

# مقایسه دو روش ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک جهت تشخیص تک یاخته سارکوسیست گوسفند در کشتارگاه صنعتی شهرستان بروجرد

حسین وثوقی<sup>۱\*</sup> و ناصر حقوقی راد<sup>۲</sup>

(تاریخ دریافت: ۹۱/۱/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۱/۴/۵)

## چکیده

تک یاخته ی سارکوسیست از عوامل بیماری مشترک انسان و دام به شمار می رود. این انگل شیوع جهانی داشته و در بسیاری از حیوانات ایجاد آلودگی می کند. از نظر بهداشتی و اقتصادی ضررهای زیادی را به جوامع انسانی و حیوانی تحمیل می کند. سارکوسیستیس یکی از شایع ترین انگل های چهار پایان است. بسیاری از پستانداران وحشی، پرندگان، جانوران خونسرد و انسان را آلوده می کند. بعضی از گونه های سارکوسیست ممکن است منجر به بیماری شدید و حتی کشنده در میزبان واسط خود گردند. در این مطالعه، میزان آلودگی به سارکوسیستیس در گوسفندان کشتارگاه شهرستان بروجرد با دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هضمی) مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. ۶۰ لاشه گوسفند بطور تصادفی طی دو مرحله از کشتارگاه شهرستان بروجرد استان لرستان انتخاب شد. در مرحله ی اول، اندام های مری، دیافراگم، قلب، عضله سردست و ران به روش ماکرو سکوپی بررسی و در مجموع ۱۷ مورد حاوی کیست ماکرو سکوپی تشخیص داده شدند. در مرحله دوم از ۶۰ نمونه ی انتخاب شده نمونه برداری صورت گرفته و پس از استفاده از روش هضمی (پسین ۲/۵ گرم، اسید کلریدریک ۱۰ سی سی و فسفات بافر ۱۰۰ سی سی) جدا سازی و تهیه گسترش، رنگ آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت که ۵۴ نمونه حاوی برادی زوئیت تشخیص داده شد. در این مطالعه اختلاف آماری معنا داری بین دو روش تشخیص ماکروسکوپی و میکروسکوپی دیده شد. ( $P < 0/001$ ) و حساسیت تشخیص میکروسکوپی نسبت به ماکرو سکوپی قابل ملاحظه بود.

کلمات کلیدی: بروجرد، سارکوسیست، زئونوز، ماکرو سکوپی، هضمی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد انگل شناسی دامپزشکی - دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران - ایران

۲ - استادگروه انگل شناسی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات تهران - ایران

\*: مسئول مکاتبات؛ پست الکترونیکی: Hosain\_vosughi@yahoo.com

## مقدمه

استان لرستان در غرب ایران بین ۶۴ درجه و ۱۵ تا ۵۰ درجه و ۳ دقیقه طول شرقی از نصف النهار گرینویچ و ۲۳ درجه و ۷۳ دقیقه تا ۴۳ درجه و ۲۲ دقیقه و وسعت آن در حدود ۹۵۵۸۲ کیلومتر مربع با متوسط بارندگی سالانه ۵۰۰ میلی متر پس از استان‌های شمالی کشور قرار دارد که شهرستان بروجرد در شمال شرقی این استان با متوسط بارندگی ۳۵۰ میلی متر در سال ۱۳۹۰ یکی از قطب‌های دامداری در کشور بوده و پرورش گوسفند در آن رواج دارد (۲۰).

سارکوسیستیس، بیماری زئونوزی است که عامل آن تک یاخته سارکوسیست، با بیش از ۱۲۰ گونه شناسایی شده در جهان، می باشد که اکثر گونه‌ها منجر به عفونت در حیوانات می‌گردد. برخی گونه‌های سارکوسیستیس در انسان باعث اختلالات گوارشی از جمله؛ تهوع، اسهال و استفراغ می‌شود. منشاء آلودگی در انسان، خوردن گوشت نیم پز و یا خام است (۴).

