بررسی سرولوژیکی سارکوسیستوزیس به روش ایمنوفلورسنت غیرمستقیم و مقایسه آن با نتایج مشاهدات کشتارگاهی در گاومیشهای اهواز

دکتر حمیدرضا حدادزاده[1]* دکتر محمد راضی جلالی[2] دکتر پروانه خضرائی نیا[3] محمد طاهری[4] دکتر عبدالرحمن راسخ[5]

دریافت مقاله: ۷ خرداد ماه ۱۳۸۲
پذیرش نهایی: ۲۱ دی ماه ۱۳۸۲

هدف: مقایسه روش ایمنوفلورسنت غیر مستقیم با بررسی کشتارگاهی در مطالعه *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* در گاومیشهای کشتارشده در کشتارگاه اهواز.

حیوانات: تعداد سیصد و نود و هشت رأس گاومیش کشتار شده در کشتارگاه اهواز در این بررسی از نظر آلودگی به *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* در گروههای بالغ و نابالغ و در دو جنس مختلف مورد بررسی سرولوژیکی و کشتارگاهی قرار گرفتند.

روش: خونگیری از گاومیشها قبل از کشتار درکشتارگاه و انجام آزمایش ایمنوفلورسنت غیر مستقیم بر روی سرمهای مربوطه، ارزیابی مری، دیافراگم، عضلات مخطط و عضله قلب دامهای کشتارشده از نظر آلودگی به کیست های ماکروسکوپی و میکروکیست های *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* به روش مشاهده مستقیم و آزمایش Dob smear.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج حاصله پس از تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون مربع کای ازنظر چگونگی ارتباط فاکتورهای مورد مطالعه با یکدیگر به وسیله نرم افزار SPSS واز نظر تعیین بخت آلودگی بافتی در رابطه با تیتر آنتی بادی، آنالیز رگسیون لجستیک توسط نرم افزار MINITAB انجام گرفت.

نتایج: نتایج این بررسی آلودگی دامهای تحت مطالعه به فرم های ماکروسکوپی و میکروسکوپی سارکوسیست را به ترتیب برابر ۱۸/۶ درصد و۵۳/۵ درصد نشان داد که بیشترین میزان آلودگی اعم از ماکروسکوپی یا میکروسکوپی در بافت مری و کمترین آن در بافت قلب مشاهده شد. هیچ گونه اختلاف معنی داری در ارتباط با جنس در میزان آلودگی به فرمهای ماکروسکوپی و میکروسکوپی انگل مشاهده نشد ولی میزان آلودگی دامهای بالغ به طور معنی داری بیش از دامهای نابالغ بود. ۱۰۰ درصد گاومیشهای تحت مطالعه در آزمایش ایمنوفلورسنت غیرمستقیم، آلودگی را حداقل با تیتر ۱:۴۰ نشان دادند. بیشترین فراوانی دامها در گروه دارای تیتر ۱:۶۴۰ (۲۵/۹ درصد) و کمترین آنها در گروه دارای تیتر ۱:۱۰۲۴۰ (۱/۵ درصد) مشاهده شد. بین عیار آنتی بادی در آزمایش IFA و آلودگی بافتها به فرم های ماکروسکوپی و میکروسکوپی انگل ارتباط معنی داری مشاهده شد ($P<0/05$) به نحوی که با افزایش عیار آنتی بادی تا ۱:۶۴۰ میزان آلودگی بافتی افزایش و بالاتر از این عیار میزان آلودگی کاهش نشان داد. نوع رابطه بین سن و جنس با میزان آلودگی به *سارکوسیستیس* در گاومیشها در آزمایش IFA و آزمایشات بافتی کاملاً با یکدیگر همخوانی داشت.

نتیجه گیری: آزمایش ایمنوفلورسنت غیر مستقیم را می توان به خوبی به منظور بررسی وضعیت آلودگی گاومیشهای یک منطقه به *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* مورد استفاده قرار داد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۳)، دوره ۵۹، شماره ۲، ۱۸۸_۱۸۳.

واژه های کلیدی: *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* ، گاومیش، سرولوژی، ایمنوفلورسنس غیر مستقیم، ایران.

