

## بررسی لارو توکسوکارا در احشاء کبک های شکار شده

مریم ابراهیمی<sup>۱</sup>، دکتر سهیلا روحانی<sup>۱\*</sup>، دکتر هوشنگ خزان<sup>۱</sup>، دکتر ایرج موبدی<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی  
<sup>۲</sup> گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران

### چکیده

**سابقه و هدف:** لارو مهاجر احشایی، عامل یک بیماری حاد یا تحت حاد انگلی است که بر اثر مهاجرت و استقرار لاروهای مرحله دوم برخی از نماتودهای حیوانی خصوصا توکسوکارا کانیس و توکسوکارا کاتی در بافت های بدن انسان ایجاد می شود. علاوه بر خوردن اتفاقی تخم، یکی دیگر از راه های انتقال توکسوکاریازیس، خوردن دل و جگر خام حیوانات مختلف مانند جوجه، گاو و..... است. با توجه به خلاء اطلاعاتی در مورد لارو توکسوکارا در اندام های کبک شکار شده، این تحقیق در منطقه طالقان انجام گرفت.

**روش بررسی:** این مطالعه به روش توصیفی روی احشاء ۱۰۶ کبک انجام گرفت. کبد، ریه، طحال و قلب آنها جداسازی شد. هر یک از ارگان ها به تکه های ریز خرد شد. سپس در محلول هضم کننده پپسین ۱٪ و اسید کلریدریک ۱٪ قرار گرفته و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور شیکردار ۴۶ درجه سانتی گراد قرار گرفت. نمونه ها از صافی با سایزهای مختلف عبور داده شد و بعد از سانتریفیوژ، لاروها در رسوب ها تشخیص داده شد. لاروها روی کاغذ ترسیم اندازه گیری شد. از لاروها با استفاده از میکروسکوپ مجهز به کمرا لوسیدا و هم چنین با دوربین دینوکیچر عکس گرفته شد. تشخیص از روی ویژگی های مورفولوژیک و با استفاده از کلیدهای تشخیصی انجام شد.

**یافته ها:** در این تحقیق، در احشاء ۱۸ کبک (۱۷٪) لاروهای مشابهی مشاهده شد که اندازه اغلب آنها بین ۱۶۰-۱۲۰ میکرون و در انتها واجد یک برجستگی دکمه مانند بود. در ۷۷ درصد کبک های آلوده، این لاروها تواما در کبد و ریه مشاهده شد. علاوه بر لاروهای ذکر شده، در احشاء یک کبک، تعدادی لارو که اندازه آنها حدودا ۴۰۰-۳۰۰ میکرون بود، مشاهده شد و با توجه به اندازه لارو L2 توکسوکارا که ۴۵۰-۳۵۰ میکرون است و تیز بودن انتهای این لارو، شباهتی بین لاروهای مشاهده شده در این تحقیق و لارو توکسوکارا در اندام های مورد مطالعه مشاهده نشد.

**نتیجه گیری:** به نظر می رسد که لارو توکسوکارا در کبک های شکار شده منطقه وجود نداشته باشد، لذا انجام مطالعه در سایر نقاط توصیه می گردد.

**واژگان کلیدی:** توکسوکاریازیس، کبک، هضم بافتی، میزبان انتقالی، پرندگان.

### مقدمه

توکسوکارا ایجاد می شود. تخمها در روده کوچک باز شده و لارو آزاد می شود و به مخاط روده نفوذ کرده و از راه جریان خون پورت به کبد مهاجرت می کند و از راه کانال های عروقی به ریه ها و سپس به جریان خون سیستمیک وارد می گردد، که به آن لارو مهاجر احشایی (Visceral Larva Migrans) می گویند. عوارض متعدد بالینی این بیماری در اعضای داخلی بدن علاوه بر کبد و چشم در ریه، کلیه، لوزالمعده و ارگان های دیگر دیده می شود که ناشی از مهاجرت لارو و یا به دلیل واکنش بدن به بقایای مرده یا

توکسوکاریازیس نوعی بیماری زئونوزی است که توسط لارو توکسوکارا کانیس و توکسوکارا کاتی ایجاد می گردد. عفونت انسانی معمولا به دنبال خوردن اتفاقی تخم های جنین دار

