مقاله پژوهشی

بررسی آلودگی سگ‌های شهرستان ارومیه به تخم تنیا با استفاده از روش Multiplex PCR

محمد خرازیان[1]، فرناز ملکی‌فرد*[2]، آلاله رخشانپور[3]، محمد یخچالی[4]

تاریخ دریافت ۱۴۰۱/۱۲/۱۰ تاریخ پذیرش ۱۴۰۲/۰۳/۲۲

چکیده

پیش‌زمینه و هدف: گونه‌های تنیا و اکینوکوکوس انگل‌های مهم مشترک بین انسان و دام در سگ‌ها هستند. سگ به‌عنوان مهم‌ترین میزبان نهایی، به چندین گونه از تنیاها و اکینوکوکوس به‌طور هم‌زمان آلوده می‌شود که ازنظر ریخت‌شناسی غیرقابل تشخیص هستند. هدف از این مطالعه بررسی آلودگی به تخم تنیا در سگ‌های شهرستان ارومیه به روش مولکولی بود.

مواد و روش کار: در این مطالعه، درمجموع ۲۴۶ نمونه مدفوع از سگ‌های شهرستان ارومیه در شمال غرب ایران جمع‌آوری شد و با استفاده از روش شناورسازی و PCR Multiplex، جهت تشخیص و شناسایی تخم‌های انگل، موردبررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: تخم‌های گونه‌های تنیا در ۱۲ نمونه (۴/۸۷) درصد نمونه‌ها دیده شد. در بررسی مولکولی به ترتیب ۱/۶۲، ۲/۰۳ و ۱/۲۱ درصد آلودگی به *اکینوکوکوس گرانولوسوس*، گونه‌های تنیا و آلودگی هم‌زمان تنیاها و *اکینوکوکوس گرانولوزوس* مشاهده شد. آلودگی به *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* در نمونه‌ها دیده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری: با توجه به مشاهده آلودگی به *اکینوکوکوس گرانولوزوس* و گونه‌های تنیا در این مطالعه و اهمیت آن‌ها به‌عنوان انگل‌های مشترک انسان و سگ، طراحی و اجرای برنامه‌های کنترلی توصیه می‌شود.

کلیدواژه‌ها: سگ، Multiplex PCR، تنیا، ارومیه

مجله مطالعات علوم پزشکی، دوره سی و چهارم، شماره دوم، ص۹۷-۹۰، اردیبهشت ۱۴۰۲

آدرس مکاتبه: ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، تلفن:۰۹۱۴۸۵۴۷۵۳۹

Email: f.malekifard@urmia.ac.ir

مقدمه

سگ‌ها میزبان نهایی تعداد زیادی از آلودگی‌های کرمی مشترک با انسان ازجمله تنیاها می‌باشند (۱). از آلودگی‌های مهم کرمی در سگ‌ها، می‌توان به *اکینوکوکوس گرانولوزیس*، *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس*، *تنیا اویس*، *تنیا مولتی سپس* و *تنیا هیداتیژنا* اشاره نمود (۲). انتقال این بیماری‌ها به انسان از طریق تماس با سگ‌ها و تخم انگل صورت می‌گیرد (۱).

سگ‌ها به‌طور هم‌زمان تخم تنیاها و اکینوکوکوس را دفع می‌نمایند. این تخم‌ها ازلحاظ میکروسکوپی غیرقابل تشخیص بوده، بنابراین تشخیص درست آن‌ها نیازمند استفاده از روش‌های مناسب است (۳). امروزه تشخیص DNA تخم انگل در مدفوع، توسط روش PCR، با موفقیت صورت گرفته است (۴). در مطالعه‌ای نشان داده شده است که می‌توان از روش Multiplex PCR، بر مبنای DNA میتوکندریال، برای تشخیص تخم‌های تنیا در مدفوع استفاده کرد (۵).