گوسفند ممکن است به وسیله چهار گونه سارکوسیستیس آلوده شود که عبارتند از: سارکوسیستیس تنلا

*Sarcocystis tenella* سارکوسیستیس آرتی کنیس *S. ariticanis*، سارکوسیستیس ژیگانته *S. gigantea* و سارکوسیستیس مدیزیفورمیس *S. medusiformis* که دو گونه اخیر غیر پاتوژن می‌باشند. دو گونه سارکوسیست تنلا و آرتی کنیس ممکن است باعث سقط جنین یا عفونت حاد در گوسفندان شود (۸).

دو گونه *S. gigantea* و *S. tenella* در اقصی نقاط دنیا پراکندگی دارند. و دو گونه *S. medusiformis* و *S. gigantea* توسط

میزبان نهایی گربه به شکل کیست‌های ماکرو سکویی و غیرپاتوژن پراکنده می‌شوند. دو گونه *S. tenella* و *S. arieticanis* به شکل کیست‌های میکروسکوپی و توسط سگ پراکنده شده و پا توژن می‌باشند (۸).

آلودگی توسط گونه‌های پاتوژن و غیر پا توژن با خوردن اسپوروسیست همراه مواد غذایی و آب به میزبان واسط منتقل می‌گردد (۸). انگل از لحاظ تولید مثلی و چرخه زندگی، نیاز به دو مرحله‌ی سیر تکاملی دارد. نخست این که این انگل زندگی اجباری داخل سلولی داشته که سیر تکاملی در میزبان (نهایی- واسط) وجود دارد. مرحله غیر جنسی خود را در سلول‌های آندوتلیال میزبان واسط (که معمولاً عروق یک حیوان علف خوار است) طی می‌کند. اندوزوئیت‌های نسل چهارم (آندوپلوژنی) در عضلات مخطط، بافت عصبی و بافت عضلانی قلب میزبان واسط تشکیل می‌شود (۱۹). میزبان نهایی با خوردن عضلات آلوده به کیست حاوی برادی زوئیت به تک یاخته مبتلا می‌گردند شیزونت و متروسیت برای میزبان نهایی آلوده کننده نیستند؛ برادی زوئیت‌ها سیر تکاملی جنسی را در دیواره روده کوچک آغاز می‌کنند و تبدیل به اووسیست می‌گردند و اسپوروسیست حاوی اسپروزوئیت با مدفوع از میزبان نهایی دفع شده و با خوردن آنها توسط میزبان واسط سیکل زندگی انگل کامل می‌شود (۱۹). در بازرسی‌های کشتارگاهی فقط کیست‌های ماکروسکوپی تشخیص داده می‌شوند و کیست‌های میکروسکوپی از دید بازرسان مخفی می‌مانند (۱). هدف از این مطالعه مقایسه و ارزیابی دو روش تشخیصی ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هضمی) در تشخیص آلودگی گوشت گوسفندان ذبح شده

در کشتارگاه های استان لرستان به سارکوسیستیس بوده است.

### مواد و روش ها

در بررسی حاضر؛ کشتارگاه شهرستان بروجرد انتخاب، و طی دوره دو ماهه مراجعه به کشتارگاه هر بار ۳۰ نمونه در کشتارگاه به طور کاملا تصادفی گوسفندان ذبح شده انتخاب و در مرحله اول به شکل ماکروسکوپی، عضلات مری، قلب، سردست، دیافراگم مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده کیست به شکل ماکروسکوپی مورد مثبت ثبت می گردید. در مرحله دوم از گوسفندان ذبح شده، ۵۰ گرم از عضلات مزبور نمونه برداری می گردید و درون کیسه نایلونی تمیز قرار داده می شد. پس از برچسب گذاری و کد بندی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل می گردید، سپس با استفاده از روش هضمی دویی (محلول هضمی حاوی پپسین ۲/۵ گرم، اسید کلریدریک ۱۰ سی سی و ۱۰۰ سی سی فسفات بافر) ۱۲ ۵۰ گرم نمونه با قیچی خرد و درون ارلن مایر ریخته و ۱۰۰ سی سی محلول هضمی به آن اضافه و در بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد به مدت سی دقیقه قرار داده می شد. پس از آن با کمک شیکر نمونه کاملا هضم و مخلوط می گردید. در مرحله بعد با استفاده از پارچه تنظیف به عنوان صافی روی قیف آزمایشگاهی قرار داده می شد و نمونه پس از هم زدن از صافی عبور داده می شد.

