

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه شاهرود

مدیریت تحصیلات تکمیلی

دانشکده دامپزشکی

گروه علوم درمانگاهی

پایان نامه جهت اخذ دکتری عمومی در رشته دامپزشکی

شناسایی انگل پلاسمودیوم در شترهای استان سیستان و

بلوچستان به روش Nested PCR

استاد راهنما:

دکتر علی سارانی

استاد مشاور:

دکتر حسن حکیمی

تهیه و تدوین:

مهدی کردی تمندانی

زمستان ۱۴۰۲

چکیده

مالاریا یکی از شایعترین و بدنام ترین بیماری های عفونی جهان است که تنها در پنجاه سال گذشته عامل میلیاردها بیماری و میلیون ها مرگ در انسانها است. به دلیل اهمیت این بیماری از نظر بهداشتی و درمانی به عنوان یکی از شش بیماری مهم پژوهشی سازمان بهداشت جهانی تحت عنوان **Tropical disease research** مطرح می باشد. انگل های پلاسمودیوم ۲۵۶ گونه آلوده کننده دارد که در طیف وسیعی از میزبان ها، از جمله انسان، میمون، پرندگان آزاد، خزندگان، جوندگان و پستانداران سم دار توصیف شده اند. انسان ها گهگاه با گونه های پلاسمودیوم که به طور معمول حیوانات را آلوده می کنند، مانند *P. Knowlesi* آلوده می شوند. استان سیستان و بلوچستان دارای ۶۲ هزار نفر شتر و همچنین یکی از مناطق اندمیک مالاریای انسانی در کشور می باشد، و با توجه به وجود گونه هایی از مالاریا در زوج سمیان که می توانند بعنوان مخزن بیماری عمل نمایند بدین منظور برای اولین بار در کشور یک مطالعه مقطعی از پاییز ۱۴۰۰ تا زمستان ۱۴۰۱ جهت بررسی و شناسایی انگل پلاسمودیوم در شترهای استان سیستان و بلوچستان طراحی گردید؛ لذا از شهرستانهای دارای بیشترین جمعیت شتر بصورت تصادفی از تعداد ۵۹ نفر شتر در شرایط یکسان با رعایت اصول آسپتیک از ورید و داج خونگیری انجام گرفت. علاوه بر این از وریدهای سطحی گوش گسترش خونی تهیه گردید و پس از رنگ آمیزی با میکروسکوپ بررسی گردید. پس از استخراج DNA، نمونه های خون اخذ شده با روش مولکولی **Nested-PCR** و با استفاده از پرایمرهای الیگونوکلئوتیدی اختصاصی برای توالی سیتوکروم **b** میتوکندری پلاسمودیوم (**cytb**) مورد بررسی قرار گرفت. در این مطالعه ریسک فاکتورهایی مانند سن، جنس، نژاد، موقعیت جغرافیایی، فصل، سابقه سقط، سابقه کاهش شیر، سابقه کاهش وزن، وضعیت عقده های لنفاوی، وضعیت مخاطات و تب مورد بررسی قرار گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده هیچکدام از نمونه های اسمیر در بررسی میکروسکوپی دارای آلودگی نبود، علاوه بر این نتایج حاصل از **PCR** برای ژن **cytb** نیز عدم وجود این انگل را تایید نمود.

کلیدواژه ها: مالاریا، پلاسمودیوم، شتر، سیستان و بلوچستان، مولکولی، **Nested-PCR**

Abstract:

Malaria is one of the most prevalent and notorious infectious diseases globally, having been a causative factor for billions of illnesses and millions of deaths in humans over the past fifty years alone. *Plasmodium* parasites comprise 256 infective species found in a wide spectrum of hosts, including humans, monkeys, free-flying birds, reptiles, rodents, and ungulates. Humans occasionally become infected with *Plasmodium* species that typically infect animals, such as *P. knowlesi*.

Sistan and Baluchestan province in Iran, with a population of 62 thousand camels, is also one of the endemic regions for human malaria. Considering the presence of malaria species in ungulates, which can act as reservoirs for the disease, a cross-sectional study was designed for the first time in the country from the fall of 2021 to the winter of 2023 to investigate and identify *Plasmodium* parasites in camels in Sistan and Baluchestan province. Therefore, a random selection of 79 camels from counties with the highest camel population was conducted under aseptic conditions, with blood samples taken from the jugular vein. Additionally, blood samples were collected from superficial ear veins for hematological analysis after staining with a microscope. After DNA extraction, blood samples were examined using the molecular method Nested-PCR, with specific oligonucleotide primers for the mitochondrial cytochrome b sequence of *Plasmodium* (cytb).

In this study, risk factors such as age, gender, race, geographic location, season, history of abortion, history of reduced milk production, history of weight loss, lymph node status, mucosal status, and fever were investigated. According to the obtained results, none of the smear samples showed contamination in microscopic examination. Furthermore, PCR results for the cytb gene confirmed the absence of this parasite.

Keywords: Malaria, *Plasmodium*, Camel, Sistan and Baluchestan, Molecular, Nested-PCR.



**University of Zabol
Graduate School
Faculty of Veterinary
Department of clinical Sciences**

The Thesis Submitted for the Degree of DVM

**Detection of Plasmodium parasite in camels of Sistan and
Baluchestan province by Nested PCR**

**Supervisor:
Dr. Ali Sarani**

**Advisor:
Dr. Hassan Hakimi**

**By:
Mahdi Kordi Tamandani**

February 2024