۱) گروه آموزشی انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران -ایران.
۲) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز -ایران.
۳) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران -ایران.
۴) آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران -ایران.
۵) گروه آموزشی دانشکده علوم ریاضی و کامپیوتر دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز -ایران.
* نویسنده مسؤول hhadad@ ut.ac.ir

Serological study on Sarcosystosis in slaughtered buffaloes (*Bubalus bubalis*) using IFAT compare with meat inspection finding in Ahvaz abattoir

Haddadzadeh, H.R.,[1] Razi Jalali, M.,[2] Khazraeenia, P.,[3] Taheri, M.,[4] Rasekh, A.[5]

[1]*Department of Parasitology Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran- Iran.* [2]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahid Chamran Ahvaz, Ahvas-Iran.* [3]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.* [4]*Central Research Laboratory, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran-Iran.* [5]*Department of Statistic Faculty of Mathematic and Computer, University of Shahid Chamran Ahvaz, Ahvaz-Iran.*

Objective: Evaluation of IFAT and abattoir methods for identifying and study of buffalo sarcocystosis(*Sarcocystis fusiformis*).

Samples: A total of 398 serum samples were taken from buffaloes before slaughtering for IFAT studing the rate of sarcocystis infections and the results compared with meat inspection and laboratory finding (macro and micro cyst).

Procedure: Before slaughtering, blood samples were taken from jagular vein for serological examination by IFA method. After slaughtering, esophagus, diaphragm, heart and skeletal muscles were examined for macroscopic cyst of sarcocystis .For microscopic cysts, the samples were taken from each one of these tissues for impression smear (Dob smear). The macro cysts were identified as *S.fusiformis*. Bradizoites of this sarcocyst were used as antigen in IFAT and rabbit antibuffalo conjugated serum for this test was prepared in central laboratory of faculty of veterinary medicine, University of Tehran (Dr.Reza Rastegar central laboratory) using standard method.

Results: The results showed that macroscopic and microscopic infection rates of animals is 18.6% and 53.5% respectively. In this study, maximum rate of infection include macroscopic and microscopic finding was in eosophagus and minimum in heart muscle. Any significant differences were observed in infection rates due to sex. The infection rate in adult group was significantly more than young buffaloes. A significant correlation was observed between antibody titer and the rate of macroscopic and microscopic infection ($P<0.05$), increasing the antibody titer till 1:640 had positive correlation and more than this titre viceversa. All of slaughtered animals had atleast 1:40 titre and most of them were in 1:640 titer group (25.9%) and the lowest prevalence was in 1:10240 titer. (1.5%).

Conclusion: According to the results, the IFAT is a suitable test for studing sarcocystosis in buffaloes and is useful for further studies about this economically important parasite in Khoozestan province.

J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran. 59, 2: 183-188, 2004.

Key words: *Sarcocystis fusiformis*, Water buffalo, IFAT, IRAN,

Corresponding author email: hhadad@ ut.ac.ir

در ایران حدود پانصد و بیست هزار راس گاومیش وجود دارد که عمدتاً در استانهای شمال، شمال غرب و خوزستان پراکنده هستند. یکی از انگلهایی که در کشور ما و سایر کشورها در این حیوان از اهمیت اقتصادی قابل ملاحظه ای برخوردار است، *سارکوسیستیس* می باشد. این انگل یکی از انگلهای *کوکسیدیایی*، ایجاد کننده کیست در انسان و حیوانات می باشد. گونه های مختلف این انگل در سیر تکاملی خود دارای دو میزبان (اصلی و واسط) بوده که میزبان اصلی از گروه گوشتخواران و میزبان واسط از علفخواران یا همه چیز خواران می باشد. انگل انتشار جهانی داشته و قادر است گونه های مختلف دامهای اهلی را آلوده سازد. اگرچه آلودگی به این انگل در اکثر موارد بدون علامت بوده و تنها پس از کشتار یا کالبدگشایی تشخیص داده می شود ولی در دامهای آلوده عوارضی همچون کاهش وزن، کمخونی، سقط جنین و در موارد شدید مرگ اتفاق می افتد (۷). به علاوه به علت حذف لاشه های دارای ماکروکیست در کشتارگاه نیز این انگل دارای اهمیت اقتصادی مهمی می باشد.