در مطالعات متعددی، آلودگی به تخم تنیاها در سگ، با شیوع ۱۸ درصد در قرقیزستان (۶)، ۳۷/۸۶ درصد در آرژانتین (۷) و ۲۸ درصد در اسپانیا (۸) گزارش شده است. کهن‌سال و همکاران با استفاده از روش شناورسازی، میزان آلودگی به تخم تنیا در سگ‌های شهرستان زنجان را ۵/۶ درصد گزارش کرده‌اند (۹). همچنین در مطالعه‌ای دیگر، رحیمی و همکاران، میزان آلودگی به تخم تنیا در سگ‌های شمال ایران را ۲۴ درصد گزارش نموده‌اند (۱۰). در مطالعات دیگری در ایران، توسط موبدی و همکاران (۱۱) و بیرانوند و همکاران (۱۲) با استفاده از روش Multiplex PCR، میزان

[1] دانش آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[2] دانشیار انگل شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران (نویسنده مسئول)

[3] استادیار بیماری‌های داخلی دام کوچک، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

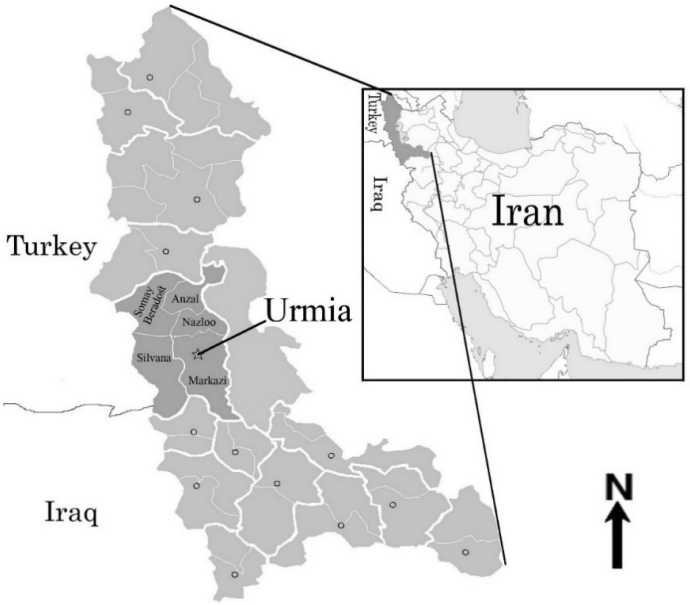
[4] استاد انگل شناسی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

آلودگی به تخم تنیا در سگ‌ها به ترتیب ۲۳/۷ درصد و ۲۶/۳ درصد بود.

با توجه به گستردگی بالای وقوع آلودگی‌های کرمی در انسان و حیوان در ایران، مطالعات محدودی در مورد تنیاها صورت گرفته است. تا به امروز هیچ گزارشی در مورد میزان آلودگی به تنیاها در سگ‌های شهرستان ارومیه مشاهده نشده است. بنابراین، هدف از این مطالعه تعیین میزان شیوع آلودگی به تخم تنیاها در سگ‌های شهرستان ارومیه با روش Multiplex PCR بود تا با تعیین میزان آلودگی بتوان برای اتخاذ روش‌های پیشگیری و کنترل در منطقه اقدام مؤثر نمود.

مواد و روش کار

این مطالعه‌ی توصیفی در سگ‌های شهرستان ارومیه صورت گرفت. شهرستان ارومیه واقع در ناحیه نیمه‌خشک بوده و دارای متوسط بارش ۳۵۰ میلی‌متر بوده و میانگین دمای آن در مردادماه ۲۸/۳ درجه سانتی‌گراد و در دی‌ماه ۵- درجه سانتی‌گراد است. این منطقه دارای مرز مشترک با دو کشور ترکیه و عراق است (شکل ۱) (۱۳).



