



دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه برای اخذ درجه پایان نامه دکترای حرفه‌ای پزشکی

عنوان:

**همه‌گیرشناسی بیماران جراحی شده مبتلا به کیست هیداتیک، تعیین ژنوتایپ
نمونه‌های مورد مطالعه و تعیین نقشه پراکندگی هیداتیدوز به کمک GIS در استان
اردبیل در طی سال‌های ۱۳۹۳–۹۸**

نگارش:

مرجان بقالیان

استادان راهنما:

دکتر بهنام محمدی قلعه بین

دکتر ایرج فیضی

استادان مشاور:

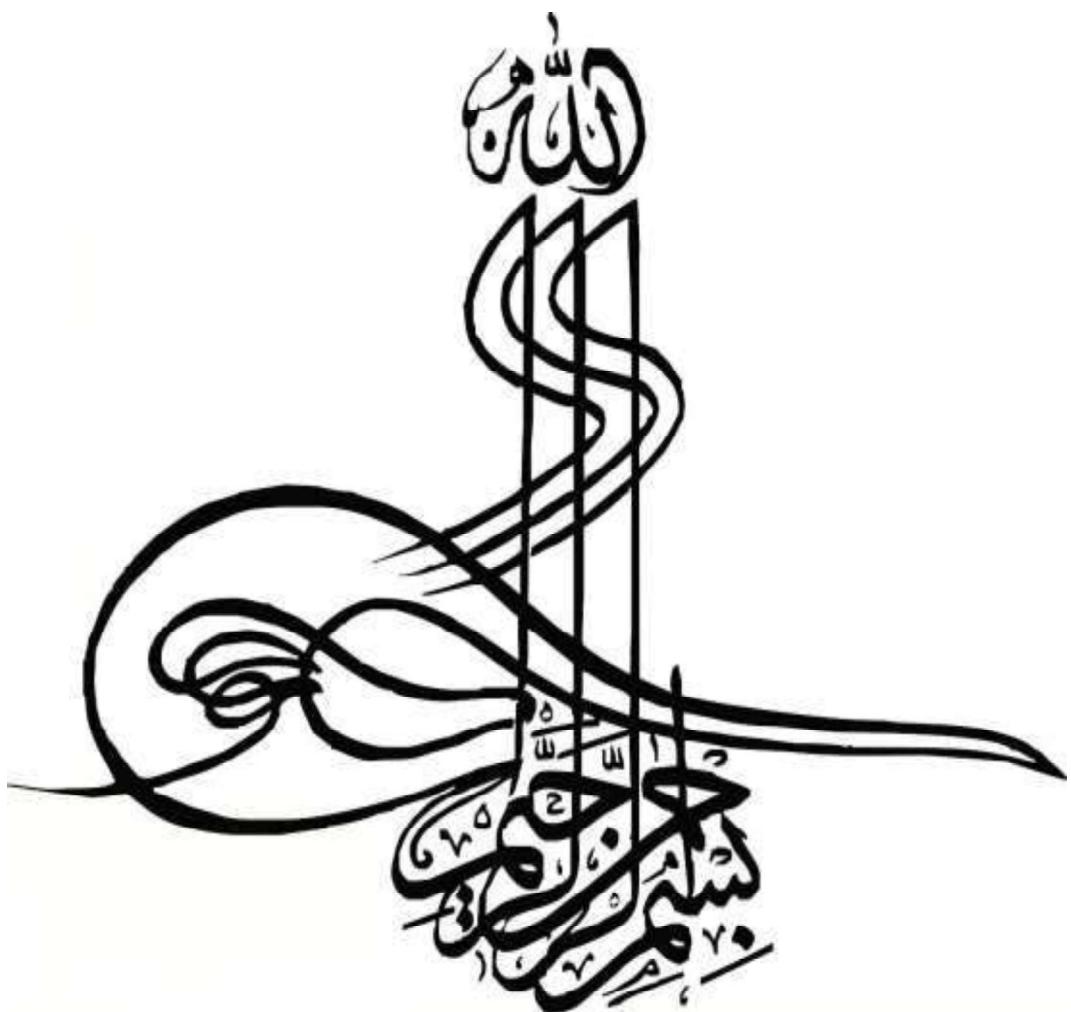
دکتر زهرا حیدری

دکتر اسلام مرادی اصل

مهر ماه ۹۹

کد اخلاق: IR.ARUMS.REC.1398.129

شماره پایان نامه: 0822





دانشگاه علوم پزشکی
و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل

دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

دانشکده پزشکی

پایان نامه برای اخذ درجه پایان نامه دکترای حرفه‌ای پزشکی

عنوان:

**همه‌گیرشناسی بیماران جراحی شده مبتلا به کیست هیداتیک، تعیین ژنوتایپ
نمونه‌های مورد مطالعه و تعیین نقشه پراکندگی هیداتیدوز به کمک GIS در استان
اردبیل در طی سال‌های ۱۳۹۳–۹۸**

نگارش:

مرجان بقالیان

استادان راهنما:

دکتر بهنام محمدی قلعه بین

دکتر ایرج فیضی

مهر ماه ۹۹

کد اخلاق: IR.ARUMS.REC.1398.129

شماره پایان نامه: 0822

گواهی اصالت

بدینوسیله اعلام می‌نمایم که این پایان نامه حاصل کار تحقیقاتی اینجانب مرجان بقالیان دانشجوی رشته پزشکی عمومی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اردبیل می‌باشد و در هیچ دانشگاه یا مرکز تحقیقاتی و آموزشی دیگری برای دریافت مدرک علمی ارایه نگردیده است.