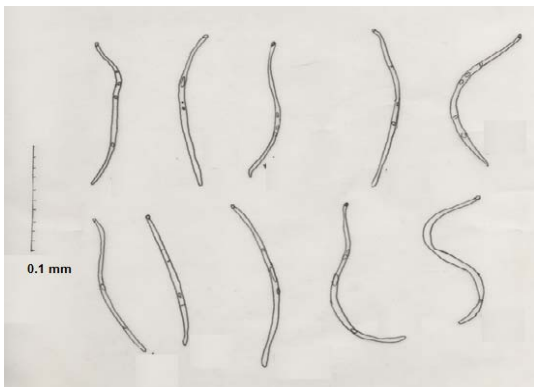
آدرس نویسنده مسئول: تهران، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی، دانشکده پزشکی، گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دکتر سهیلا روحانی (e-mail: srouhani11@yahoo.com)  
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۱/۵/۱۱  
تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۱/۷/۳۰

هر یک از ارگان‌ها به صورت جداگانه، به تکه‌های ریز خرد شد و به کمک هاون کمی سائیده شد و سپس به آنها محلول حاوی پپسین ۱٪ و اسید کلریدریک ۱٪ اضافه و خوب مخلوط شد و به مدت ۴ ساعت در انکوباتور ۴۶ درجه سانتی‌گراد شیکردار قرار گرفت. سپس نمونه‌ها به ترتیب از صافی با مش ۷۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ عبور داده شدند و رسوب‌های قرار گرفته روی هر صافی، هر یک جداگانه به کمک سرم فیزیولوژی شسته شدند. رسوب‌های ته نشین شده به مدت ۲ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ شدند (۵).

از هر نمونه حداقل ۱۰ لام تهیه و با میکروسکوپ نوری مشاهده شد. بعد از مشاهده لارو، رسوب حاوی لارو در محلول‌های فیکساتیو مانند فرمالین ۱۰٪ و الکل گلیسرین قرار گرفت. تشخیص قطعی از روی ویژگی‌های مرفولوژیک و با استفاده از کلیدهای تشخیصی انجام شد. از میکروسکوپ‌های مجهز به دوربین دینو کپچر (Dino capture) و میکروسکوپ مجهز به لوله ترسیم (Camera lucida) جهت مشاهده و شناسایی ویژگی‌های لارو استفاده شد.

## یافته‌ها

از ۱۰۶ کبک مورد مطالعه، در احشاء ۱۸ کبک (۱۷٪) لاروهایی مشاهده شد (شکل ۱). در ۷۷ درصد کبک‌های آلوده، این لاروها تواما در کبد و ریه دیده شدند. در تعدادی از کبک‌ها، آلودگی در هر ۴ عضو مورد مطالعه (کبد، ریه، طحال، قلب) مشاهده شد. از هر عضو آلوده، حداقل ۴-۶ عدد لارو با کمرا لوسیدا ترسیم شد. این لاروها از نظر اندازه با یکدیگر مقایسه شدند. اندازه آنها بین ۱۶۰-۱۲۰ میکرون و در انتها واجد یک برجستگی دکمه مانند بود.



شکل ۱- لاروهای جدا شده از کبک‌های آلوده

علاوه بر لاروهای ذکر شده، تنها در ریه یک کبک تعدادی لارو که دارای انتهای گرد بوده و اندازه آن حدوداً ۳۰۰-۴۰۰ میکرون بود نیز مشاهده شد (شکل ۲). با توجه به این که انتهای لارو L2 توکسوکارا تیز است و اندازه آن حدوداً ۴۵۰-۳۵۰ میکرون است، شباهتی بین

متلاشی شده انگل است که در بعضی موارد منجر به صدمات جبران ناپذیری مثل کوری چشم، ضایعات قلبی و دستگاه عصبی مرکزی می‌گردد که می‌تواند باعث مرگ گردد (۱، ۲).

یکی از راه‌های مهم انتقال آلودگی توکسوکاریازیس به انسان که اخیراً مطرح شده است، خوردن دل و جگر خام حیوانات مختلف مانند پرندگان و گاو، به عنوان میزبان انتقالی، است. Hoffmeister و همکاران در سال ۲۰۰۷ در آلمان، توکسوکاریازیس مغزی را در خانمی به دنبال مصرف کبک خام اردک گزارش نمودند (۳). Ishibashi و همکاران در سال ۱۹۹۲ دو مورد آلودگی انسانی به توکسوکارا را در ژاپن گزارش کردند. هر دو بیمار کشاورز و هر دوی آنها عادت به خوردن گوشت و جگر خام پرندگان وحشی و جوجه را داشتند (۴).