تا کنون در نقاط مختلف جهان ۴ گونه سارکوسیست در گاومیش به شرح ذیل گزارش شده است (۱۱):

- *سارکوسیستیس لواینی* (S.levinei) که میزبان اصلی آن سگ سانان می باشند.
- *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* (S.fusiformis) که میزبان اصلی آن گربه سانان می باشند.
- *سارکوسیستیس بوفالونسیس* (S.buffalonesis) که میزبان اصلی آن گربه سانان می باشند.
- *سارکوسیستیس دوبئی* (S.dubeyii) که میزبان اصلی آن هنوز شناخته نشده است.

از این سارکوسیست ها انواع فوزیفورمیس و بوفالونسیس به علت ایجاد کیستهای ماکروسکوپی باعث خسارات اقتصادی زیادی به جهت حذف لاشه در بازرسی گوشت می باشند (۷،۸،۱۶).

مواد و روش کار

به منظور انجام این تحقیق در فاصله فروردین تا پایان اسفند سال ۱۳۸۰ با مراجعه به کشتارگاه اهواز از مجموع تعداد ۳۹۸ راس گاومیش از دو گروه سنی بالغ و نا بالغ از دو جنس نر و ماده طی مراحل اولیه کشتار خونگیری به عمل آمد و نمونه ها با استفاده از سانتریفوژ با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شده و سرم آنها جدا شد و تا زمان انجام آزمایشات در فریزر ۲۰ ـ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

در زمان خونگیری مشخصات دام همچون سن(بالغ و نابالغ)، جنس و ... در فرم مخصوصی که به همین منظور تهیه شده بود ثبت می گردید. گاومیشهای کشتار شده براساس فرمول دندانی به دو گروه بالغ و نابالغ تقسیم می شدند (سن ۱۸ ماه سن بلوغ در نظر گرفته شد). پس از طی مراحل پوست کنی نواحی مختلف از جمله مری، قلب، دیافراگم و عضلات اسکلتی خصوصاً عضلات بین دنده ای از نظر وجود کیست های ماکروسکوپیک به دقت مورد بررسی قرار گرفته و در صورت مشاهده کیست در هر یک از اعضای بررسی شده نتیجه آن در فرم مربوط ثبت می شد. کیست های ماکروسکوپی مشاهده شده در این بررسی با توجه به ابعاد و مشخصات مرفولوژیک و همچنین گزارش فرا ریزبینی موجود در مورد کیست های جدا شده از گاومیش های منطقه (۱) از نوع *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* تشخیص داده شد. پس از بررسی ماکروسکوپیک از هر یک از بافتهای مورد مطالعه یک قطعه کوچک برداشت می شد و سریعاً به آزمایشگاه منتقل می گردید. در آزمایشگاه از هر عضو یک برش بافتی تهیه و سطح مقطع آن به آرامی روی کاغذ صافی فشرده می شد تا سطح مقطع بافت کاملاً خشک شود. آنگاه به طریق فشردن روی لام (Dob smear) گسترش تهیه و سرانجام با گیمسا رنگ آمیزی می شد. پس از آماده شدن، گسترشها با میکروسکوپ مورد بررسی قرار می گرفت و در صورت دیدن حتی یک زوایت، نمونه مورد آزمایش مثبت تلقی می شد. همچنین به منظور تعیین عیار آنتی بادی در نمونه های اخذ شده از روش ایمنو فلورسنس غیر مستقیم استفاده گردید. در این آزمایش از برادی زوایت های ماکروکیست های *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* گاومیشهای اهواز به عنوان آنتی ژن استفاده شد و سرم گاومیشهایی که کیست های ماکروسکوپی آنها در کشتارگاه مشاهده شده بود به عنوان سرم مثبت مورد استفاده قرار گرفت. همچنین از سرم گوساله گاومیشهای آغوز نخورده در ابتدای تولد به عنوان سرم منفی استفاده شد. برای انجام این آزمایش، سرم کونژوگه (Rabbit antibuffalo gammaglobulin conjugate FITC) به روش استاندارد در آزمایشگاه مرکزی دکتررضا رستگار (دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران) به شرح ذیل تهیه گردید:

۱- جهت استخراج گاماگلوبولین از سرم گاومیش ابتدا از سولفات آمونیم به روش Salting out و طبق پروتکل مربوطه استفاده گردید و سپس دیالیز در مقابل PBS جهت خارج کردن یونهای سولفات آمونیم همراه گاماگلوبولین ها انجام شد.

