

پژوهش در پزشکی (مجله پژوهشی دانشکده پزشکی)
دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی - درمانی شهید بهشتی
سال ۲۱، شماره ۳، صفحات ۳۹-۴۵ (مهر- آذر ۱۳۷۶)

بررسی شیوع انگل توکسوپلازما در دامهای کشتارگاه زیاران

مقایسه دو روش انگل‌شناختی و سرولوژیکی جهت تشخیص آن

دکتر ساعد شهابی

گروه انگل و قارچ‌شناسی دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

خلاصه

توکسوپلازما سموز از بیماریهای تک یاخته‌ای بسیار شایع، آزاردهنده و خطرناک است که آلودگی به آن در جهان ۱۰ تا ۹۰ درصد و در ایران بین ۱۲/۷ تا ۸۶/۶ درصد گزارش شده است. در این مطالعه، ۳۶۸ نمونه از بین حیوانات کشتار شده در کشتارگاه زیاران، شامل ۱۴۱ راس گوسفند، ۹۸ راس بز و ۱۲۹ راس گاو به‌طور تصادفی انتخاب شدند. نمونه‌های خون این حیوانات برای آزمایش سرم‌شناختی به روش دای‌تست برای تشخیص آلودگی به‌کار رفت و نمونه‌هایی از لاشه‌های انتخابی که شامل عضلات مخطط دیافراگم، قلب، کبد و غدد لنفاوی بود بعد از چرخ کردن توام و هضم در پیسین و تزریق به موش سوری (Mouse) ۴ تا ۶ هفته بعد در مغز موش از مایع صفاقی و کیستهای نسجی در پی تاکی‌زوئیت می‌گشتیم. نتایج بررسی سرم‌شناختی ۱۵۱ نمونه (۴۱ درصد) مثبت که به تفکیک گوسفند ۴۱، بز ۲۸/۵ و گاو ۳۰/۵ درصد بود. در حیوانهایی که نتایج سرم منفی بود، انگل مشاهده نشد ولی در گروه سرم مثبت - ۲۷ گوسفند، ۴ بز و ۲ گاو - انگل جدا شد که به تفکیک به شرح زیر است: از ۱۴۱ راس گوسفند، ۲۷ راس (۱۹/۱ درصد) از نظر انگل‌شناختی انگل جدا شد که نتایج پارازیتولوژیکی با بررسی سرم

موشها مشخص و با آزمایش مغز موشها و یافتن انگل تأیید شد. انگل تنها در حیوانات با سرم مثبت و با عیار $\frac{1}{1}$ به بالا جدا شد؛ از ۹۸ راس بز تنها ۴ مورد (۴ درصد) انگل جدا شد که عیار سرمی $\frac{1}{33}$ تا $\frac{1}{138}$ بود و از ۱۲۹ راس گاو تنها در ۲ مورد (۱/۵ درصد) در عیارهای $\frac{1}{512}$ و $\frac{1}{1024}$ انگل جدا شد.

در این مطالعه، بین روشهای انگل‌شناختی ارتباط مهمی مشاهده نشد ولی از نتایج به دست آمده مشخص شد که روش سرولوژیک برای تشخیص اشکال مزمن بیماری، دقیق‌تر است. همچنین، با نتایج حاصله مشخص شد که گوسفند به عنوان مخزن اصلی آلودگی به توکسوپلاسموز و بعد از آن بز و گاو نقش دارند.

مقدمه

توکسوپلاسموز از بیماریهای شایع و آزاردهنده می‌باشد که توسط تک یاخته درون سلولی به نام توکسوپلاسماکوندیئی ایجاد می‌شود. این بیماری در انسان موجب کوریوریتینیت آدنوپاتی، کم‌خونی، اسپلنومگالی و درشت‌کبدی می‌شود. در زنان آبستن با انتقال انگل از طریق جفت به جنین موجب سقط جنین، تولد نوزاد زودرس همراه با هیدروسفالی، میکروسفالی و درجات متفاوتی از عقب افتادگی ذهنی می‌شود (۴ و ۷). تمامی افراد سرم منفی، مبتلایان به بیماریهای ناتوان‌کننده سیستم ایمنی، دریافت‌کنندگان پیوند و مبتلایان به ایدز، افراد حساس و در معرض خطر هستند (۲).