در سال‌های اخیر بررسی‌های زیادی در مورد آلوده نمودن تجربی پرندگان با تخم توکسوکارا و جداسازی لارو آن‌ها از اندام‌های مختلف انجام شده است (۵، ۶). Taira و همکاران در سال ۲۰۰۳، تعدادی جوجه را با تخم توکسوکارا آلوده نمودند. در اتوپسی تمام اندام‌ها لارو دیده شد، ولی بیشترین تعداد لارو در کبد و ریه (بیش از ۸۷٪) مشاهده گردید (۷).

با توجه به این نکته که کشور ما تقریباً دوسوم پرندگان خاورمیانه را در خود جای داده است و همچنین با توجه به این موضوع که کبک پرنده بومی ایران و مهمترین پرنده صید شده کشور ماست و بسیاری از شکارچیان و خانواده آنها و هم چنین افراد بومی مناطق کوهستانی محل زیست این پرندگان از گوشت و احشای (کبد، قلب و ...) آنها تغذیه می‌کنند می‌توانند در معرض آلودگی لارو عفونت‌زای توکسوکارا (L2) در ارگان‌های داخلی کبک‌های شکار شده مناطق کوهستانی طالقان، انجام شده است. لازم به ذکر است که تاکنون این بررسی در مورد پرندگان وحشی مانند کبک، تیهو و قرقاول که امکان آلودگی آن در طبیعت وجود دارد انجام نشده است، لذا این تحقیق انجام گرفت.

## مواد و روشها

در این مطالعه توصیفی با تکنیک مشاهده‌ای، ۱۰۶ کبک شکار شده منطقه طالقان (در ۱۲۰ کیلومتری شمال غربی تهران) بررسی شدند. شکار و جمع‌آوری نمونه از پائیز ۱۳۸۹ تا اواسط زمستان ۱۳۹۰ در منطقه انجام شد. لاشه کبک‌ها، بعد از شکار، به آزمایشگاه انتقال و کبد، ریه، طحال و قلب آنها توسط اسکالپل و قیچی به آرامی جداسازی شد و برای مدتی کوتاهی در سرم فیزیولوژی قرار گرفت.

**بحث**

در بررسی ما، از ۱۰۶ کبک مورد مطالعه، در احشاء ۱۸ کبک لاروهایی مشاهده شد. از هر عضو آلوده به لارو حداقل ۶-۴ عدد لارو با کمراوسیدا ترسیم شد. تمام لاروهای جدا شده از کبک‌های آلوده بعد از ترسیم، از نظر اندازه با یکدیگر مقایسه شدند که اغلب موارد مشابه (به استثناء یک مورد) و در روی کاغذ کالک بر یکدیگر منطبق بودند. اندازه آنها بین ۱۶۰-۱۲۰ میکرون و در انتها واجد یک برجستگی دکمه مانند (خار کوچک سه شاخه) بود و با توجه به این موضوع که اندازه لارو L2 توکسوکارا ۴۵۰-۳۵۰ میکرون است، بنابراین شباهتی از لحاظ اندازه بین لاروهای مشاهده شده و لارو توکسوکارا مشاهده نشد.

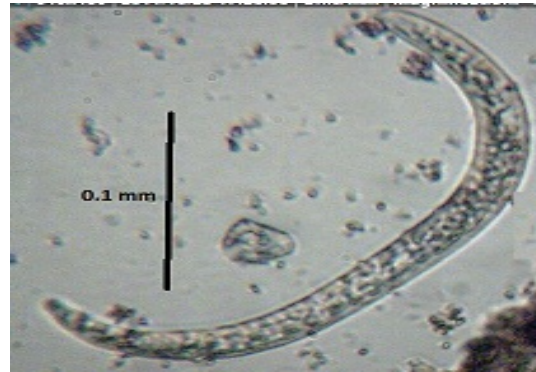
توکسوکاریازیس در انسان معمولا به دنبال خوردن اتفاقی تخم‌های جنین دار (L2) توکسوکاراها ایجاد می‌شود. خاک خواری، بهداشت فردی ناکافی و تماس با سگ و گربه‌های جوان از عوامل خطر شناخته شده در انتقال بیماری است (۸، ۹).