۲- پروتئین سنجی به کمک دستگاه بیوفوتومتر اپندورف.

۳ - تزریق این پروتئین همراه با ادجوانت کامل فرونت به خرگوش.

۴ - تکرار مرحله تزریق اما با ادجوانت ناقص فرونت ۲ هفته بعد.

۵ - تأیید حضور پادتن ضد گاما گلوبولین گاومیش در خون خرگوش با استفاده از روش Interfacial ring test ۴ هفته پس از تزریق اول.

۶ - خونگیری از خرگوش و استخراج گاماگلوبولین از آن.

۷ - انجام پروتئین سنجی و سپس مجاورت FITC حل شده در DMSO با گاماگلوبولین به مدت ۲ ساعت در تاریکی در درجه حرارت آزمایشگاه.

۸- استفاده از روش کروماتوگرافی ژل فیلتراسیون با ستون سفادکس G و شستشو با PBS به منظور جداسازی آنتی بادی های کونژوگه شده از مولکولهای آزاد FITC (۱۰).

نتایج

در این تحقیق از مجموع ۳۹۸ رأس گاومیش از دو گروه سنی بالغ (۹۲

جدول۱- فراوانی آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در بافتهای مورد مطالعه به تفکیک سن.

وضعیت آلودگی		بالغ (۱۹۲)		نابالغ (۲۰۶)		جمع کل (۳۹۸)	
		تعداد آلوده	درصد آلودگی	تعداد آلوده	درصد آلودگی	تعداد آلوده	درصد آلودگی
میکروسکوپی	مری	۱۱۲	۵۸/۳	۱۰۱	۴۹	۲۱۳	۵۳/۵
	دیافراگم	۱۰۳	۵۳/۶	۷۷	۳۷/۴	۱۸۰	۴۵/۲
	عضلات	۴۱	۲۱/۴	۳۰	۱۴/۶	۷۱	۱۷/۸
	قلب	۳۰	۱۵/۶	۳۱	۱۵	۶۱	۱۵/۳
ماکروسکوپی	مری	۳۵	۱۸/۲	۳۹	۱۸/۹	۷۴	۱۸/۶
	دیافراگم	۱۷	۸/۹	۱۹	۹/۲	۴۶	۱۱/۵
	عضلات	۸	۴/۲	۱۲	۵/۸	۲۰	۵
	قلب	۵	۲/۶	۱۰	۴/۹	۱۵	۳/۸

رأس)، نابالغ (۲۰۶ رأس)، ماده (۱۹۵رأس) و نر (۲۰۳ رأس) نمونه گیری به عمل آمد. نتایج حاصله پس از تجزیه و تحلیل آماری با استفاده از آزمون مربع کای به وسیله نرم افزار SPSS و آنالیز رگسیون لجستیک توسط نرم افزار MINITAB در جداول مربوطه آورده شده است. به طوری که در جدول ۱ ملاحظه می شود، میزان آلودگی به میکروکیست بیش از ماکروکیست می باشد. همچنین از نظرآلودگی به کیست های انگل (اعم از میکروکیست و ماکروکیست)، مری بیشترین و قلب کمترین آلودگی را نشان داده است. میزان آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در بافتهای مورد مطالعه و همچنین بین گروه بالغ و نابالغ اختلاف معنی داری را نشان می دهد ($P<۰/۰۵$).

آنالیز آماری هیچ گونه اختلاف معنی داری را بین دو جنس نر و ماده در ارتباط با آلودگی ماکروسکوپی وهمچنین میکروسکوپی نشان نمی دهد (جدول ۲).

