه این دو روش نشان می‌دهد روش شناورسازی سولفات روی در جداسازی تخم گونه‌های تنیده از مدفوع کاربردی و مؤثرتر است. بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مدفوع سگ آلوده به تخم اکتینوکوکوس گرانولوزوس به دلیل ریخت‌شناسی مشابه همه تخم‌های کرم‌های تنیده بوده لذا شناسایی عفونت اکتینوکوکوزیس بر اساس مشاهده تخم انگل قابلیت اطمینان بسیار پایینی دارد؛ بنابراین با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمرز ناحیه ژنی میتوکندریایی اکتینوکوکوس گرانولوزوس متعاقب استخراج DNA تخم‌های جداسازی شده از نمونه‌های آلوده و مشاهده قطعه‌ای با طول ۴۴۰ جفت

باز بر روی ژل، جنس اکتینوکوکوس گرانولوزوس در ۵/۴ درصد از نمونه‌های آلوده شناسایی شده. همچنین تعیین توالی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بیانگر ژنوتایپ G1 در همه سگ‌های آلودگی به اکتینوکوکوزیس است. مطالعات انجام گرفته در مناطق مختلف جهان میزان شیوع آلودگی اکتینوکوکوزیس در سگ را از ۰٪ در ایتالیا تا ۸۰٪ در لیبی گزارش کرده‌اند (۱۰،۱۱،۱۹،۲۷). مطالعات انجام گرفته در ایران نیز نشان می‌دهد که میزان شیوع آلودگی در سگ‌سانان مناطق مختلف ایران به‌عنوان میزبان نهایی از ۱/۰۹ درصد تا ۶۴ درصد متغیر است (۱۴،۱۱،۱۰-۱۶،۲۸). مطالعات متعدد انجام گرفته در نقاط مختلف جهان بیانگر تفاوت در میزان شیوع عفونت اکتینوکوکوزیس در میزبان‌های واسط و نهایی است که بیشتر ناشی از اختلاف سویه‌های آلوده‌کننده اکتینوکوکوس گرانولوزوس، شرایط پرورش حیوانات (چهارپایان)، عقاید اجتماعی-فرهنگی، عوامل اقتصادی، تمایل به سگ‌ها و شاخص‌های محیطی گوناگون (مانند دمای پایین و میزان بارش زیاد)، عدم آشنایی افراد جامعه با چرخه زندگی انگل و رعایت اصول بهداشتی است. اگرچه عوامل ذکر شده می‌توانند توجه‌کننده تفاوت میزان شیوع کیست هیداتید در میزبان‌های واسط از قبیل انسان باشد اما به نظر می‌رسد روش نمونه‌گیری دلیل اصلی تفاوت معناداری در میزان شیوع اکتینوکوکوزیس در میزبان‌های نهایی باشد، به‌گونه‌ای که تشخیص آلودگی در میزبان‌های نهایی از طریق بررسی وجود تخم انگل در

(۲۱). در بررسی آلودگی اکتینوکوکوزیس در سگ‌های صاحب‌دار کشور نیجریه میزان شیوع اکتینوکوکوزیس ۵/۵٪ نشان داده شده است، همچنین نتایج این مطالعه آلودگی بیشتر در سگ‌های ماده و دارای سن بیشتر از ۱۲ ماه را گزارش کرده است اما ارتباط آماری معناداری بین شیوع آلودگی با سن و جنس وجود ندارد. علاوه بر این میزان آلودگی در سگ‌های مناطق روستایی بیشتر از مناطق شهری بوده است (۳۱). مطالعات انجام گرفته بر اساس روش‌های مولکولی نقش باارزشی در آشکارسازی تنوع ژنتیکی گونه‌های اکتینوکوکوس در میزبان‌های نهایی و واسط تا به امروز داشته‌اند؛ بنابراین ارزیابی شیوع مولکولی سویه‌های مختلف اکتینوکوکوس گرانولوزوس جهت شناخت