میزبان اصلی انگل، گربه‌ها هستند و طیف وسیعی از پرندگان و پستانداران نقش میزبان واسط را به عهده دارند. آلودگی انسان از طریق بلع اوسیست دفع شده توسط گربه همراه با مواد غذایی و یا خوردن گوشت و فرآورده‌های گوشتی خام، یخ‌زده و یا نیم‌پخته شده، جگر آلوده به کیست نسجی صورت می‌گیرد. اپیدمی در اثر خوردن همبرگر آلوده وجود دارد (۲).

در این مطالعه از سه‌گونه گوسفند، بز و گاو ذبح شده در کشتارگاه زیاران که یکی از کشتارگاههای تامین

کننده بخش مهمی از گوشت مصرفی تهران است، به تهیه نمونه اقدام شد تا با تعیین میزان آلودگی جهت شناسایی منابع مهم آلوده‌کننده انسان به توکسوپلاسمای گامی برداشته، با برنامه‌ریزی توسط مسئولان بهداشتی در جلوگیری از پیشرفت بیماری و قطع زنجیره انتقال، و نیز کاهش هزینه‌های تشخیصی و درمانی اقدامات موثری صورت گیرد.

روش کار

در این تحقیق نمونه‌های سرمی و ماهیچه‌ای اسکلتی، قلب، دیافراگم، کبد و غدد لنفاوی از سه‌گونه گوسفند، بز و گاو کشتار شده در کشتارگاه زیاران که به‌طور تصادفی - با توجه به تعداد کشتار روزانه - انتخاب شده بودند، مورد آزمایش قرار گرفتند. نمونه‌های سرمی با روش Dye test از نظر وجود پادتن علیه توکسوپلاسمای آزمایش شد و نمونه‌های انتخاب شده از هر لاشه توسط چرخ گوشت به‌طور توأم چرخ شدند و به روش اسیدپسین هضم و سوسپانسیون حاصل چندین نوبت از لایه‌های گاز استریل عبور داده، تا صاف و سپس ساتریفوژ شدند. رسوب حاصل از ساتریفوژ را با سرم فیزیولوژی به حجم ۵ تا ۱۰ سانتیمتر مکعب افزایش داده به پنج سر موش تزریق شد. برای مقابله با عفونت

میکروبی به سوسپانسیون پادزیست اضافه شد. تزریق، درون صفاقی بوده، به هر موش ۱ تا ۲ سانتیمتر مکعب سوسپانسیون تزریق شد. موشها علامتگذاری شدند و به همراه ۵ سر موش تزریق نشده، به عنوان شاهد، به مدت ۴ تا ۶ هفته در قفس نگهداری شدند. پس از آن از قلب موشها خونگیری به عمل آمده، آزمایش سرمی انجام شد و در صورت مثبت بودن، مغز آنان با میکروسکوپ مورد مطالعه قرار می‌گرفت. و در صورت عدم مشاهده کیست بافتی مغزهای مشکوک در سرم فیزیولوژی سوسپانسیون شده و به چند سر موش دیگر تزریق شد. این عمل چندین بار تکرار می‌شد تا انگل با تکثیر و ازدیاد قابل مشاهده و شناسایی شود (۳).