شکل (۱): نقشه شهرستان ارومیه واقع در شمال غرب ایران

از دی‌ماه ۱۳۹۹ تا آذرماه ۱۴۰۰، تعداد ۲۴۶ نمونه مدفوع به‌صورت تصادفی از سگ‌های اطراف شهرستان ارومیه (۱۴۳ قلاده سگ بی‌خانمان و ۱۰۳ قلاده سگ گله) جمع‌آوری گردید. در این مطالعه سگ‌ها به‌صورت تصادفی انتخاب و نمونه‌گیری از هر سگ، توسط دامپزشک مجرب و با مقید کردن و آرام کردن حیوانات صورت گرفت. نمونه‌های مدفوع با استفاده از دستکش لاتکس یک‌بارمصرف از رکتوم هر حیوان جمع‌آوری شد. هر نمونه در ظرف نمونه‌گیری پلاستیکی در پیچ‌دار قرار گرفت و برچسب اطلاعات بر آن‌ها زده شد و سپس به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه ارومیه منتقل شد. برای جداسازی تخم‌های تنیا، نمونه‌ها به دلایل ایمنی حداقل به مدت ۳ روز در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منجمد شدند.

نمونه‌های مدفوع اخذشده در آزمایشگاه با استفاده از روش شناورسازی با کلرور روی اشباع از جهت وجود تخم تنیاها موردبررسی قرار گرفت (۱۴). بدین ترتیب که پنج گرم از مدفوع اخذشده با ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی مخلوط شده و از الک سایز ۱۰۰ میکرومتر عبور داده شد. مایع حاصله در لوله‌آزمایش مخصوص سانتریفوژ ریخته شده و به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتریفوژ شد. مایع رویی حاصله به دور ریخته شده و به‌جای آن ۱۲ میلی‌لیتر محلول کلرور روی اشباع به لوله‌ها اضافه گردید و با احتیاط ورتکس گردید. سپس محلول‌ها به مدت سی دقیقه در ۱۰۰۰ g سانتریفوژ شدند. پس از اتمام سانتریفوژ، الک‌های سایز ۴۰ و ۲۱ میکرومتری جهت جداسازی تخم تنیاها مورداستفاده قرار گرفت. شناسایی تخم‌ها توسط میکروسکوپ نوری صورت گرفت.

DNA با استفاده از کیت QIAmp DNA (Qiagen, Iran) stool mini kitجداسازی شد. قبل از استخراج، پنج‌چرخه انجماد در نیتروژن مایع به مدت ۵ دقیقه و جوشاندن در ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷ دقیقه انجام شد تا دیواره تخم انگل آسیب ببیند. DNA استخراج‌شده در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای انجام PCR نگهداری شد.

برای انجام Multiplex PCR از روش Trachsel و همکاران استفاده شد (۵). پرایمرهای مورداستفاده برای Multiplex PCR در این مطالعه در جدول ۱ نشان داده شده است.

جدول (۱): پرایمرها و توالی‌های مورداستفاده در Multiplex PCR

گونه‌های هدف	ژن‌های هدف	پرایمرها	سکانس‌ها (۵'-۳')	اندازه باند (bp)
Echinococcus multilocularis	nad1	Cest1	TGCTGATTTGTTAAAGTTAGTGATC	۳۹۵
		Cest2	CATAAATCAATGGAAACAACAACAAG	
Echinococcus granulosus	rrnS	Cest4	GTTTTTGTGTGTTACATTAATAAGGGTG	۱۱۷
		Cest5	GCGGTGTGTACMTGAGCTAAAC	
Taenia sp.	rrnS	Cest3	YGAYTCTTTTTAGGGGAAGGTGTG	۲۶۷
		Cest5	GCGGTGTGTACMTGAGCTAAAC	

برای انجام PCR، کیت شرکت سیناکلون (Ready to use PCR master mix 2X)مورداستفاده قرار گرفت. به این صورت که طبق دستور کارخانه‌ی سازنده، برای هر نمونه ۲۵ میکرولیتر از مخلوط اصلی PCR (شامل:Mgcl2، Taq DNA polymerase، dNTPs ،PCR buffer)، ۵ میکرولیتر آغازگر (۲ میکرومولار از هر آغازگر)، ۲ میکرولیتر از DNA استخراج‌شده و ۱۸ میکرولیتر از آب مقطر خود کیت، با حجم نهایی ۵۰ میکرولیتر، در لوله‌های مخصوص PCR با یکدیگر مخلوط شد.