دقیق‌تر جنبه‌های همه‌گیرشناسی آن در میزبان‌های مختلف از قبیل سگ‌ها و متعاقباً انجام اقدامات پیشگیرانه از اهمیت خاصی برخوردار است (۱۸). در مناطق غربی ایران، ژنوتیپ‌های جدا شده از سگ شامل G1 و G3 است که ژنوتایپ G1 با شیوع ۷۵ درصد شایع‌ترین ژنوتیپ بود (۳۲). مطالعه حاضر با استفاده از ارزیابی توالی ژن میتوکندریایی COX1 در نمونه‌های آلوده به اکتینوکوکوس گرانولوزوس بیانگر ژنوتایپ G1 در تمام سگ‌های آلوده است که مشابه مطالعات انجام گرفته در ایران و جهان بوده که ژنوتایپ G1 را به‌عنوان شایع‌ترین سویه در میزبان‌های نهایی و واسط گزارش کرده‌اند از سوی دیگر در میان ژنوتیپ‌های مختلف اکتینوکوکوس گرانولوزوس، ژنوتیپ G1 به دلیل ارتباط آن با عفونت‌زایی و بیماری‌زایی بالا برای انسان، حائز اهمیت بوده و توجه زیادی را به خود جلب کرده است (۷، ۱۰، ۱۱). در بررسی همولوژی ژنوتایپ‌های جدا شده در مطالعه حاضر اگرچه مقایسه هر ژنوتایپ با ژنوتایپ ثبت شده در بانک ژنی شباهت ۹۸ تا ۱۰۰ درصد را نشان می‌دهد اما درختچه فیلوژی بیانگر همولوژی ژنتیکی ۶۵-۱۷ درصد با برخی ژنوتیپ‌های شناسایی شده در نمونه مدفوع میزبان نهایی و کیست‌های هیداتید میزبان‌های واسط است. همچنین بررسی ریخت‌شناسی و مولکولی اکتینوکوکوس گرانولوزوس

مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره سی / آذر و دی ۱۴۰۴

مدفوع نسبت به کالبدگشایی و تراشیدن مخاط روده حیوانات که توسط بیروموند و همکاران انجام شده است، از حساسیت کمتری برخوردار است (۲۹). نتایج میزان شیوع اکتینوکوکوزیس در مطالعه حاضر با برخی از مطالعات انجام شده در ایران هم‌خوانی دارد. بیرانوند و همکاران در مطالعه‌ای که در طی سال‌های ۲۰۱۳-۲۰۱۴ بر روی سگ‌های مناطق روستایی شهرستان اهواز در جنوب غربی ایران هم‌مرز استان چهارمحال و بختیاری بر روی ۱۶۷ نمونه مدفوع سگ‌های صاحب‌دار با استفاده از روش‌های میکروسکوپی و مولکولی انجام داده‌اند، آلودگی ۲۴ درصد از حیوانات به تخم‌های شبیه به گونه‌های تنیا را گزارش نمودند که ۷ نمونه (۴/۲٪) از حیوانات آلوده به اکتینوکوکوس گرانولوزوس بوده‌اند و ژنوتیپ همه اکتینوکوکوس گرانولوزوسهای شناسایی شده G1 می‌باشند که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (۲۸). در تحقیق دیگری که بر روی نمونه مدفوع سگ‌های ولگرد شهر کرمان با استفاده از روش مولکولی انجام گرفته است شیوع اکتینوکوکوزیس ۶/۸٪ گزارش شده است (۳۰)، همچنین کیهانی و همکاران میزان آلودگی اکتینوکوکوس گرانولوزوس در سگ‌های مناطق شهری و اطراف کرمان را ۱۰/۷ درصد گزارش نمودند که ژنوتیپ شناسایی شده در تمامی انگل‌های جدا شده G1 بوده است. نتایج آنالیز آماری نشان می‌دهد که میزان آلودگی در سگ‌ها با سن کمتر از ۱ سال از سایر گروه‌های سنی بیشتر است که با مطالعه حاضر هم‌خوانی ندارد اما تفاوتی در