آنالیز آماری نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار بین گروههای بالغ و نابالغ (اعم از نر و ماده) از نظر عیار آنتی بادی می باشد، به نحوی که در هر دو جنس نر و ماده عیار آنتی بادی در گروههای بالغ به طور معنی داری بیش از گروه نابالغ می باشد ($P<۰/۰۵$) ولی بدون در نظر گرفتن سن، اختلاف معنی داری از نظر عیار آنتی بادی در دو جنس نر و ماده وجود ندارد (جدول ۳).

نتایج جدول ۴، حاکی است که فراوانترین عیار آنتی بادی گروه دامهای آلوده (از نظر مشاهدات ماکروسکوپی و میکروسکوپی) عیار ۱:۶۴۰ بوده است. بالاترین عیار تعیین شده در گروه آلوده (از نظر مشاهدات میکروسکوپی و ماکروسکوپی) به ترتیب ۱:۲۵۶۰ و ۱:۱۰۲۴۰ بوده است.

نتایج همچنین نشان می دهد که با افزایش عیار آنتی بادی تا ۱:۶۴۰ موارد مثبت در مشاهدات ماکروکیست و میکروکیست نیز افزایش می یابد و بالاتر از این عیار بتدریج باعث کاهش موارد مثبت در مشاهدات ماکروکیست و میکروکیست می شود. این نتایج از نظر آماری نیز معنی دار می باشد ($P<۰/۰۵$).

بحث

با استناد به مطالعات گذشته، تحقیق خاصی از بعد سرولوژیک در مورد آلودگی به *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* در گاومیش در کشور صورت نگرفته است، اما در مورد سایر دامها گزارشاتی در مورد تشخیص سرمی سارکوسیستوزیس وجود دارد. در این تحقیق برای نخستین بار مقایسه ای بین میزان آلودگی لاشه و عیار آنتی بادی مربوط به *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* در گاومیشهای استان خوزستان صورت گرفته است. مطالعات انجام شده در این تحقیق در سه بخش اصلی صورت گرفته است:

۱- روش سرولوژیک (IFAT)، ۲- تعیین آلودگی ماکروسکوپی، ۳- تعیین آلودگی میکروسکوپی (Dob smear).

با بررسی نتایج مربوط به تحقیق صورت گرفته مشخص می گردد که فراوانی آلودگی ماکروسکوپی ۱۸/۶ درصد و آلودگی میکروسکوپی ۵۳/۵ درصد می باشد که نشانه آلودگی درصد نسبتاً قابل توجهی از گاومیشهای منطقه به *سارکوسیست* می باشد و میزان آلودگی میکروسکوپی بیش از آلودگی ماکروسکوپی بوده است. به علاوه در بین بافتهای تحت مطالعه بیشترین آلودگی به کیست اعم از ماکروسکوپی و میکروسکوپی به ترتیب در مری، دیافراگم، عضلات مخطط و قلب بوده است. نتایج فوق در تحقیق حاضر با نتایج سایر محققان که ذیلاً ذکر می شود نسبتاً همخوانی داشته است.

Degloorkar و همکاران در سال ۱۹۹۳ میزان آلودگی گاومیشهای هندی را به کیست های ماکروسکوپی *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* ۱۵/۳۱ درصد گزارش نمودند (۵).

در تحقیق صورت گرفته بر روی گاومیشهای عراق، Latif و همکاران در سال ۱۹۹۹ میزان آلودگی را ۱۵/۶ درصد گزارش نمودند. در این تحقیق

جدول ۲ - فراوانی آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی در بافتهای مورد مطالعه به تفکیک جنس.

وضعیت آلودگی		نر (۲۰۳)		ماده (۱۹۵)	
		تعداد آلوده	درصد آلودگی	تعداد آلوده	درصد آلودگی
میکروسکوپی	مری	۱۱۳	۵۵/۷	۱۰۰	۵۱/۳
	دیافراگم	۹۱	۴۴/۸	۸۹	۴۵/۶
	عضلات	۳۷	۱۸/۲	۳۴	۱۷/۴
	قلب	۳۳	۱۶/۳	۲۸	۱۴/۴
ماکروسکوپی	مری	۳۶	۱۷/۷	۳۸	۱۹/۵
	دیافراگم	۱۳	۶/۴	۲۳	۱۱/۸
	عضلات	۸	۳/۹	۱۲	۶/۲
	قلب	۵	۲/۵	۱۰	۵/۱

جدول ۳- توزیع فراوانی تیتر آنتی بادی ضد *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* به روش IFA در دامهای مورد مطالعه به تفکیک سن و جنس.