برای هر مرحله یک کنترل منفی و یک کنترل مثبت هم تهیه گردید. آب مقطر به‌عنوان کنترل منفی استفاده شد و کنترل مثبت (*اکینوکوکوس گرانولوزوس*) از دانشکده دامپزشکی تبریز تهیه گردید. سپس میکروتیوب‌های مخصوص PCR حدوداً ۳۰ ثانیه سانتریفیوژ شده تا اگر محلول در دیواره لوله باشد در ته لوله جمع شود و به دستگاه PCR منتقل شد.

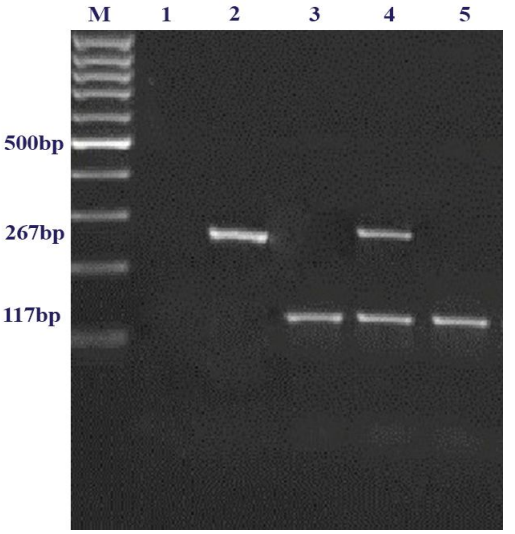
تکثیر قطعه‌های ژنی تنیاهای موردنظر، طبق الگوی دمایی زیر انجام شد. به این صورت که ابتدا واسرشت اولیه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد انجام شد و سپس طی ۴۰ سیکل که هر سیکل شامل ۳۰ ثانیه واسرشت در دمای ۹۴ درجه سانتی‌گراد، یک دقیقه اتصال پرایمرها در دمای ۵۸ درجه سانتی‌گراد و ۹۰ ثانیه توسعه در ۷۲ درجه سانتی‌گراد، انجام شد. توسعه نهایی در مدت ۷ دقیقه و در ۷۲ درجه سانتی‌گراد انجام گردید تا عمل پلیمریزاسیون تکمیل شود (۹). درنهایت محصول نهایی PCR، با استفاده از الکتروفورز در ژل آگارز ۲ درصد و رنگ امیزی Safe stain (سیناکلون، ایران) و تابش اشعه ماوراءبنفش موردبررسی قرار گرفت.

یافته‌ها

در بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مدفوع، آلودگی به تخم تنیاها در ۱۲ قلاده سگ (۴/۸۷ درصد) مشاهده شد، که از این تعداد ۹ قلاده سگ بی‌خانمان (۳/۶۵ درصد) و ۳ قلاده سگ گله (۱/۲۲ درصد) بودند. تخم‌های جداشده، تحت آنالیز Multiplex PCR قرار گرفتند. تکثیر قطعه ۱۱۷ جفت باز از ژن rrnS در ۱/۶۲ درصد (۴ نمونه) از نمونه‌های مدفوع مشاهده شد که نشان‌دهنده عفونت با تخم *اکینوکوکوس گرانولوزوس* بود. قطعه ۲۶۷ جفت باز که نشان‌دهنده آلودگی به گونه‌های تنیا بود، در ۲/۰۳ درصد (۵ نمونه) از نمونه‌ها تکثیر شد. قطعه ۳۹۵ جفت باز از ژن nad1، در نمونه‌های مدفوع موردمطالعه، تکثیر نشد که نشان‌دهنده عدم وجود عفونت با *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* بود. علاوه بر این، ۳ نمونه سگ (۱/۲۱ درصد)، به‌صورت هم‌زمان با*اکینوکوکوس گرانولوزوس* و دیگر گونه‌های تنیا آلوده بودند (جدول ۲ و شکل ۲).