اطلاعات علمی که از نتایج تحقیقات چاپ شده یا چاپ نشده دیگران اخذ شده است، با ذکر منبع، در متن پایان نامه و در فهرست منابع آورده شده است.

کلیه حقوق اعم از چاپ، تکثیر، نسخه‌برداری، ترجمه، اقتباس و ... از نتایج این پایان نامه، برای دانشگاه علوم پزشکی اردبیل محفوظ است. استناد به مطالب یا نقد آنها، با ذکر مأخذ بلامانع است.

مرجان بقالیان

امضاء و تاریخ

تقدیم به

پر و مادر غزیرم ...

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم پر و مادری فداکار نصیم ساخته تا در سایه

در خست پر بار وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نماییم.

والدین که بودشان تاج افخاری است بر سرم و ناشان دلیلی است بر بودنم چرا که

این دو وجود پس از پروردگار مایه هستی ام بوده اند دستم را گرفته و راه رفتن را

در این وادی زندگی پر از فراز و تشب آموختند.

تقدیم به همسرم به پاس قدر دانی از قلبی آکنده از عشق و معرفت که محیطی سرشار از سلامت

و امنیت و آرامش و آسایش برای من فراهم آورده است.

تقدیر

به مصدق حديث شریف « من لم یشکر المخلوق لم یشکر الخالق »

بسی شایسته است از استاد راهنمای فرهیخته و فرزانه ام؛

"جناب آقای دکتر بهنام محمدی قلعه بین"

که با کرامتی چون خورشید سرزمین دل را روشنی بخشیدند و گلشن سرای علم و دانش را با راهنمایی های سازنده خویش بارور ساختند تقدیر و تشکر نمایم.

استادی که نه تنها آموزش و پژوهش بلکه برایم زندگی، اخلاق و انسان بودن را معنا کردند.

همچنین از راهنمایی های بی دریغ استایید بزرگوار جناب آقای دکتر ایرج فیضی، سرکار خانم دکتر زهرا حیدری و جناب آقای دکتر اسلام مرادی اصل تشکر می کنم.