بالاترین عیار آنتی بادی	کل نمونه ها		ماده (۱۹۵)				نر (۲۰۳)			
			بالغ (۹۹)		نابالغ (۹۶)		بالغ (۹۳)		نابالغ (۱۱۰)	
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱:۴۰	۱۵	۳/۸	۲	۲	۷	۷/۳	-	-	۶	۵/۵
۱:۸۰	۲۶	۶/۵	۱	۱	۱۰	۱۰/۴	۲	۲/۲	۱۳	۱۱/۸
۱:۱۶۰	۵۲	۱۳/۱	۳	۳	۲۲	۲۲/۹	۵	۵/۴	۲۲	۲۰
۱:۳۲۰	۹۹	۲۴/۹	۹	۹/۱	۳۲	۳۳/۳	۱۳	۱۴	۴۵	۴۰/۹
۱:۶۴۰	۱۰۳	۲۵/۹	۳۶	۳۶/۴	۲۳	۲۴	۲۴	۲۵/۸	۲۰	۱۸/۲
۱:۱۲۸۰	۵۲	۱۳/۱	۲۲	۲۲/۲	۲	۲۴	۲۴	۲۵/۸	۴	۳/۶
۱:۲۵۶۰	۳۷	۹/۲	۱۸	۱۸/۲	-	۱۹	۱۹	۲۰/۴	-	-
۱:۵۱۲۰	۸	۲	۴	۴	-	۴	۴	۴/۳	-	-
۱:۱۰۲۴۰	۶	۱/۵	۴	۴	-	۲	۲	۲/۲	-	-
کل	۳۹۸	۱۰۰	۹۹	۱۰۰	۹۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۱۱۰	۱۰۰

جدول ۴ - توزیع فراوانی تیتر آنتی بادی در گاومیشهای آلوده به کیست.

بالاترین تیتر آنتی بادی	تعداد نمونه	دارای ماکروکیست		دارای میکروکیست	
		تعداد	درصد	تعداد	درصد
۱:۴۰	۱۵	۵	۳۳	۱	۶/۶
۱:۸۰	۲۶	۱۰	۳۸/۴	۲	۷/۶
۱:۱۶۰	۵۲	۲۸	۵۳/۸	۱۴	۲۷
۱:۳۲۰	۹۹	۵۵	۵۵/۵	۲۶	۲۶/۲
۱:۶۴۰	۱۰۳	۶۹	۶۷	۳۱	۳۰
۱:۱۲۸۰	۵۲	۲۶	۵۰	۶	۱۱/۵
۱:۲۵۶۰	۳۷	۱۵	۴۰/۵	۱	۲/۷
۱:۵۱۲۰	۸	۴	۵۰	-	-
۱:۱۰۲۴۰	۶	۲	۳۳	-	-
کل	۳۹۸	۲۱۴	۵۳/۷	۸۱	۲۰/۳

بیشترین میزان آلودگی در مری و کمترین آن در قلب مشاهده شد (۱۵).

Huong و همکاران در سال ۱۹۹۷ میزان آلودگی گاومیشهای ویتنام را به *سارکوسیستیس* ۱۰/۵درصد گزارش نمودند (۱۴). همچنین در تحقیق دیگر Huong در سال ۱۹۹۹ با بررسی عضلات قلب، زبان، مری، عضلات گردن و عضلات ناحیه شکم ۵۰۲ رأس گاومیش بالغ کشتار شده در شهر هوشی مین ویتنام میزان آلودگی به کیست های *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* را ۴۱ درصد گزارش نمود (۱۳). علاوه بر آن در بین دامهای آلوده بیشترین آلودگی مربوط به ناحیه مری و کمترین آن مربوط به قلب بوده است. Calveria و همکاران در سال ۲۰۰۰ در مطالعه ۱۴۲ رأس گاومیش کشتار شده میزان آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی را در ۶۵ درصد گاومیشها گزارش نمودند (۵). در این بررسی نیز بیشتر آلودگی مربوط به ناحیه مری بوده است.