جدول (۲): تعداد تخم‌های گونه‌های تنیا شناسایی‌شده با استفاده از روش Multiplex PCR در مدفوع سگ‌های شهرستان ارومیه

گونه‌های شناسایی‌شده	تعداد	درصد
تنیا	۵	۲/۰۳
اکینوکوکوس گرانولوزوس	۴	۱/۶۲
اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس	۰	۰
آلودگی هم‌زمان اکینوکوکوس گرانولوزوس و تنیا	۳	۱/۲۱



شکل (۲): محصول Multiplex PCR گونه‌های تنیا شناسایی‌شده در مدفوع سگ. چاهک M: مارکر ۱۰۰ جفت باز، چاهک ۱: کنترل منفی، چاهک ۲: ۲۶۷ جفت باز در سگ‌های آلوده به گونه‌های تنیا، چاهک ۳: ۱۱۷ جفت باز در سگ‌های آلوده به *اکینوکوکوس گرانولوزوس*، چاهک ۴: آلودگی هم‌زمان گونه‌های تنیا با *اکینوکوکوس گرانولوزوس*، چاهک ۵: کنترل مثبت (*اکینوکوکوس گرانولوزوس*).

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه، آلودگی به اکینوکوکوس و تنیا را در سگ‌های بی‌خانمان و گله در اطراف شهرستان ارومیه در شمال غرب ایران نشان داد. انگل‌های گوارشی در سگ‌ها، به دلیل احتمال انتقال بیماری‌های مشترک بین انسان و دام، در مناطق روستایی و شهری، از اهمیت بالایی برخوردار می‌باشند. انتقال انگل‌های مشترک بین انسان و سگ، در درجه اول از طریق تماس با مدفوع صورت می‌گیرد (۱). اطلاعات در مورد شیوع این عفونت‌های انگلی در سگ، برای انجام اقداماتی برای به حداقل رساندن خطر انتقال آن‌ها به انسان، حائز اهمیت است.

خانواده سستود تنیائیده، شامل دو جنس تنیا و اکینوکوکوس است (۱۵). تشخیص دقیق تخم‌های تنیائیده اطلاعات کلیدی را برای کنترل بیماری‌های حاصل از آن‌ها فراهم می‌کند. آزمایش مدفوع برای بررسی اپیدمیولوژیک بیماری‌های حاصل از تنیاها، به‌اندازه کافی دقیق نیست، زیرا گونه‌های تنیا، تخم‌های بسیار شبیه به هم دارند. به همین ترتیب، روش‌های ایمونولوژیک (برای شناسایی آنتی‌ژن‌های مشترک) و آنتی‌بادی‌های سرمی به‌اندازه کافی برای تمایز این پاتوژن‌ها در سطح گونه‌ها، اختصاصی نیستند (۱۶). برای غلبه بر این محدودیت‌ها، رویکردهای مولکولی مختلفی مانند فن PCR چندگانه با حساسیت بالا، توسعه یافته است (۱۰، ۵). السابی و همکاران (Al-Sabi and Kapel, 2011) از روش PCR-Multiplex برای تمایز گونه‌های تنیا در جوندگان و گوشت‌خواران استفاده کردند. در مقایسه با روش‌های مورفولوژیکی، سنجش آن‌ها به‌طور قابل‌توجهی حساسیت بالاتری داشت، زیرا ۳۱ مورد از ۳۲ متاسستود تنیا را از جوندگان شناسایی کردند، درحالی‌که تنها ۱۴ نمونه به‌طور خاص با روش‌های مورفولوژیکی شناسایی شده بودند (۱۷).