جامعه مورد بررسی، تعداد و روش نمونه‌گیری

جامعه مورد بررسی در این مطالعه، کشتارگاه زیاران و حیوانات مورد کشتار سه گونه گاو، گوسفند و بز بودند. این کشتارگاه در فاصله ۹۰ کیلومتری غرب تهران در مسیر کرج به قزوین واقع شده است و با کشتار بسیار بالا به طریق مکانیزه - نسبت به سایر کشتارگاهها - در تامین گوشت مصرفی تهران بیشترین نقش را به عهده دارد. اکثر دامهای کشتار شده در این کشتارگاه از مناطق مختلف کشور به این کشتارگاه حمل می‌شوند و با روشهای مختلف سستی و پیشرفته پروار شده‌اند. در ضمن، در این کشتارگاه محلهای وسیعی برای نگهداری و پرواربندی وجود دارد. علت انتخاب این کشتارگاه به عنوان محل جامعه مورد بررسی آن بود که میزان کشتار در آن بالا و گونه‌های متفاوت دام در آن ذبح می‌شوند؛ و به دلیل مکانیزه بودن سیستم کشتار امکان نمونه‌برداری دقیق و مطمئن وجود دارد. طبق محاسبات آماری میزان نمونه مورد نیاز بر اساس نمونه‌ها از روی شیوع آلودگی سرمی آنها در گزارشهای مختلف حداقل ۱۵۰ نمونه برای سه گونه محاسبه شده است. در روزهای برداشت نمونه راس

ساعت ۷ صبح در محل کشتارگاه حاضر می‌شدیم. نمونه‌برداری موظف بود که با روپوش سفید، پیش‌بند پلاستیکی، چکمه و دستکش وارد کشتارگاه شود. ابتدا تعداد نمونه آماده کشتار برای هر گونه پرسیده شده، سپس بر عدد ۵ تقسیم می‌شد و شماره‌ای از یک تا یک پنجم کل کشتار در همان روز، به طور تصادفی انتخاب می‌شد. لذا شماره‌های بعدی به ترتیب با فاصله مشخصی تعیین می‌شدند. نمونه‌برداری تصادفی موجب می‌شد که نمونه‌برداری در انتخاب نمونه نقشی نداشته باشد. سپس بعد از سربری حیوان انتخاب شده در لوله استریل درب دار خونگیری به عمل می‌آمد و توسط طناب پلاستیکی، پلاکی شماره‌دار به بازوی حیوان بسته می‌شد تا هنگام نمونه‌برداری تحت تعقیب باشد؛ و در مراحل بعدی از غدد لنفاوی، عضلات اسکلتی، دیافراگم، کبد و قلب حیوان، از هر کدام به مقدار تقریبی ۴۰ گرم برداشت می‌شد. نمونه‌ها در پلاستیک فریزری و در ظروف مخصوص به آزمایشگاه حمل و سعی می‌شد که همان روز مورد آزمایش قرار گیرد.

نتایج

از مجموع ۳۶۸ راس حیوان ذبح شده که مورد بررسی سرولوژیکی و انگل‌شناختی قرار گرفتند ۱۴۱ راس گوسفند، ۹۸ راس بز و ۱۲۹ راس گاو را شامل می‌شد. سرم حیوانات به روش دای تست مورد آزمایش قرار می‌گرفت. سرم‌ها با رقت‌های $\frac{1}{8}$ الی $\frac{1}{2048}$ آزمایش می‌شدند و عیار $\frac{1}{8}$ به عنوان تیتراژ مثبت محسوب می‌شد.

در این بررسی نتایج سرم‌شناختی به قرار زیر بود:

از تعداد ۱۴۱ راس گوسفند، ۶۲ راس (۴۳/۹ درصد) از نظر سرولوژیک مثبت (جدول ۱) و حداکثر عیار $\frac{1}{512}$ بود (جدول ۲). از تعداد ۸۹ راس بز تعداد ۴۳ راس (۴۳/۸ درصد) مثبت (جدول ۱) و با حداکثر عیار $\frac{1}{256}$ بود (جدول ۳). و از ۱۲۹ راس