میزان شیوع در هر دو جنس نر و ماده مشاهده نکردند که مشابه نتایج مطالعه حاضر است (۲۰). در مطالعه دیگری که توسط میربدیعی و همکاران بر روی سگ‌های مناطق مرکزی ایران شامل شاهرود، گرمسار، دامغان و سمنان انجام گرفته است، میزان آلودگی گونه‌های تنیده ۱۰/۵ درصد گزارش شده است که با استفاده از روش‌های مولکولی تعیین توالی ژن‌های COX1 و SSU-DNA میزان شیوع اکتینوکوکوزیس ۶/۵۲ درصد بوده و ژنوتیپ‌های شناسایی شده شامل G1، G3 و G7 می‌باشند

جداشده از سگ‌های ولگرد حاشیه شهرهای نواحی اندمیک شمال غربی ایران، آلودگی ۱۱/۷٪ سگ‌ها و وجود ژنوتایپ G1 در همه حیوانات را نشان می‌دهد (۳۱). در مطالعه دیگری که جهت تعیین ژنوتایپ اکینوкокوس گرانولوزوس در سگ‌سانان شمال غربی ایران در دشت مغان استان اردبیل انجام گرفته است، اگرچه میزان آلودگی اکینوкокوس در سگ‌سانان را ۱۰/۳٪ شامل ۴٪ در شغال‌های طلای و ۱۷٪ در سگ‌های ولگرد و ۰٪ در روباه‌های قرمز گزارش شده است، ارزیابی‌های مولکولی ژنوتیپ همه انگل‌های جداشده را G1 نشان می‌دهد (۳۳). این انتشار ژنوتایپ با الگوی جهانی ژنوتیپ غالب در سگ‌ها و نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد که نشان می‌دهد چرخه گوسفند-سگ، چرخه غالب اکینوкокوس کیستیک در استان چهارمحال و بختیاری مشابه بسیاری از مناطق جهان است. باین‌حال، ژنوتایپ G6 و G7 در سگ‌های مناطق مرکزی و شمال غربی ایران گزارش شده است (۲۱، ۳۴). حجازی و همکاران در بررسی ۲۴۴ نمونه مدفوع سگ‌های ولگرد و صاحب‌دار استان خراسان رضوی میزان شیوع آلودگی اکینوкокوس گرانولوزوس را به ترتیب ۸/۷ و ۱۱/۳ درصد گزارش نموده‌اند، لذا سگ‌های خانگی بیشتر از سگ‌های ولگرد آلوده هستند که نشان‌دهنده احتمال خطر بالای کیست هیداتید در خانواده‌های صاحب این سگ‌ها است. همچنین تمام ژنوتایپ‌های گزارش شده در این مطالعه نیز G1 بوده‌اند (۱۹). مطالعات قبلی انجام شده در استان چهارمحال و بختیاری که جهت تعیین هویت سویه‌های انگل اکینوкокوس گرانولوزوس در علفخواران انجام گرفته است نیز نشان می‌دهد که این حیوانات با سویه G1 آلوده‌اند. یوسفی دارانی و همکاران با استفاده از روش PCR-RFLP ناحیه rDNA-ITS تعداد ۳۰ نمونه کیست هیداتید با منشأ گوسفندی که از کشتارگاه‌های سراسر استان در سال ۱۳۸۳ جمع‌آوری شده بودند را بررسی نمودند که نتایج نشان می‌دهد سویه گوسفندی کیست هیداتید غالب در استان

چهارمحال و بختیاری ژنوتیپ G1 است (۳۵). در بررسی‌هایی که در استان‌های همجوار چهارمحال و بختیاری جهت ارزیابی ژنوتایپ اکینوкокوس گرانولوزوس در میزبان‌های واسط و نهایی انجام گرفته است سویه غالب در استان اصفهان در سگ و شتر ژنوتایپ G1 گزارش شده است (۳۶). همچنین در استان خوزستان و کهگیلویه و بویراحمد نیز ژنوتایپ G1 به‌عنوان ژنوتایپ غالب در میزبان‌های واسط بز، گاو، گوسفند، شتر، بوفالو