در این مطالعه، تخم تنیاها به روش شناورسازی، در ۴/۸۷ درصد نمونه‌ها مشاهده شد که کمتر از میزان آلودگی گزارش شده توسط

کهن‌سال و همکاران در سگ‌های شهرستان زنجان، واقع در شمال غرب ایران بود (۹). همچنین، نتایج حاصل از روش PCR Multiplex در این مطالعه نشان داد، که ۱/۶۲ درصد آلودگی با *اکینوکوکوس گرانولوزوس*، ۲/۰۳ درصد آلودگی با گونه‌های تنیا و ۱/۲۱ درصد عفونت هم‌زمان *اکینوکوکوس گرانولوزوس* و تنیا، در سگ‌های شهرستان ارومیه دیده می‌شود. در مطالعات انجام‌شده در سایر مناطق ایران، آلودگی به این گونه‌ها با استفاده از فن PCR Multiplex گزارش شده است. موبدی و همکاران (۱۱) و بیرامند و همکاران (۱۲) میزان این عفونت‌ها را به ترتیب ۲۳/۷ و ۲۶/۳ درصد گزارش کردند. اما در مطالعه دیگری که توسط غلامی و همکاران انجام شده است (۱۸)، هیچ نمونه مثبتی در سگ‌های ولگرد در شمال ایران یافت نشد.

عوامل محیطی و اجتماعی اکولوژیکی متعددی در گردش *اکینوکوکوس گرانولوزوس* بین میزبان‌ها نقش دارند و می‌توانند بر شیوع عفونت تأثیر بگذارند. این عوامل شامل پرورش گسترده گوسفند، کشتار خانگی و تغذیه سگ با احشای حیوانات، حضور سگ‌ها روی لاشه‌های آلوده و دفع نامناسب لاشه‌ها است (۲). ضمناً باید در نظر داشت که میزان آلودگی طی سال‌های اخیر در سراسر کشور، در انسان و سگ، کاهش یافته است. این پدیده ممکن است نتیجه افزایش آگاهی مردم و ارتقای کیفیت خدمات درمانی در ایران باشد. شیوع بالای گزارش شده عفونت در شمال غرب (۱۹) و بخش مرکزی کشور ممکن است به موقعیت‌های جغرافیایی و دمای محیط مربوط باشد (۲۰).

اکینوکوکوزیس در ایران بومی است و گزارشات زیادی از نقاط مختلف کشور وجود دارد (۲۱). با بررسی میزان شیوع اکینوکوکوزکیستیک، مشخص شده است که تقریباً یک درصد از مراجعه به بخش‌های جراحی، مربوط به اکینوکوکوس کیستیک است (۲۲). *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* انگل دیگری است که در سگ‌ها یافت می‌شود. در انسان، مرحله لاروی *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* باعث ایجاد اکینوکوکوز آلوئولی (AE) می‌شود که یک ضایعه فضاگیر است که در صورت عدم درمان کشنده است. AE به‌عنوان یک بیماری پراکنده انسانی، در بیشتر نیمکره شمالی و برخی از کشورهای خاورمیانه پراکنده شده است (۲۳). در ایران، مطالعات کمی در مورد عفونت *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* انجام شده است (۲۴، ۱۲). در این مطالعه، قطعه ۳۹۵ جفت باز که نشان‌دهنده آلودگی به *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* در سگ‌ها بود، مشاهده نشد. نتیجه ما مطابق با نتایج چند مطالعه انجام شده در شمال و شمال غرب ایران است، که در آن هیچ‌گونه *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس* در نمونه مدفوع سگ گزارش نشده است (۱۰،۱۱،۱۸). علی‌رغم عدم شناسایی *اکینوکوکوس مولتی لوکولاریس*، نمی‌توان ادعا کرد که این عفونت به‌طور کامل در منطقه وجود ندارد. بنابراین تعیین میزان دقیق آلودگی، نیازمند مطالعات بیشتر، با تمرکز بر سایر میزبان‌ها (نهایی و واسط) است (۹).