پس از ۴۸ ساعت موشها سر حال به نظر می‌رسیدند ولی موشهای آلوده به RH علائم تب، بی‌حالی، ژولیدگی موها و کز کردن شدیدتر بروز می‌کرد. با وجود این، پس از ۴۸ ساعت بدون شرح علائم خیلی حاد موشها می‌مردند؛ به طوری که تمام ۱۰ سر موش تزریق شده با این سوش طی سه روز از بین رفتند ولی موشهای تزریق شده با تعداد مشابه تاکی‌زوئیت RH حداکثر تا ۷ روز زنده ماندند و به تدریج طی بروز پیشرفت علائم ظاهری می‌مردند. تزریق تاکی‌زوئیت انگل به موش موجب تشکیل کیست در مغز نمی‌شود. بنابراین، جهت نگهداری تعدادی از تاکی‌زوئیت‌ها به صورت درون صفاقی بارها تزریق شد و پس از ۴۰ روز مغز آنان مورد بررسی قرار گرفت. در این وضعیت، کیستهای با جدار ضعیف، تا حدودی کروی و در اندازه‌های متفاوت مشاهده شدند.

بحث

نتایج این مطالعه نشان داده که میزان آلودگی به روش سرم‌شناختی در گوسفند و بز به ترتیب: ۴۳/۹ و ۴۳/۸ درصد و در گاو ۳۵/۶ درصد است که تقریباً "درصد شیوع در سه گونه تقریباً" با همدیگر برابر است. گمان می‌شد به دلیل تنوع رژیم غذایی و مصرف هر نوع علوفه و چرا در کنار جاده‌ها شیوع آلودگی در بز بیشتر از سایر گونه‌ها باشد ولی نتایج به دست آمده این مورد را تأیید نکرد. تمام نمونه‌های آزمایش شده به روش سرولوژیکی از نظر آلودگی انگلی بررسی شدند. میزان آلودگی انگلی در گوسفندان به مراتب بیشتر از دو گونه دیگر بود، که این می‌تواند به دلایل گوناگون باشد. اول آنکه احتمال دارد میزان تولید کیست در بافتهای نمونه‌برداری شده در گوسفندان بیشتر باشد و در گاو و بز انگل در نقاط بدن کیست تولید کند؛ دوم آنکه انگل در بدن گاو و بز بخوبی زنده نمی‌ماند و جداسازی انگل از این دو گونه بسیار دشوارتر است. شواهد نشان می‌دهد که این مورد به واقعیت نزدیکتر است؛ به ویژه در گاو

گاو مورد آزمایش ۴۶ گاو (۳۵/۶ درصد) مثبت (جدول ۱) و با حداکثر عیار $\frac{1}{1048}$ بود (جدول ۳). از ۱۴۱ راس گوسفند، ۲۷ راس (۱۹/۱ درصد) از نظر پارازیتولوژیک انگل جدا شد که نتایج انگل‌شناختی با بررسی سرم موشها مشخص و با بررسی مغز موشها و یافتن انگل تأیید می‌شد. انگل تنها از حیوانات با سرم مثبت و با تیت سرمی $\frac{1}{8}$ به بالا جدا شده است (جدول ۳). از ۹۸ راس بز تنها در ۴ مورد (۴/۱ درصد) انگل جدا شد، و از حیوانات با سرم منفی انگل جدا نشده است. انگل در چهار بز از عیار $\frac{1}{32}$ تا $\frac{1}{128}$ بود (جدول ۳).

یکی از سوش‌های جدا شده از گاو ویژگیهای جالبی داشت: این سوش از گاو با عیار سرمی $\frac{1}{1048}$ جدا شد. در ابتدا نمونه به ۵ سر موش سوری تزریق شد که سه سر از آنان طی چهار روز پس از تزریق مردند و لاشه‌شان عفونی شد و انگل در بدن آنان قابل شناسایی نبود. دو سر از موش‌ها باقی ماندند ولی علایمی از بیماری نشان ندادند. آزمایش سرمی دو سر موش پس از یک ماه مثبت شد. بنابراین، مغز آنان بررسی شد و تعدادی کیست مشاهده شد که جدار آنها بسیار نازک بود و کیستها کروی نبودند. برادی‌زوئیت - که در آنان درشت و کاملاً واضح بود - روشن‌تر از برادی‌زوئیت سایر کیستها به نظر می‌رسید. تزریق مغز این حیوانات به موش سوری موجب رشد و تکثیر تاکی‌زوئیت‌ها در صفاق شده، به مرگ موش منجر می‌شد.