و انسان ثبت شده است (۳۷). در این مطالعه شیوع آلودگی اکینوкокوس سگ‌هایی که محل زندگی آن‌ها روستا بوده بیشتر بوده که بیانگر آلودگی محیط روستا و تغذیه سگ‌ها از احشا حیوانات آلوده است همچنین با توجه به شغل افراد در مناطق روستایی که بیشتر به‌صورت کشاورزی و دامپروری است و سگ به‌عنوان حیوان نگهدارنده معمولاً در منازل یا همراه گوسفندان زیست می‌کنند می‌تواند منبع بالقوه آلودگی مستقیم و غیرمستقیم صاحبان و خانواده آن‌ها باشد. در تحقیق حاضر میزان آلودگی تخم اکینوкокوس گرانولوزوس در سگ‌های گله ۴۲/۸٪، سگ‌های مراکز دامپروری ۳۵/۷٪ و سگ‌های نگهدارنده ۲۱/۵٪ بود. علت احتمالی شیوع بیشتر آلودگی در سگ‌های گله می‌تواند ناشی از قلمرو وسیع‌تر آن‌ها از سگ‌های خانگی باشد که گردش آزاد حیوانات همراه با گله در محیط زیست و تغذیه آن‌ها از زباله‌ها و مواد غذایی آلوده در محیط، همچنین تغذیه از احشا آلوده علفخواران به کیست هیداتید باشد که توسط صاحبان آن‌ها در اختیارشان قرار داده می‌شود، بنابراین بیشتر در معرض خطر ابتلا به عفونت اکینوкокوس قرار دارند. در یک مطالعه جامع که در ۱۳ استان ایران انجام شد، شیوع اکینوкокوس گرانولوزوس در سگ‌های گله ۲۷/۲٪ گزارش گردیده است که از مطالعه آلودگی شهرستان شهرکرد کمتر است (۱۳). در مطالعه حاضر صاحبان سگ‌ها آگاهی در مورد اکینوкокوس گرانولوزوس و راه ابتلا آن نداشتن بنابراین سگ‌های گله معمولاً از اعما و احشاء علفخواران آلوده به کیست تغذیه

ابتلای سگ‌ها گاهی می‌تواند باعث ابتلای سگ‌های صاحب‌دار متعاقب مصرف احشاء آلوده علفخواران گردد، لذا نزدیکی سگ‌های ولگرد و سگ‌های صاحب‌دار آلوده که به‌طور منظم تحت درمان ضد کرمی قرار نمی‌گیرند با انسان و دام می‌تواند عاملی برای افزایش احتمال انتقال کیست هیداتید باشد (۹، ۱۰)؛ بنابراین آموزش بهداشت، جلوگیری از تغذیه سگ‌ها با امعا و احشاء حیوانات ذبح‌شده در خانه، جلوگیری از تماس مستقیم صاحبان سگ‌ها و خانواده آن‌ها با مدفوع سگ، آزمایش دوره‌ای سگ‌ها و انگل زدایی منظم با داروهای ضدانگلگی به‌عنوان اقدامات اصلی پیشگیری و کنترل کیست هیداتید توصیه گردد. همچنین بررسی سروایدمیولوژی کیست هیداتید در جمعیت در معرض خطر شامل صاحبان سگ‌ها از قبیل چوپانان، جامعه عشایری و دامپزشکان انجام شود، علاوه بر این ژنوتایپ اکینو کوکوس گرانولوزوس در کیست‌های هیداتید علفخواران کشتار شده در کشتارگاه‌ها و نمونه‌های جراحی‌شده کیست‌های هیداتید انسانی ارزیابی گردد. با توجه به اینکه بیشتر سگ‌های موجود در منطقه جنسیت نر داشتند امکان همگن نمودن جنسیت سگ‌ها جهت نمونه‌گیری وجود نداشت و این مورد جز یکی از محدودیت‌های مطالعه حاضر است.