بر اساس نتایج این مطالعه، آلودگی به تنیاها در سگ‌های شهرستان ارومیه واقع در شمال غرب ایران شایع است. بنابراین اجرای برنامه‌های کنترل و پیشگیری، ازجمله آموزش بهداشت به ساکنان روستاها، درمان ضد انگلی سگ‌ها و نظارت بر ذبح دام‌ها، برای کاهش انتقال انگل‌های مشترک بین انسان و دام، ضروری است.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه ارومیه که با تصویب و حمایت مالی امکان انجام مطالعه را فراهم آوردند، تشکر به عمل می‌آید.

References:

1. Robertson ID, Thompson RC. Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. Microbes Infect 2002;4(8):867-3.
2. Cardona GA, Carmena D. A review of the global prevalence, molecular epidemiology and economics of cystic echinococcosis in production animals. Vet Parasitol 2013;192(1-3):10-32.
3. McManus DP. Molecular discrimination of taeniid cestodes. Parasitol Int;55:S31-S7.
4. Jiang W, Liu N, Zhang G, Renqing P, Xie F, Li T, et al. Specific detection of Echinococcus spp. from the Tibetan fox (Vulpes ferrilata) and the red fox (V. vulpes) using copro-DNA PCR analysis. Parasitol Res 2012;111:1531-9.
5. Trachsel D, Deplazes P, Mathis A. Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial DNA. Parasitol 2007;134(06):911–20.
6. Ziadinov I, Mathis A, Trachsel D, Rysmukhambetova A, Abdyjaparov T, Kuttubaev O et al. Canine echinococcosis in Kyrgyzstan: Using prevalence data adjusted for measurement error to develop transmission dynamics models. Int

J Parasitol 2008; 38(10):1179–90.

7. Soriano SV, Pierangeli NB, Roccia I, Bergagna HF, Lazzarini LE, Celescinco A et al. A wide diversity of zoonotic intestinal parasites infects urban and rural dogs in Neuquén, Patagonia, Argentina. Vet parasitol 2010;167(1):81-5.
8. Miró G, Mateo M, Montoya A, Vela E, Calonge R. Survey of intestinal parasites in stray dogs in the Madrid area and comparison of the efficacy of three anthelmintics in naturally infected dogs. Parasitol Res 2007;100(2):317–20.
9. Kohansal MH, Nourian A, Haniloo A, Fazaeli A. Molecular detection of Taenia spp. in dogs' feces in Zanjan Province, Northwest of Iran. Vet World 2017;10(4):445.
10. Rahimi MT, Sarvi S, Daryani A, Sharif M, Ahmadpour E, Shokri A et al. Application of multiplex PCR for the simultaneous detection of spp. from domestic dogs in the north of Iran. Helminthologia 2016;53(3):285-9.
11. Mobedi I, Zare-Bidaki M, Siavashi MR, Naddaf SR, Kia EB, Mahmoudi M. Differential detection of Echinococcus spp. copro-DNA by nested-PCR in domestic and wild definitive hosts in Moghan Plain, Iran. Iran J Parasitol 2013;8(1):107.
12. Beiromvand M, Akhlaghi L, Fattahi Massom SH, 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.
13. Malekifard F, Tavassoli M, Yakhchali M, Darvishzadeh R. Detection of Theileria equi and Babesia caballi using microscopic and molecular methods in horses in suburb of Urmia, Iran. Vet Res Forum 2014; 5(2):129.
14. Mathis A, Deplazes P, Eckert J. An improved test system for PCR-based specific detection of Echinococcus multilocularis eggs. J Helminthol 1996;70(03):219–22.
15. Eckert J, Gemmell MA, Meslin FX, Pawlowski ZS, World Health Organization. WHO/OIE manual on echinococcosis in humans and animals: a public health problem of global concern. World Organisation for Animal Health; 2001.
16. Nakao M, Yanagida T, Okamoto M, Knapp J, Nkouawa A, Sako Y, Ito A. State-of-the-art Echinococcus and Taenia: phylogenetic taxonomy of human-pathogenic tapeworms and its application to molecular diagnosis. Infect Genet Evol 2010;10(4):444-2.
17. Al-Sabi MN, Kapel CM. Multiplex PCR identification of Taenia spp. in rodents and carnivores. Parasitol Res 2011;109:1293-98.
18. Gholami I, Daryani A, Sharif M, Amouei A, Mobedi I. Seroepidemiological survey of helminthic parasites of stray dogs in Sari City, northern Iran. Pak J Biol Sci 2011;14(2):133-7.
19. Shariatzadeh SA, Spotin A, Gholami S, Fallah E, Hazratian T, Mahami-Oskouei M et al. The first morphometric and phylogenetic perspective on molecular epidemiology of Echinococcus granulosus sensu lato in stray dogs in a hyperendemic Middle East focus, northwestern Iran. Parasite Vector 2015;8:1-0.
20. Eslami A, Ranjbar-Bahadori S, Meshgi B, Dehghan M, Bokaie S. Helminth infections of stray dogs from garmsar, Semnan province central Iran. Iran J Parasitol 2010;5(4):37.
21. Rokni MB. Echinococcosis/hydatidosis in Iran. Iran J Parasitol 2009;4(2):1–16.
22. Kohansal MH, Nourian A, Bafandeh S. Human cystic echinococcosis in Zanjan Area, Northwest Iran: a retrospective hospital based survey between 2007 and 2013 Iran J Public Health 2015;44(9):1277.
23. Torgerson PR, Budke CM. Echinococcosis–an international public health challenge. Res Vet Sci 2003;74(3):191-02.
24. Borji H, Emami MR, Maleki MO, Razmi GH,