همچنین تشکر از همکاری صمیمانه:

همکاران محترم آزمایشگاه های دانشگاه علوم پزشکی اردبیل

و کلیه عزیزانی که به نحوی در این تحقیق با اینجانب همکاری نموده اند.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

1	چکیده
3	فصل اول: مقدمه
4	1-1. مقدمه و بیان مسئله
6	1-2. اهداف و فرضیات طرح
6	1-2-1. هدف کلی طرح
6	1-2-2. اهداف اختصاصی طرح
7	1-2-3. اهداف کاربردی طرح
7	1-2-4. فرضیات
8	1-3. تعریف واژه‌ها
10	فصل دوم: بررسی متون
11	2-1. تاریخچه
12	2-2. اکینوکوکوس گرانولوزوس
12	2-2-1. مشخصات کرم بالغ
13	2-2-2. مشخصات تخم
14	2-2-3. مقاومت تخم ها
15	2-2-4. ساختمان کیست هیداتیک
18	2-3. چرخه زندگی اکینوکوکوس گرانولوزوس
23	2-4. تنوع درون گونه ها
27	2-5. انتشار جغرافیایی
28	2-6. انتشار هیداتیدوز در جهان

30.....	2-7. انتشار هیداتیدوز در ایران
31.....	2-8. اپیدمیولوژی
33.....	2-9. علایم بالینی
34.....	2-10. تشخیص
35.....	2-11. درمان
35.....	2-11-1. درمان داروئی
36.....	2-11-2. درمان جراحی
36.....	2-11-3. درمان از طریق آسپیراسیون مایع کیست هیداتید از راه پوست (PAIR)
37.....	2-12. پیشگیری
37.....	2-13. ژنوتایپینگ
38.....	2-14. مروری بر مطالعات گذشته
38.....	2-14-1. مطالعات داخلی
39.....	2-14-2 مطالعات خارجی
41	فصل سوم: مواد و روش کار
42.....	3-1. مکان و زمان انجام مطالعه
42.....	3-2. نوع پژوهش
43.....	3-3. ملاحظات اخلاقی
43.....	3-4. روش گردآوری اطلاعات
46.....	3-5. محاسبات آماری
46.....	3-6. مواد، وسایل و دستگاههای مورد استفاده
46.....	3-7. روش تهیه مواد استفاده شده در تحقیق
46.....	3-7-1. طرز تهیه بافر TBE 10X جهت الکتروفورز محصول (Stock) PCR
47.....	3-7-2. طرز تهیه بافر TBE 1X جهت الکتروفورز محصول PCR

47	3-7-3 طرز تهیه ژل آگارز
47	3-8 جامعه‌ی تحت مطالعه
47	3-9 حجم نمونه و نحوه‌ی تعیین آن
47	3-10 جمع آوری نمونه
47	3-11 GIS روش
48	3-12 آماده سازی نمونه
50	13-3 استخراج DNA
51	3-14 واکنش PCR Setup جهت ژن‌های مورد مطالعه
52	3-14-1 واکنش PCR برای ژن COX1
53	3-14-2 واکنش PCR برای ژن nad1
54	3-15 بررسی محصول PCR
54	3-16 تعیین توالی
54	3-17 تعیین ژنتوتایپ هر جدایه به مبنای الگوی موتاسیون‌های دو ژن nad1 و cox1
56	فصل چهارم: نتایج
57	4-1 نتایج حاصل از جمع آوری نمونه‌های انسانی
77	4-2 نتایج GIS
63	4-3 نتایج استخراج DNA
69	فصل پنجم: بحث و نتیجه‌گیری
70	5-1 بحث
76	5-2 نتیجه‌گیری
77	5-3 پیشنهادات
78	منابع

فهرست اشکال و جداول

صفحه

عنوان

شكل 1-2. تصویر کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس 12

شكل 2-2. تخم کرم اکینوکوکوس گرانولوزوس 13

شكل 3-2. ساختمان شماتیک کیست هیداتیک 18

شكل 4-2. چرخه زندگی اکینوکوکوزوس گرانولوزوس 22

شكل 5-2. انتشار جغرافیایی اکینوکوکوزوس گرانولوزوس در جهان 29

جدول 1-3. مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در استخراج DNA 43