شیرابه جمع آوری شده در بشر درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ می گردید. بعد از ریختن مایع رویی از رسوب به دست آمده بر روی لام، گسترش تهیه شده و پس از خشک شدن با الکل متیلیک ثابت می گردید. در مرحله آخر با رنگ آمیزی گیمسا به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه نمونه ها رنگ و در پایان با میکروسکوپ نوری مدل Labomed (LX400) و اضافه کردن روغن ایمرسیون با عدسی ۱۰۰ مورد بررسی و مطالعه قرار می گرفت. اشکال برادی زوئیت انگل به عنوان نمونه مثبت تلقی و ثبت می گردید. در پایان جهت مقایسه دو روش تشخیصی ماکروسکوپی و میکروسکوپی با نرم افزار SPSS 16 و با استفاده از روش آماری Non parametric test-chi-square مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

### نتایج

در این بررسی دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هضمی) جهت تشخیص تک یاخته سارکوسیستیس مورد بررسی قرار گرفت. طبق نتایج جدول شماره یک در تشخیص سارکوسیستیس - روش هضمی نسبت به روش ماکروسکوپی داری اهمیت و ارزش بیشتری بود و اختلاف این دو روش از لحاظ آماری معنی دار بود ( $P < 0.001$ ).

جدول ۱- نتایج آزمایشات ماکروسکوپی و میکروسکوپی جهت تشخیص سارکوسیستیس در کشتارگاه صنعتی بروجرد

تشخیص ماکروسکوپی ابتلا به سارکوسیستیس		تشخیص میکروسکوپی ابتلا به سارکوسیستیس		کل نمونه های بررسی شده در کشتارگاه شهرستان بروجرد (۶۰ نمونه)
مثبت	منفی	مثبت	منفی	
۱۷	۴۳	۵۴	۶	

## بحث

سارکوسیست برای اولین بار در سال ۱۸۴۳ به وسیله میشر در موش خانگی گزارش گردید. این تک یاخته در میزبانان واسط خود به صورت کاملاً اختصاصی می باشد (۱۸). در ایران اولین تحقیقات در خصوص تشخیص سارکوسیستیس در سال ۱۹۷۴ توسط افشار و همکاران بررسی گردید (۶).

سارکوسیستوزیس از بیماری های مشترک انسان و دام است. برخی گونه ها باعث سقط جنین، کاهش تولید وزن و شیر، کم خونی و حتی مرگ در میزبانان واسط می شود (۱). در بررسی حاضر دوروش تشخیصی ماکروسکوپی (مشاهده ای) و میکروسکوپی (روش هضمی) جهت شناخت این تک یاخته در گوسفندان ذبح شده ی شهرستان بروجرد مورد بررسی قرار گرفت. نتایج آن ارجحیت روش میکروسکوپی را نسبت به ماکروسکوپی آشکار ساخت و اختلاف معنی داری در تشخیص این دو روش مشاهده گردید. ( $P < 0/001$ ). مطالعات مختلفی در خصوص جایگاه قرارگیری کیست سارکوسیست در اندام ها مختلف حیوانات به خصوص گوسفند در ایران و در جهان صورت پذیرفته است، و کمتر به تفاوت تشخیصی بین دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی پرداخته شده است (۱). در مطالعه ای در سال ۲۰۱۱ توسط میرزایی دیهقی در کرمان بر روی ۲۹۴ بز به روش ایمپرژن اسمیر و میکروسکوپی نتایج نشان داد که ۹۸/۹۷ درصد به روش ایمپرژن اسمیر و ۱۰۰ درصد در روش هضمی ابتلا به سارکوسیست وجود داشته است. در این مطالعه میزان شیوع عفونت در مری بیشتر از سایر ارگان ها بود. میزان عفونت با سن ارتباطی نداشت و در جنس ماده میزان