Mehrjerdi HK, Moghaddas E. Alveolar echinococcosis infection in a monkey (Ateles geoffroyi) in Mashhad, Iran. Iran J Public Health 2012;41(2):111.

Original Article

INVESTIGATION OF *TAENIA* SPP EGGS IN DOGS OF URMIA SUBURB WITH USING MULTIPLEX PCR METHODS

Mohammad Kharrazian[1], Farnaz Malekifard[2], Alaleh Rakhshanpour[3], Mohammad Yakhchali[4]*

Received: 01 March, 2023; Accepted: 12 June, 2023

Abstract

***Background & Aims*:** Taenia spp. and Echinococcus are important common zoonotic parasites in dogs. Dogs as the most important final hosts were infected with several species of these helminths simultaneously which are morphologically indistinguishable. The aim of the present study was to investigate *Taenia* spp eggs contamination in dogs of Urmia, Iran, by molecular method.

Materials & Methods: In this study**,** a total of 246 dog fecal samples were collected from Urmia,
northwest of Iran, and examined using a flotation method followed by multiplex PCR for detection and identification of parasites' eggs.

***Results*:** Taeniid eggs were observed in 12 (4.57%) of samples. Based on Multiplex PCR analysis, 1.62%, 2.03% and 1.21% of samples were infected with *Echinococcus granulosus*, *Tenia* spp and simultaneous infection of Tania and *E. granulosus* were observed, respectively. *E. multilocularis* was not seen in the samples.

***Conclusion*:** Considering the observation of infection with *Echinococcus granulosus* and *Taenia* spp. in this study and their importance as zoonotic parasites, it is recommended to design and implement control programs.

***Keywords*:** Dogs, Multiplex PCR, *Taenia* spp, Urmia

Address: Urmia University, Urmia, Iran
Tel: +989148547539
Email: f.malekifard@urmia.ac.ir

SOURCE: STUD MED SCI 2023: 34(2): 97 ISSN: 2717-008X

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-noncommercial 4.0 International License which permits copy and redistribute the material just in noncommercial usages, as long as the original work is properly cited.

[1] *DVM graduate, Urmia University, Urmia, Iran*

[2] *Associate Professor of Parasitology, Urmia University, Urmia, Iran (Corresponding Author)*

[3] *Assistant Professor of Small Animal Internal Diseases, Urmia University, Urmia, Iran*

[4] *Professor of Parasitology, Urmia University, Urmia, Iran*