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که سویه اکینو کوکوس گرانولوزوس در سگ‌های شهرستان شهرکرد GI1 یا استرین گوسفندی قادر به آلوده کردن طیف وسیعی از میزبان‌های واسط از جمله انسان است. لذا به نقش چرخه سگ-گوسفند در منطقه پی‌برده می‌شود که می‌توان حدس زد متأسفانه هنوز امعاء و احشاء گوسفندان آلوده به‌طور کامل معدوم نمی‌شوند و در کشتارهای غیرمجاز به‌راحتی در دسترس سگ و سگ‌سانان قرار گرفته و مورد استفاده آن‌ها قرار می‌گیرد که متعاقب دفع تخم‌های اکینو کوکوس گرانولوزوس همراه مدفوع در محیط باعث افزایش آلودگی محیط گردیده و در واقع موجب آلودگی میزبان‌های واسط

کرده و به اکینو کوکوزیس مبتلا می‌شوند. در مطالعه‌ای که عبدالحمید و همکاران جهت بررسی آلودگی تخم اکینو کوکوس گرانولوزوس در مدفوع سگ‌های صاحب‌دار و سگ‌های ولگرد شهر بصره عراق انجام داده‌اند، دانش کمتر صاحبان سگ‌ها باعث تغذیه این حیوانات از احشاء آلوده و ابتلا آن‌ها به کرم‌ها بالغ در مقایسه با صاحبان حیواناتی شده که سطح تحصیلات بالاتری داشته‌اند و اطلاعاتی در مورد اکینو کوکوزیس داشته‌اند. همچنین عدم دفع مناسب اندام‌ها و بافت‌های علفخواران ذبح‌شده دارای کیست و رهاسازی آن‌ها در محیط باعث تغذیه سگ‌ها ولگرد از لاشه‌ها و زباله‌ها گردیده که منجر به آلودگی سگ‌ها و محیط می‌شود (۳۸). به‌طور کلی آنالیز آماری نتایج مطالعه شهرستان شهرکرد نشان می‌دهد که شیوع عفونت اکینو کوکوزیس با جنسیت، سن و محل نگهداری و پرورش حیوانات (شهر و روستا) ارتباط آماری معنی‌داری ندارد. بررسی‌های مختلف انجام‌گرفته در مناطق جهان نشان می‌دهد تغییر در شیوع اکینو کوکوزیس در مناطق مختلف ممکن است به دلیل تفاوت در رفتارهای بهداشتی، عدم آگاهی صاحب سگ در مورد اکینو کوکوزیس، تغذیه حیوانات با احشاء خام، دفع نامناسب لاشه‌ها، موقعیت جغرافیایی و شرایط آب و هوایی باشد. همچنین در جوامع فقیر، سطح پایین آگاهی و دانش در مورد این انگل عامل اصلی عفونت در سگ‌ها است (۱). سگ‌ها به‌عنوان میزبان نهایی گونه‌های اکینو کوکوس بخصوص سگ‌های سرگردان و ولگرد فرصت‌های بیشتری برای جمع‌آوری و خوردن امعاء و احشاء لاشه‌های آلوده میزبان‌های واسط در محیط را دارند اما سگ‌های جوامع شبانی نیمه عشایری به دلیل ذبح خانگی و متعاقباً افزایش دسترسی به احشاء دام، احتمال ابتلا بیشتر عفونت را دارند. از سوی دیگر، سگ‌هایی که به‌عنوان حیوان خانگی یا سگ نگهبان نگهداری می‌شوند، با تحرک محدود و رژیم غذایی عمدتاً متشکل از غذای پخته، معمولاً نرخ عفونت کمتری را نشان می‌دهد اما عدم آگاهی عموم مردم از چرخه زندگی و راه

از پایان نامه دانشجوی کارشناسی ارشد، طرح مصوب با کد IR.SKUMS.REC.1398.091 است. این مطالعه پس از تصویب در کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد به شماره (IR.SKUMS.REC.1398.091) انجام گردید. هیچ کدام از نویسندگان این مطالعه، افراد و یا دستگاه‌ها تعارض منافی برای انتشار این مقاله ندارند.