آلودگی بیشتر از نرها تشخیص داده شد، که با نتایج ما در بخش اول و بهتر بودن روش هضمی مطابقت داشت (۱۱). در مطالعه دیگری در شهر همدان در سطح کشتارگاه میزان شیوع سارکوسیستیس در گوسفند ۶/۹ درصد به روش مشاهده مستقیم عنوان شده است (۴). در شهرستان سنندج میزان شیوع این آلودگی در گوشت با روش هضمی ۹۳/۳۳ درصد عنوان شده است (۳). در مطالعه دیگری در استان تهران به صورت مقایسه ای نتایج ماکروسکوپی منفی ولی از نظر میکروسکوپی به روش هضمی ۹۷ درصد میزان آلودگی بیان شد، که اختلاف معنی داری در تشخیص این تک یاخته با دو روش مشاهده گردید که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد (۱۵). در مطالعه دیگری در شهرستان تبریز به سه روش هضمی، ماکروسکوپی و گسترش بافتی از گوسفندان ذبح شده نتایج زیر به دست آمد. با روش ماکروسکوپی از نواحی مری، ران، بازو، دیافراگم و قلب به ترتیب ۲۴/۷، ۱۶/۲، ۱۷، ۲۷/۷ و در روش بافتی ۲/۲ درصد آلودگی مشاهده شد. این در حالی بود که روش هضمی ۱۰۰ درصد آلودگی را نشان می داد. در این بررسی روش های گسترش بافتی و ماکروسکوپی، آلودگی را کمتر از روش هضمی نشان دادند. بنابراین روش هضمی حساس ترین روش آشکارسازی واقعی گوسفندان به سارکوسیستیس شناخته شد (۱). که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد. همچنین در مطالعه دیگری در کشتارگاه قائم شهرستان شهریار وجود ۱۰۰ درصد آلودگی در گوشت با روش هضمی مشخص گردید. در این مطالعه روش هضمی را ارجح تر از روش

کیست های میکروسکوپی نسبت به ماکروسکوپی بیشتر می باشد (۱۲).

از آن جایی که چهارگونه ی سارکوسیست در گوسفند وجود دارد و دو گونه ی پاتوژن آن، یعنی سارکوسیست تنلا و سارکوسیست آریتی کنیس توسط میزبان نهایی سگ منتشر می شود و شکل کیست میکروسکوپی است، اهمیت روش تشخیصی به تک یاخته سارکوسیستیس را به روش هضمی آشکارتر می سازد. سگ ها و گربه ها میزبانان قطعی برای تعدادی از گونه های شناخته شده سارکوسیستیس گوسفند هستند. یکی از دلایل وقوع عفونت شدید در میزبانان واسط، به این علت نسبت داده می شود، که حیوانات مزارع در ارتباط نزدیکی با سگ های نگهبان گله هستند و سگ ها چراگاهها را با اسپروسیست های سارکوسیستیس آلوده می کنند (۱). در یک مطالعه در بغداد نشان داده شده است که سگ های آلوده، حدود ۲۰۰ میلیون اسپروسیست (روزانه چهار میلیون اسپروسیست) در طول دوره آلودگی دفع می کنند (۱۴). همچنین در مطالعه ای در سال ۱۹۷۷ توسط فایر اشاره شده که سگ های آلوده، حدود دو میلیون اسپروسیست در روز دفع می کنند و اسپروسیست ها در زمان دفع خاصیت آلوده کنندگی دارند که این فاکتور، نقش مهمی را در اشاعه و اپیدمیولوژی سارکوسیستیس بازی می کند (۱۳).

لذا با توجه به بررسی حاضر که اکثریت کیست ها در لاشه گوسفندان میکروسکوپی بوده و میزبان نهایی آن سگ میباشد و از آنجا که ارتباط گله ی گوسفند با سگ گله نیز زیاد است و با توجه به آلودگی بالای دام ها و همچنین با توجه به بازرسی لاشه ها در کشتارگاه ها به صورت ماکروسکوپی ضرورت

هیستوپاتولوژی دانسته است (۵). که با نتایج ما در این تحقیق نیز همخوانی داشت.