در مقایسه با تاکی‌زوئیت با سوش RH بزرگتر و بسیار فعال بودند؛ به طوری که حرکات چرخشی، لغزشی و غلتیدن آنها به روشنی قابل رویت بود. پاساژ تاکی‌زوئیت‌ها به موشهای سالم طی سه روز مرگ آنان را موجب می‌شد. جهت مقایسه این سوش با RH سوش تعداد مشخص و شمارش شده‌ای از تاکی‌زوئیت هر دو موش به موشهای سوری تزریق می‌شد. در مقایسه این سوش کمتر در موش علایم ایجاد می‌کند؛ به طوری که

و امکان دارد برای مصرف کنندگان آلوده کننده باشد. اگرچه تشکیل کیست در بدن میزبان و بیماریزایی انگل از ویژگیهای سوش انگل است ولی به نظر می‌رسد که در گوسفندان انگل راحت‌تر و به تعداد بیشتری تمایل به کیست شدن دارد.

بررسی نشان می‌دهد که در هر حیوان پس از آلودگی، عیار بخصوصی از پادتن سرمی ایجاد می‌شود. با این وجود در گوسفندان، فاصله $\frac{1}{16}$ و $\frac{1}{512}$ با روش Dye test حاکی از آلودگی مزمن آنهاست.

میزان آلودگی حاصل از این مطالعه در گوسفندان با هر دو روش سرولوژیکی و پارازیتولوژیکی بیش از آلودگی مناطق شمال می‌باشد که این امر در مطالعه شگرف کار که در سال ۱۳۵۶ روی گوسفندان بومی استانهای گیلان و مازندران انجام داد، به اثبات رسیده است (۱). طبق مطالعه دکتر قربانی در سال ۱۳۶۲ میزان آلودگی به انگل در غرب کشور - در مقایسه با این مطالعه - کمتر است (۶). نتایج این بررسی نشان می‌دهد که آلودگی در گاوان - در مقایسه با تحقیق مشابه در شمال ایران - بیشتر می‌باشد (۵)، ولی در مقایسه با میزان آلودگی در غرب و جنوب کشور تفاوت چندانی ندارد (۶). مقایسه نتایج به دست آمده از بررسی بزها در این تحقیق با تحقیقات شمال و غرب کشور (۵ و ۶) نشان می‌دهد که میزان آلودگی در این تحقیق بیشتر از شمال و غرب کشور بوده است. در ضمن، در این مطالعه از بز چهار مورد انگل جدا شده است که در تحقیقات مشابه جدا نشده بود.

تشکر

بدین وسیله از زحمات آقای محمود شریفیان در چه، کارشناس ارشد انگل‌شناسی و همکاران محترم در کشتارگاه زیاران و سازمان گوشت کشور، به خصوص آقای علی مطیع‌پور سپاسگزاری می‌شود.

که جداسازی بندرت امکان‌پذیر است (از ۱۲۹ مورد تنها دو مورد انگل جدا شد). انگل در نقاطی از بدن پنهان می‌شود که بخوبی جدا نمی‌شود. از اینکه گوسفندان انگل زنده را به خوبی در بدن نگهداری می‌کنند و در جداسازی، انگل به راحتی جدا می‌شود می‌توان گفت شاید در انتقال توکسوپلازما به انسان، گوسفندان نسبت به دو گونه دیگر نقش مهمتری داشته، در انتقال انگل به انسان از اهمیت بیشتری برخوردار باشند. در مرحله بعدی بز قرار دارد و گاو در این انتقال نقش کمتری دارد.