شامل انسان از طریق مصرف آب و مواد غذایی آلوده مانند سبزی‌ها می‌شوند و باعث پایداری بیماری در منطقه می‌شوند و نهایتاً می‌تواند خطری بالقوه جهت عفونت انسانی باشد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد بابت حمایت‌های مالی و تأمین امکانات انجام مطالعه حاضر تشکر و قدردانی می‌گردد. این مقاله مستخرج

منابع

1. Nocerino M, Pepe P, Ciccone E, Maurelli MP, Bosco A, Boué F, et al. Epidemiological update of cystic echinococcosis in livestock and assessment of practices related to its control in the mediterranean area. *Acta Tropica*. 2024;255:107240. Doi:10.1016/j.actatropica.2024.107240
2. McManus DP, Zhang W, Li J, Bartley PB. Echinococcosis. *The Lancet*. 2003;362(9392):1295-304. Doi: 10.1016/S0140-6736(03)14573-4
3. Moro P, Schantz PM. Echinococcosis: a review. *Int J Infect Dis*. 2009;13(2):125-33. Doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.037.
4. Hogeia MO, Ciomaga BF, Muntean MM, Muntean AA, Popa MI, Popa GL. Cystic echinococcosis in the early 2020s: a review. *Tropical medicine and infectious disease*. 2024 Jan 31;9(2):36.
5. Aregawi WG, Levecke B, Ashenafi H, Byaruhanga C, Kebede N, Mulinge E, et al. Epidemiology of Echinococcus granulosus sensu lato in the Greater Horn of Africa: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis*. 2024;18(1):e0011894. Doi: 10.1371/journal.pntd.0011894.
6. Shahriarirad R, Erfani A, Eskandarسانی M, Rastegarian M, Taghizadeh H, Sarkari B. Human cystic echinococcosis in southwest Iran: a 15-year retrospective epidemiological study of hospitalized cases. *Trop Med Health*. 2020;48(1):49-56. Doi: 10.1186/s41182-020-00238-3.
7. Collado-Aliaga J, Romero-Alegría Á, Alonso-Sardón M, Muro A, López-Bernus A, Velasco-Tirado V, et al. Complications associated with initial clinical presentation of cystic echinococcosis: A 20-year cohort analysis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. 2019;101(3):628-635. Doi:10.4269/ajtmh.19-0019
8. Fasihi Harandi M, Budke CM, Rostami S. The monetary burden of cystic echinococcosis in Iran. *PLoS Negl Trop Dis*. 2012;6(11):e1915. Doi: 10.1371/journal.pntd.0001915
9. Siyadatpanah A, Anvari D, Zeydi AE, Hosseini SA, Daryani A, Sarvi S, et al. A systematic review and meta-analysis of the genetic characterization of human echinococcosis in Iran, an endemic country. *Epidemiol Health*. 2019;41:e2019024. Doi: 10.4178/epih.e2019024.
10. Khalkhali H, Foroutan M, Khademvatan S, Majidiani H, Aryamand S, Khezri P, et al. Prevalence of cystic echinococcosis in Iran: a systematic review and meta-analysis. *J Helminthol*. 2018;92(3):260-8. Doi: 10.1017/S0022149X17000463.

11. Havasian MR, Abdi J, Sayehmiri K. Prevalence of Echinococcus Granulosus in Carnivores of Iran: Systematic Review and Meta-Analysis Study. Medical Laboratory Journal. 2015 Jan 10;8(5):1-6.
12. Darani HY, Avijgan M, Karimi K, Manouchehri K, Masood J. Seroepidemiology of hydatid cyst in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Iran. Iran J Public Health. 2003;32(2):31-3.