ابتلا به لارو مهاجر احشایی از طریق میزبان پاراتنیک یکی از راه‌های ابتلا افراد بالغ به این بیماری است. (۱۰، ۱۱)

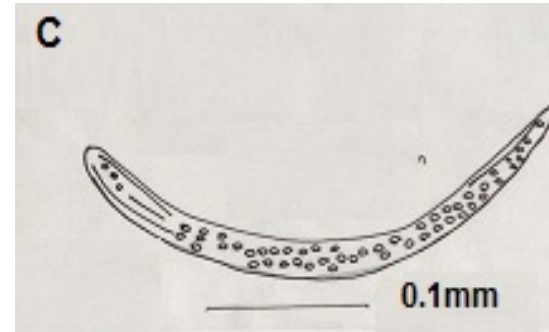
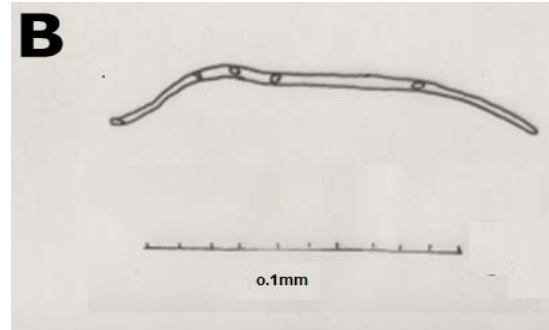
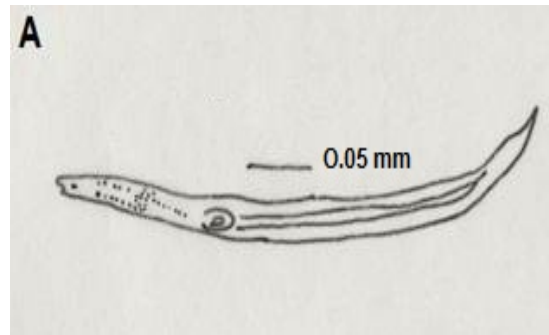
به طور کلی نوع تغذیه و بعضی از سنت‌ها و اعتقادات انسان می‌تواند باعث گسترش بیماری در یک منطقه شود. به عنوان مثال، در منطقه‌ای از چین مردم بر این باورند که خوردن کبد و سایر احشاء کبک در خانم‌های حامله باعث تقویت قوای جسمانی مادر و سلامت جنین می‌شود (۱۲). همچنین در کره، کبد خام گاو جزء غذای مورد علاقه مردم بوده، به طوری که برش‌هایی از جگر خام به همراه گوشت پخته شده و یا کبابی در رستوران‌ها عرضه می‌گردد. همچنین در کره عده‌ای از مردم معتقدند که جگر و گوشت خام برای سلامتی انسان به خصوص برای بینایی چشم مفید است (۱۳). همچنین تحقیقات انجام شده توسط محققین نشان داده در افرادی که کبد خام گاو را مصرف می‌کنند، خطر ابتلا به توکسوکاریازیس افزایش می‌یابد و آنتی‌بادی ضد توکسوکارا در سرم این افراد نسبت به افرادی که کبد خام مصرف نکرده‌اند، سه برابر بیشتر مثبت می‌باشد (۱۳).

Ishibashi و همکاران در سال ۱۹۹۲، دو مورد عفونت انسانی به توکسوکارا را در ژاپن گزارش کردند که هر دو بیمار کشاورز بوده و عادت به خوردن گوشت و جگر خام پرندگان وحشی و جوجه داشتند (۴). هم چنین Hoffmeister و همکاران در سال ۲۰۰۷ در آلمان یک مورد توکسوکاریازیس مغزی را در یک خانم ۵۵ ساله گزارش کردند. در این بررسی، زن و شوهر هر دو اردک کبابی خورده و زن علاوه بر آن، کبد خام اردک را

لاروهای مشاهده شده در این تحقیق و لارو توکسوکارا در اندام‌های مورد مطالعه کبک‌ها مشاهده نشد (شکل ۳).



شکل ۲- لارو ۴۰۰-۳۰۰ میکرونی جدا شده از ریه (دوربین دینوکیپر)



شکل ۳- مقایسه لارو توکسوکارا با لاروهای به دست آمده در این مطالعه. (A) لارو L2 توکسوکارا (۳۵۰-۴۵۰ میکرون)، (B) لارو جدا شده از احشاء (۱۶۰-۱۲۰ میکرون)، (C) لارو جدا شده از ریه یک کبک (۳۰۰-۴۰۰ میکرون)

Pahariri و همکاران در سال ۱۹۹۱ در هند، با آلوده کردن کرم‌های خاکی به لارو توکسو کارا و خوراندن آنها به ۸ عدد بلدرچین، توانستند لارو انگل را از کبد این پرندگان جدا کنند. نتیجه این تحقیق نشان داد که کرم‌های خاکی می‌توانند به عنوان میزبان انتقالی انگل توکسوکارا قرار گیرند. همچنین پرندگان به عنوان بالاترین مصرف کنندگان این کرم‌ها می‌توانند نقش زیادی در آلودگی و در انتقال این انگل به انسان داشته باشند (۱۶).