Ghosal و همکاران در سال ۱۹۸۶ میزان آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی را در گاومیشهای هندوستان ۸۰ درصد گزارش نمود که در این میان علاوه بر *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* آلودگی به *سارکوسیستیس لوینی* نیز گزارش گردید (۹).

Camisasca و همکاران در سال ۱۹۹۶ طی مراحل مختلف بازرسی بعد از کشتار میزان آلودگی لاشه های گاومیشهای مربوط به نواحی شمالی ایتالیا را ۳۲/۹ درصد گزارش نمودند. در این بررسی از بین بافتهای مختلف مورد مطالعه از جمله مری، دیافراگم، زبان، قلب و عضلات جوشی بیشترین آلودگی در مری گزارش شد (۳).

بر اساس آنالیز آماری صورت گرفته در بین دو جنس نر و ماده در دامهای مطالعه شده از نظر میزان آلودگی ماکروسکوپی و میکروسکوپی هیچ گونه اختلاف معنی داری مشاهده نگردید، ولی بین دو گروه بالغ و نابالغ از این نظر در سطح ($P<0/05$) اختلاف معنی داری مشاهده شد به طوری که در گروه بالغین میکروکیست ها افزایش معنی دار و ماکروکیست ها کاهش معنی داری را نشان می دهند. در این ارتباط به نظر می رسد که در آلودگی به *سارکوسیستیس* به دلیل تحریک سیستم ایمنی (سلولی و هومورال) بتدریج با افزایش سن، کیست های تولید شده توسط سیستم ایمنی میزبان تخریب می شوند لذا میزان آلودگی به ماکروکیست در دامهای مسنتر کاهش معنی داری را نشان می دهد. شاید بتوان افزایش معنی دار میکروکیست ها در گروه بالغین را به آلودگی مجدد دامها مربوط دانست (۷).

اگر چه در این بررسی درصد آلودگی ماکروسکوپی (۱۸/۶درصد) به طور معنی داری از میزان آلودگی میکروسکوپی (۵۳/۵ درصد) کمتر است ولی توجه به این نکته ضروری است که اولاً تعداد زیادی از دامها ممکن است تعداد ماکروکیست کمی داشته باشند که در بازرسی کشتارگاهی به چشم نیایند. ثانیاً درصدی نیز ممکن است هنوز به مراحل تشکیل کیست ماکروسکوپی نرسیده باشند. به همین دلیل این عوامل باعث شده است که میزان آلودگی ماکروسکوپی نسبت به میکروسکوپی به مراتب کمتر مشاهده شود.

آنالیز آماری نتایج به دست آمده از بازرسی ماکروسکوپی و آزمایشات میکروسکوپی نشان داد که ارتباط معنی داری بین آلودگی میکروسکوپی

و ماکروسکوپی وجود دارد. بدین معنی که عمده نمونه هایی که در بازرسی ماکروسکوپی آلوده تشخیص داده شدند از نظر میکروسکوپی نیز مثبت تشخیص داده شدند. عکس این مطلب صادق نبوده است، بدین معنی که هیچ یک از نمونه های منفی در آزمایش میکروسکوپی کیست ماکروسکوپی نداشته اند. همان گونه که در قسمت روش کار ذکر گردید بر اساس خصوصیات ذکر شده از قبیل شکل و اندازه و سایر مدارک موجود (۱) کیست های ماکروسکوپی مشاهده شده در گاومیشهای این بررسی، به عنوان *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* شناسایی شدند، ولی آلودگی میکروسکوپی می تواند ناشی از کیست های در حال رشد *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* و یا دو گونه میکروسکوپی *سارکوسیستیس لوینی* و *سارکوسیستیس دوبئی* باشد. جهت تعیین احتمال وجود گونه های اخیر نیاز به تحقیق و بررسی دیگری می باشد ولی با توجه به اینکه واکنش سرولوژیک ایجاد شده در دامهای آلوده (میکروسکوپی) علیه برادی زوآیت های *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* بوده است احتمالاً موارد آلودگی میکروسکوپی مربوط به مراحل در حال رشد *سارکوسیستیس فوزیفورمیس* بوده و یا اینکه قرابت آنتی ژنی فراوانی بین انواع گونه های انگل در گاومیش وجود دارد.