در تنکابن به روش ماکروسکوپی، میزان شیوع سارکوسیستیس در کشتارگاه، ۱۴/۵۵ درصد عنوان شد (۷). در قزوین با روش PCR گونه های سارکوسیستیس در گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه زیاران مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه، کیست های ماکروسکوپی متعلق به سارکوسیستیس ژیگانته آ و کیست های میکروسکوپی متعلق به سارکوسیستیس آریتی کنیس بوده اند (۲). مطالعه ای در شهرستان شهرکرد میزان شیوع سارکوسیستیس در کشتارگاه به روش میکروسکوپی ۹۱ درصد بوده است (۱۰).

در کشور همسایه عراق نیز طی مطالعه ای به روش ماکروسکوپی ۴/۱ درصد گوسفندان و با روش هضمی ۹۷ درصد میزان آلودگی را گزارش داده اند (۱۴). در طی مطالعات خارجی در گوسفند، در کشورهای آلمان، اسپانیا، استرالیا و ایران به ترتیب ۸۵/۴، ۹۶، ۹۳، ۶۱ درصد آلودگی مشاهده شده است (۱۶). همچنین در کشور فرانسه ۹۴/۸ درصد، ترکیه ۹۷ درصد، آمریکا ۱۰۰ درصد می باشد (۱۷). در ایتوپی ۹۳ درصد و در اسلواکی ۸۷/۶ درصد آلودگی گزارش شده است (۹).

در مطالعات صورت گرفته در گاو عنوان شده، گونه های آلوده کننده گاو که میزبان نهایی آن سگ و سگ سانان است، در میزبان واسط تولید کیست میکروسکوپی می نماید. همچنین عنوان گردیده، گونه هایی که میزبان نهایی آن گربه است، در مناطق محدود بوده که علت آن تماس کمتر گاو با گربه بوده است و یا این که دفع اسپروسیست از گربه در مقایسه با سگ کمتر است. به همین دلیل

این آلودگی برطرف و هم ابتلای انسانی آن کنترل و پیشگیری گردد.

### تقدیر و تشکر

از جناب آقای دکتر صادق رهبری استاد بزرگوار و جناب آقای دکتر عباسعلی مطلبی و نیز استاد محترم جناب آقای دکتر رضا گودرزی و جناب آقای دکتر شهرام نخجوان کمال تشکر و قدردانی را دارم.

در تغییر نحوه بازرسی و کنترل گوشت ها در کشتارگاه ها و همچنین تصمیم گیری روشهای ویژه در از بین بردن آلودگی گوشت قبل از مصرف برای جلوگیری از آلودگی انسان لازم باشد. همچنین پیشنهاد میگردد با توجه به عدم امکان جدا سازی سگ آلوده از گله و مراتع در صورت امکان سازمانهای مربوطه در خصوص واکسیناسیون سگ گله و گوسفندان کشور اقدامات لازم را هر چه سریعتر اجرایی نمایند تا هم میزان خسارات مستقیم ناشی از