13. Heidari Z, Mohebbali M, Zarei Z, Aryayipour M, Eshraghian MR, Kia EB, Shodajei S, Abdi J, Rakhshanpour A, Rokni MB. Seroepidemiological study of human hydatidosis in Meshkinshahr district, Ardabil province, Iran. Iranian journal of parasitology. 2011 Aug;6(3):19.
14. Siyatpanah A, Gholami S, Daryani A, Sarvi S, Sharif M, Seguel M, et al. The Prevalence of Intestinal Helminths in Free-Ranging Canids of Mazandaran, Northern Iran. Iran J Parasitol. 2019;14(4):563-71. PMID: PMC7028244. Doi:10.18502.ijpa.v14i4.2098
15. Eslami A, Ranjbar-Bahadori SH, Meshgi B, Dehghan M, Bokaie S. Helminth infections of stray dogs from Garmsar, Semnan province, Central Iran. Iranian journal of parasitology. 2010 Dec;5(4):37.
16. Dalimi A, Sattari A, Motamedi G. A study on intestinal helminthes of dogs, foxes and jackals in the western part of Iran. Vet Parasitol. 2006;142(1-2):129-33. Doi: 10.1016/j.vetpar.2006.06.024.
17. Lymbery A. Phylogenetic pattern, evolutionary processes and species delimitation in the genus Echinococcus. Adv Parasitol. 2017;95:111-45. Doi: 10.1016/bs.apar.2016.07.002.
18. Ali R, Nazeer S, Elahi MMS, Idu EG, Zhang H, Mahmoudvand H, et al. Global distribution and definitive host range of Echinococcus species and genotypes: A systematic review. Vet Parasitol. 2024;331:110273. Doi: 10.1016/j.vetpar.2024.110273.
19. Hejazi SH, Mirbadie SR, Jafari R, Rezaeiemanesh MR, Azizi O, Badmasti F, et al. Echinococcus granulosus sheep strain (G1) as the predominant genotype in definitive host (dogs) isolates in northeastern Iran. Vet Parasitol Reg Stud Reports. 2024;48:100975. Doi: 10.1016/j.vprsr.2023.100975.
20. Keyhani A, Sharifi I, Bamorovat M, Mohammadi MA, Askari A, Ebrahimipour M, et al. Epidemiological and molecular studies on Echinococcus granulosus from free-roaming dogs in Southeast Iran. Vet World. 2019;13(4):739-45. Doi: 10.14202/vetworld.2020.739-745.
21. Mirbadie SR, Nasab AN, Mohaghegh MA, Norouzi P, Mirzaii M, Spotin A. Molecular phylodiagnosis of Echinococcus granulosus sensu lato and Taenia hydatigena determined by mitochondrial Cox1 and SSU-rDNA markers in Iranian dogs: Indicating the first record of pig strain (G7) in definitive host in the Middle East. Comp Immunol Microbiol Infect Dis. 2019;65:88-95. Doi: 10.1016/j.cimid.2019.05.005.
22. https://en.wikipedia.org/wiki/Chaharmahal_and_Bakhtiari_province.
23. Deplazes P, Eckert J. Diagnosis of the Echinococcus multilocularis infection in final hosts. Applied Parasitology. 1996 Dec 1;37(4):245-52.
24. Rojekkittikhun W, Mahittikorn A, Prummongkol S, Puangsa-art S, Chaisiri K, Kusolsuk T. Evaluation of sugar flotation and formalin-ether concentration techniques in the examination of GI parasites of refuge dogs and cats in Kanchanaburi Province, Thailand.
25. Maurelli MP, Bosco A, Pepe P, Ianniello D, Amadesi A, Cringoli G, et al. Innovative tools for the diagnosis of Echinococcus granulosus in definitive hosts. Parasitol Res. 2018;117(8):2607-12. Doi: 10.1007/s00436-018-5952-1.

26. Bowles J, Blair D, McManus DP. Genetic variants within the genus *Echinococcus* identified by mitochondrial DNA sequencing. *Mol Biochem Parasitol.* 1992;54(2):165-73. Doi: 10.1016/0166-6851(92)90109-w.