تطبیق نتایج سرولوژیکی و پارازیتولوژیکی مشخص می‌کند که تنها از حیوانات با سرم مثبت انگل جدا شده است و در واقع، نتیجه مثبت آزمایش سرولوژیکی به معنای آلودگی قبلی حیوان است و می‌تواند راهنمای خوبی برای نتایج پارازیتولوژیکی باشد. ولی، از روی نتایج سرولوژیکی نمی‌توان دقیقاً نتایج انگل‌شناختی را حدس زد. در گوسفندان در رفتهای سرمی متناوب انگل جدا شد (عیار $\frac{1}{8}$ تا $\frac{1}{512}$) ولی رابطه‌ای اختصاصی بین نتایج سرولوژیکی و انگل‌شناختی به چشم نمی‌خورد؛ بدین معنا که در عیار معین جداسازی بیشتر از بقیه باشد.

در بزها میزان جداسازی انگل از موارد سرولوژیکی مثبت کمتر است و جداسازی در حیوانات با عیار سرمی بالا صورت می‌گیرد و در حیوانات با عیار کمتر احتمال جداسازی کمتر است که نشانگر آن است که در آلودگی بزها با انگل عیار پادتن، در مقایسه با گوسفند بیشتر بالا می‌رود. در گاو عیار سرمی بیش از دو گونه دیگر بالا می‌رود و انگل تنها در عیارهای بسیار بالا جدا می‌شود. علت این تفاوتها هنوز مشخص نیست. احتمال دارد علت اینکه انگل از گاو کمتر جدا می‌شود به دلیل برداشت نمونه کم برای آزمایش در مقایسه با جثه حیوان باشد و احتمال وجود کیست در آن کمتر خواهد بود. با وجودی که انگل از تمام گاوان و بزهایی که عیار سرمی بالا دارند جدا شده است، ولی می‌توان گفت که عیار بالا در این دو گونه و همچنین گوسفندان نشانه وجود کیست بافتی است

مراجع

- ۱) شکر فکار محمدتقی. بررسی توکسوپلاسموز در گوسفندان بومی استانهای گیلان و مازندران. پایان نامه جهت اخذ فوق لیسانس علوم بهداشتی، دانشکده بهداشت، دانشگاه تهران (۱۳۵۶-۵۷).
- 2) Beaver PC, et al. Clinical parasitology. Lea and Febirger, Philadelphia, 1984.
- 3) Dubey IP. Isolation of toxoplasma gondii from naturally infected beef. Cow J Parasitol 1992; 78: 151-153.
- 4) Frankel JK. Toxoplasmosis. In: Marical Rojas RA, et al. (eds) Pathology of protozoal and helminthic disease. The William's and Wilkin's Co Baltimor 1971.
- 5) Ghorbani M, et al. Isolation of Toxoplasmosis from man and animals in Iran. Pahlavi Medical Journal 1973; 4: 389-97.
- 6) Ghorbani M, et al. Animal Toxoplasmosis in Iran. J Trop Med Hyg 1983; 86: 73-6.
- 7) Koskiniemi M. Toxoplasmosis need evaluation. AIDS 1989; 143: 728-9.

The Survey of *Toxoplasma gondii* among Slaughtered animal in Ziaran's Slaughter house and comparative parasitological and serological methods in its diagnostic

Shahabi S

Shaheed Beheshti University of Medical Sciences & Health Services

SUMMARY

368 blood and Carcass randomly sampled from slaughtered animals for detection Toxoplasmosis. The blood samples were examined for existence Infection by serological method (Dye test) and the tissue samples from different parts of carcass including skeletal muscle, diaphragm, heart, liver and lymphnode, which ground in an electric grinder and digested by pepsin.

Bioassay technique and inoculated to mice, after 4 to 6 weeks, and looking for tachizoite from peritoneal fluid and tissue cysts in the brain.

The results of serological studied indicated Sero - Positive rate 1/8 and up, from 141 sheeps (41%) from 98 goats (28.5%) and from 129 cattles (30.5%). In animals with Sero negative antibody, parasite was not found, but in seropositive group in 27 sheeps, 4 goats and 2 cattle isolation of organism was seen.

In this study there is no important correlation between serological and parasitological results, It seems sheep represent potential reservoir of human toxoplasmosis than goats and cattle.