### منابع

- ۱- ارشد، م. دلیمی اصل، ع. غفاری فرد، ف. ۱۳۸۶. مطالعه مقایسه ای تشخیص سارکوسیسیتیس در لاشه گوسفند ذبح شده در کشتارگاه تبریز. مجله پژوهش و سازندگی امور دام و آبزیان، شماره ۷۵، صفحات ۷۲-۶۹.
- ۲- دلیمی، ع. پایکاری، ح. اسماعیل زاده، م. ولی زاده، م. کریمی، غ. معتمدی، غ. عبدی گودرزی، م. ۱۳۸۷. تعیین گونه های سارکوسیسیتیس گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه زیاران قزوین با روش PCR-RFLP. مجله علوم پزشکی مدرس. دوره ۱۱، شماره ۱. صفحات ۷۲-۶۵.
- ۳- رسولی، س. صادقیان، م. کریمیان، ص. ولیزاده، الف. جعفری، ک. ۱۳۸۸، بررسی میزان شیوع آلودگی گوشت به تک یاخته سارکوسیسیت در شهرستان سنندج با روش هضمی، مجله پژوهش نوین دامپزشکی. سال اول شماره ۳. صفحات: ۲۷-۲۲.
- ۴- فلاح، م. متینی، م. بیگم کیا، ع. موبدی، الف. ۱۳۸۸. بررسی شیوع آلودگی به انگل های مشترک انسان و دام (کیست هیداتیک، ترماتود های کبدی، سارکوسیسیتیس) در دامهای کشتار شده در کشتارگاه صنعتی همدان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان. دوره ۱۷، شماره ۳. صفحات ۱۲-۵.
- ۵- کامل، ع. ۱۳۷۸. بررسی میزان فراوانی سارکوسیسیت در عضلات گوسفند و بز کشتارگاه قائم شهریار به دو روش هضمی و آسیب شناسی، پایان نامه شماره ۳۷۰ برای دریافت دکترای حرفه ای. دانشکده دامپزشکی آزاد اسلامی واحد کرج. صفحات ۲۰-۱۶.
- 6-Afshar,A.,Naghshineh,R.,Neshat,H.,1974. Incidence of Sarcosporidiosis in sheep in Iran. Tropical Animal Health and production.6(4) :1920-1927
- 7-Akbarian,H.,Jabelijavan,A.,Eizadi,S.S.,2008.Infection to sarcocyst in cattle,sheep and goat in the slaughterhouse of tonekabon during one year study .6<sup>th</sup> national congress of parsitology and parasitic diseases of Iran. Karaj.Razi Institute.
- 8-Anja,H.,Tenter,R.,Astrie,M.,Tokai, J.,1999. Comparision of Immunologicil and Molecular Methods for the Diagnosis of Infections with Pathogenic Sarcocystis species in Sheep . Clinical Medicine . 23(6):293-30
- 9-Arshadi, M.,Dalimi, A.H.,Ghaffarifar,F.,2007. Comparative study of Sarcocystis diagnosis in Sheep carcauses Slaughterd in Tabriz Slaughterhouse . Journal of Pajouhesh va Sazandegi. 75:68-72
- 10-Bonyadian, M.,Meshki, B.,2004. Infection rate of Sarcocystis in Slaughtered Livestock in Shahrekord. Journal of pajouhesh va sazandagi .72:14-18.

- 11-Dehaghi,M.M.,Fathi,S.,Noroz Asl,E.,2011. Survey of Sarcocystis infection in Slaughtered goats in Kerman Abattoir,Southeast of Iran. Journal of Animal and veterinary advances. 10 (9):1205-1208
- 12-Dubey,G.P.,Speer,C.A.,Fayer,R.,1989. Sarcocystosis of animals and Man.Florida,CRC.Press.
- 13-Dubey,J.P.,1976. A review of Sarcocystis of domestic animals and of other Coccidian of Cats and Dogs .Journal of American Veterinary Medical Association.169(10) :1067-1078
- 14-Latif, B.M.A.,Al-Delemi, J.K.,Mohammed, B.S.,Al-Bayati, S.M., Amiry,A.M.,1999. Prevalance of Sarcocystis SPP.In meat production Animals in Iraq. Veterinary Parasitology.84:85-90
- 15- Mirian ,S.J.,Dalimi, A.H.,Habibi,G.,2008. Ferquency of sarcocystis in cattle slaughtered in tehran province. 6<sup>th</sup> natinnal congress of parsitology and parasitic diseases of Iran.Karaj.Razi Institute.
- 16-Oryan, A.,Moghaddar, N.,Gaur,S.N.,1996. The distribution pattern of Sarcocystis species,their transmission and pathogenesis in sheep in fars province of Iran. Veterinary Research communication .20(3):53-243
- 17-Razmi, G.,Rahbari, S.,2000. Study of Sarcocystis in the domestic ruminants of Tehran and Golestan Province. Journal of veterinary Medicine ,Shahid Chamran University.40:39-46
- 18-Ronald, F.,2004. Sarcocystis spp.in Human infections. Clinical Microbiology.17:894-902
- 19-Soulsbe,E.J.L.,1982. Helminths,Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals.7<sup>th</sup>Bailliere Tindall . 682-686
- 20-WWW.Lorestanmet.ir