27. Tamarozzi F, Legnardi M, Fittipaldo A, Drigo M, Cassini R. Epidemiological distribution of *Echinococcus granulosus* s.l. infection in human and domestic animal hosts in European Mediterranean and Balkan countries: A systematic review. *PLoS Negl Trop Dis.* 2020;14(8):e0008519. Doi: 10.1371/journal.pntd.0008519.
28. Beirumvand M, Rafiei A, Razmjou E, Maraghi S. Multiple zoonotic helminth infections in domestic dogs in a rural area of Khuzestan Province in Iran. *BMC Vet Res.* 2018;14(1):224-231. Doi: 10.1186/s12917-018-1529-6.
29. Beirumvand M, Akhlaghi L, Massom SHF, Mobedi I, Meamar AR, Oormazdi H, et al. Detection of *Echinococcus multilocularis* in carnivores in Razavi Khorasan province, Iran using mitochondrial DNA. *PLoS Negl Trop Dis.* 2011;5(11):e1379. Doi: 10.1371/journal.pntd.0001379.
30. Mirbadie SR, Kamyabi H, Mohammadi MA, Shamsaddini S, Harandi MF. Copro-PCR prevalence of *Echinococcus granulosus* infection in dogs in Kerman, south-eastern Iran. *J Helminthol.* 2018;92(1):17-21. Doi: 10.1017/S0022149X17000074.
31. Abolhasani Daroukcola M, Ebrahimzadeh E, Borji H. Morphometrical and Molecular Identification of *Echinococcus granulosus* Genotypes in peri-urban wild dogs from an endemic focus in Northwest of Iran. *Arch Razi Inst.* 2024;79(4):721-6. Doi: 10.32592/ARI.2024.79.4.721.
32. Parsa F, Harandi MF, Rostami S, Sharbatkhori M. Genotyping *Echinococcus granulosus* from dogs from Western Iran. *Exp Parasitol.* 2012;132(2):308-12. Doi: 10.1016/j.exppara.2012.07.010.
33. Zarei Z, Ghalehbin BM, Akhoundi B, Mohebbali M, Heidari Z. Genotyping of *Echinococcus granulosus* isolated from canine in Northwest Iran. *J Parasit Dis.* 2023;47(4):757-761. Doi: 10.1007/s12639-023-01616-4.
34. Arbabi M, Hooshyar H, Delavari M, Pestechian N. Genotypes Identification of *Echinococcus granulosus* isolated from Iranian dogs and camels using three polymerase Chain reaction-based methods of *cox1* gene. *Int. arch. health sci.* 2021;8(2):104-10. Doi: 10.4103/iahs.iahs_91_20.
35. Yousofi Darani H, Hashemzadeh-Chaleshtori M, Aliyari Z, Farrokhi E, Zebardast N. Molecular characterization of the strains cause sheep-Hydatid cyst, in Chaharmahal va Bakhtiary province using restriction fragment length polymorphism. *J Shahrekord Univ Med Sci.* 2007;9(2):28-33.
36. Arbabi M, Pestechian N, Tavasol Khamseh H, Hooshyar H, Delavari M. Molecular and genotyping identification of *Echinococcus granulosus* from camel and dog isolates in Isfahan, Iran (2015-2016). *Feyz Medical Sciences Journal.* 2017 Jun 10;21(2):134-41.
37. Jamshidi A, Ghatee MA, Haniloo A, Fazaeli A, Sabaghan M. Phylogenetic Study of *cox1* Gene in *Echinococcus granulosus* Sensu Lato Genotypes in Southwestern Iran. *Zoonoses Public Health.* 2025;72(5):435-41. Doi: 10.1111/zph.13220.
38. Abdulhameed MF, Robertson I, Al-Azizz S-J, Habib I. Prevalence of taeniid eggs in the faeces of domesticated and free-roaming dogs in Basrah, Iraq, and the knowledge of dog owners on cystic echinococcosis. *Karbala Int J Mod Sci.* 2020;6 (3):258-66. Doi: 10.33640/2405-609X.1640.