جدول 2-3. مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در انجام PCR 43

جدول 3-3. مواد آزمایشگاهی مورد استفاده در انجام الکتروفورز 44

جدول 4-3. تجهیزات آزمایشگاهی مورد استفاده در استخراج DNA 45

جدول شماره 5-3. تجهیزات آزمایشگاهی مورد استفاده در استخراج PCR 45

جدول شماره 6-3 تجهیزات آزمایشگاهی مورد استفاده در شناسایی محصول PCR (الکتروفورز روی ژل آگارز

46

جدول شماره 7-3. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه جهت تکثیر نواحی ژنی مورد هدف در 52 PCR

جدول شماره 8-3. مقدار مواد لازم جهت انجام PCR اختصاصی ژن cox1 برای یک نمونه 53

جدول شماره 9-3. برنامه دمایی دستگاه ترمو سایکلر برای cox1-PCR 53

جدول شماره 10-3. مقدار مواد لازم جهت انجام PCR اختصاصی ژن nad1 برای یک نمونه 54

جدول شماره 11-3. برنامه دمایی دستگاه ترمو سایکلر برای nad1-PCR 54

نمودار 1-4. محدوده سنی بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 57

نمودار 2-4 جنسیت بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 58

نمودار 3-4. محل سکونت بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه از نظر شهری و روستایی 59

نمودار 4-4. محل کیست در بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 60

نمودار 5-4 شهر محل سکونت بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 61

نمودار 6-4. شغل بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 62

نمودار 7-4 میزان تحصیلات بیماران مبتلا به هیداتیدوز حاضر در مطالعه 63

شکل 1-4 نقشه پراکندگی مناطق آلوده با کیست هیداتیک 64

شکل 2-4 مناطق پرخطر از نظر بیماری هیداتیدوز 65

شکل 3-4 میزان بروز کیست هیداتیک در صد هزار نفر 66

شکل 4-4. الکتروفورز محصولات PCR حاصل از تکثیر زن cox1 قطعه 450bp و زن nad1 قطعه 400bp 68

فهرست اختصارات

GI : Geographic Information System

WHO : World Health Organization

PCR : Polymerase chain reaction

NCBI : National Center for Biotechnology Informati

چکیده

زمینه: اکینوکوکوزیس کیستیک در ایران به ویژه در استان اردبیل یک بیماری بومی است که باعث مشکلات بهداشتی و اقتصادی می‌شود. الگوی ژنتیکی اکینوکوکوس گرانولوزوس در اکثر نقاط ایران به جز در این منطقه مشخص شده است.

هدف: مطالعه‌ی حاضر به منظور بررسی تنوع مولکولی ایزوله‌های اکینوکوکوس گرانولوزوس جمع آوری شده از انسان و با استفاده از دو ژن *cox1* و *nad1* میتوکندری در ایران انجام شد. همچنین با روش GIS مناطق پرخطر از نظر بیماری هیداتیدوز تعیین گردید.

مواد و روش کار: اطلاعات 228 نمونه بیمار بین سال‌های 1393 تا پایان 1398 جمع آوری شد. تمام نمونه‌ها با روش پاتولوژی تایید شده بودند. نمونه‌های پاتولوژی 116 بیمار در دسترس بوده و وارد مطالعه مولکولی شدند. استخراج DNA از کل نمونه‌ها انجام شد. سپس با تکنیک مولکولی PCR برای تکثیر قطعات 450 و 400 جفت باز (bp) به ترتیب برای ژن‌های *cox1* و *nad1* انجام شد.

نتایج: میزان آلودگی در زنان خانه دار و شهرنشین بیشتر بود. شایع ترین عضو درگیر کبد و پس از آن ریه‌ها بود. افراد 20 تا 29 ساله و جمعیت با تحصیلات ابتدایی بیشترین بروز عفونت را داشتند. بر اساس نتایج GIS، اردبیل و پارس آباد به عنوان مناطق پرخطر در نظر گرفته شدند. میزان بروز در شهرستان بیله سوار بیشتر بود. از 228 نمونه 116 نمونه در دسترس