علاوه بر لاروهای ذکر شده، تعدادی لارو که اندازه آن حدوداً ۴۰۰-۳۰۰ میکرون بود، در ریه یک کبک مشاهده شد که بعد از ترسیم نمونه‌ها توسط کمرا لوسیدا و انطباق آن با تصویر لارو توکسوکارا از لحاظ مورفولوژیکی شباهتی بین این لارو و لارو توکسوکارا مشاهده نشد، به طوری که انتهای این لاروها گرد بود، در حالی که انتهای لارو توکسوکارا تیز است. در ضمن از ویژگی‌های مورفولوژیک لارو توکسوکارا که می‌توان به آن اشاره کرد این است که مری این لارو واجد بولب بوده و در بخشی از طول لارو دو ستون ترش‌حی مشاهده می‌شود و در مقطع عرضی لارو در ناحیه روده، دو ستون ترش‌حی و دو باله جانبی بسیار ظریف وجود دارد (۱۷).

در این بررسی که بر روی کبک‌های ناحیه طالقان انجام شد، ما لارو توکسوکارا را در احشاء مشاهده نکردیم. ولی این بدان معنا نیست که احتمال آلودگی این پرنده و پرندگان مناطق دیگر به لارو توکسوکارا وجود نداشته باشد. چون پرندگان جزء مهم‌ترین میزبانان پاراتنیک این انگل هستند و آلودگی‌های تجربی نیز آن را اثبات نموده است، بنابراین ضروری است که بررسی‌های مشابهی بر روی پرندگانی که بیشتر شکار می‌شوند و هم چنین مطالعات مشابه روی سایر میزبانان پاراتنیک که در تغذیه انسان حائز اهمیت هستند، انجام گیرد. به علاوه، برای شناسایی لاروهای به دست آمده در این تحقیق، بررسی‌های تکمیلی ضروری است.

### تشکر و قدردانی

نگارندگان مقاله از زحمات آقای دکتر ابدی، آقای باقری و خانم میر سپاهی سپاسگزاری می‌نمایند.

نیز مصرف کرده بود که علایم بالینی و آزمایش‌های سرولوژی و MRI، ابتلای وی به توکسوکاریزیس مغزی را تایید نمودند (۳). همچنین Yoshikawa و همکاران در سال ۲۰۰۸ در ژاپن، ابتلا به توکسوکاریزیس را در سه فرد از یک خانواده که همگی آنها به صورت هفتگی و به مدت یک سال کبد خام گاو مصرف می‌کردند، گزارش نمودند. درصد ائوزینوفیلی و میزان IgE در پدر خانواده که هر بار مقدار بیشتری جگر خام می‌خورد بیش از دو بیمار دیگر بود (۱۴).

Morimatsu و همکاران در سال ۲۰۰۶، در یک پدر و پسر ژاپنی به ترتیب ۷۱ و ۴۵ ساله لارو مهاجر احشایی را گزارش نمودند. علاوه بر علایم بالینی، در هر دوی این بیماران ائوزینوفیلی شدید مشاهده شد و رادیوگرافی و سی تی اسکن و تست الایزا با آنتی‌ژن دفعی- ترش‌حی مرحله لاروی، بیماری را در هر دو نفر تایید نمود. در بررسی‌های بیشتر مشخص شد که هر دو آنها در چند هفته اخیر به طور متوالی کبد خام جوجه مصرف کرده بودند. علاوه بر آن با بررسی کبد یکی از جوجه‌هایی که در شرایط مشابه جوجه‌های مصرف شده رشد یافته بود، تعداد ۲۰۲ لارو توکسوکارا جدا شد (۱۵).

از این رو محققین معتقدند که می‌توان این بیماری را به عنوان آلودگی انگلی منتقله به وسیله غذا (Food-borne parasitic infection) مطرح نمود (۱۵).

در سال‌های اخیر بررسی‌های زیادی در مورد آلوده نمودن تجربی پرندگان با تخم توکسوکارا و جداسازی لارو آنها از اندام‌های مختلف انجام شده است، ولی تاکنون این بررسی در پرندگان آلوده شده در طبیعت انجام نشده است و این اولین پژوهش در این زمینه می‌باشد.

در مطالعه‌ای که توسط Gargili و همکاران در سال ۱۹۹۹ در ترکیه انجام شد، ۴۲ جوجه ۱۵ روزه (۳۰ عدد به عنوان مورد و ۱۲ عدد به عنوان کنترل) بررسی شدند. به هر کدام از جوجه‌های گروه مورد، ۵۰۰۰ تخم جنین دار توکسوکارا کنیس خوراندند. تمام جوجه‌ها بین دو تا ۱۲ روز بعد از آلودگی نکروپسی شدند. لاروها در ۱۰۰٪ کبدها و ۸۰٪ ریه‌ها و ۲۰٪ مغزهای جوجه‌های مورد آزمایش مشاهده شدند (۶).

### REFERENCES

1. Athari A, Translator. Neva A, Brown W, Eds. Basic clinical parasitology. 5<sup>th</sup> ed. Tehran: Ayeej Publication; 2000. P.397-403. [In Persian]
2. Saebi E, Ed. Clinical parasitology: Tehran: Ayeej Publication; 2009. P.253, 451. [In Persian]
3. Hoffmeister B, Glaeser S, Flick H, Pornschlegel S, Suttorp N, Bergmann F. Cerebral toxocarosis after consumption of raw duck liver. Am J Trop Med Hyg 2007; 76: 600-602.

4. Ishibashi H, Shimamura R, Hirata Y, Kudo J, Onizuka H. Hepatic granuloma in toxocaral infection: role of ultrasonography in hypereosinophilia. J Clin Ultrasound 1992; 20: 204-10.
5. Sadjjadi SM, Khosravi M, Mehrabani D, Orya A. Seroprevalence of toxocara infection in school children in Shiraz, southern Iran. J Trop Pediatr 2000; 46: 327-30.
6. Gargili A, Tuzer E, Gulamber A, Toparlak M, Efil I, Keles V, et al. Experimental visceral larva migrans in chicken with *Toxocara canis*. Tr J Veterinary and Animal Sciences 1999; 23: 431-33.
7. Taira K, Permin A, Kapel CM. Establishment and migration pattern of *Toxocara canis* larvae in chickens. Parasitol Res 2003; 90: 521-23.
8. Despommier D. Toxocariasis: clinical aspects, epidemiology, medical ecology, and molecular aspects. Clin Microbiol Rev 2003; 16: 265-72.
9. Glickman LT, Schantz PM. Epidemiology and pathogenesis of zoonotic toxocariasis. Epidemiol Rev 1981; 3: 230 - 50.
10. Fan CK, Lan HS, Hung CC, Chung WC, Liao CW, Du WY, et al. Seroepidemiology of *Toxocara canis* infection among mountain aboriginal adults in Taiwan. Am J Trop Med Hyg 2004; 71: 211- 16.
11. Glickman LT, Magnaval JF, Domanski LM, Shofer FS, Lauria SS, Gottstein B, et al. Visceral larva migrans in French adults: a new disease syndrome? Am J Epidemiol 1987; 125: 1019- 34.
12. Fan PC, Chung WC, Soh CT, Kosman ML. Eating habits of East Asian people and transmission of taeniasis. Acta Trop 1992; 50: 305-15.
13. Choi D, Lim JH, Choi DC, Paik SW, Kim SH, Huh S. Toxocariasis and ingestion of raw cow liver in patients with eosinophilia. Korean J Parasitol 2008; 46: 139-43.
14. Yoshikawa M, Nishiofuku M, Moriya K, Oujii Y, Ishizaka S, Kasahara K, et al. A familial case of visceral toxocariasis due to consumption of raw bovine liver. Parasitol\_Int 2008; 57: 525-29.
15. Morimatsu Y, Akao N, Akiyoshi H, Kawazu T, Okabe Y, Aizawa H. A familial case of visceral larva migrans after ingestion of raw chicken livers: appearance of specific antibody in bronchoalveolar lavage fluid of the patients. Am J Trop Med Hyg 2006; 75: 303-306.
16. Pahari TK, Sasmal NK. Experimental infection of Japanese quail with *Toxocara canis* larvae through earthworms. Vet Parasitol 1991; 39: 337-40.
17. Ashton N. Larval granulomatosis of the retina due to *Toxocara*. Br J Ophthalmol 1960; 44: 129-48.