نکته دیگر در این بررسی این است که حتی مواردی که در بررسی بافتی این مطالعه ظاهراً فاقد کیست اعم از ماکروسکوپی و میکروسکوپی تشخیص داده شده اند از نظر سرولوژی، حداقل در تیتر ۱:۴۰ مثبت بوده اند که این نشانه حساسیت بالای تست سرولوژی مذکور می باشد.

روش IFA توسط محققین مختلفی در ارتباط با تشخیص آلودگی به *سارکوسیستیس* در دامهای مختلف مورد استفاده قرار گرفته است. لازم به ذکر است براساس جستجوهای به عمل آمده تاکنون از این روش جهت تشخیص سرولوژیکی سارکوسیستوزیس در گاومیش استفاده نشده ولی در سایر نشخوارکنندگان به کار گرفته شده است. در این مطالعات بر کارایی و حساسیت مناسب روش IFA و همچنین قابل مقایسه بودن نتایج آن با روش الایزا و همچنین اختصاصی بودن و عدم وجود واکنش متقاطع در این تست، بین *سارکوسیست* و سایر انگلهای این خانواده از جمله *توکسوپلاسما* و *نئوسپورا* تأکید شده است (۲،۴،۱۱،۱۵،۱۷،۱۸،۱۹،۰).

نتایج حاصله از بررسیهای سرولوژی در نمونه های مورد آزمایش نشان می دهد که ۱۰۰درصد دامهای تحت مطالعه آلودگی به این عفونت را حداقل در تیتر ۱:۴۰ نشان دادند و بیشترین تیتر آلودگی ۱:۱۰۲۴۰ بوده است. کمترین فراوانی مربوط به عیار ۱:۱۰۲۴۰ (۱/۵ درصد) و بیشترین آن، مربوط به تیتر ۱:۶۴۰ (۲۵/۹ درصد) بوده است. آنالیز آماری نتایج به دست آمده در دو گروه سنی بالغ و نابالغ از دو جنس نر و ماده نشان داد که بین جنس نر و ماده از نظر تیتر آنتی بادی اختلاف معنی داری وجود ندارد که این یافته نیز با نتایج بررسی کشتارگاهی و ریزبینی این مطالعه همخوانی دارد.

همچنین میزان تیتر آنتی بادی، بین دو گروه بالغ و نابالغ اختلاف معنی داری را در سطح (P<۰/۰۵) نشان داد که باز با نتایج مشاهدات بافتی همخوانی دارد. علاوه بر آن ارتباط معنی داری بین عیار آنتی بادی و آلودگی

تصویر ۱- واکنش مثبت در آزمایش IFA علیه برادی زوآیت های *سارکوسیستیس فوزیفورمیس*

(میکروسکوپی و ماکروسکوپی) مشاهده گردید (P<۰/۰۵) ، بدین معنی که با افزایش عیار آنتی بادی تا ۱:۶۴۰ میزان آلودگی میکروسکوپی و ماکروسکوپی افزایش و سپس کاهش می یابد ولی افت تعداد موارد آلودگی میکروسکوپی پس از عیار ۱:۶۴۰کمتر می باشد.

ارتباط موجود بین موارد مثبت آلودگی به کیست ها اعم از میکروسکوپی و ماکروسکوپی با عیار آنتی بادی تا ۱:۶۴۰ مستقیم می باشد و فرضیات این مطالعه را نیز تأیید می نماید که می توان از این روش جهت تشخیص آلودگی بهره برد. ولی ارتباط معکوس بین تیتر آنتی بادی و موارد مثبت آلودگی به کیست ها پس از تیتر ۱:۶۴۰ جای بحث دارد. احتمالاً افزایش عیار آنتی بادی چنانچه خیلی بالا باشد می تواند بر کاهش ماکروکیست ها و میکروکیست ها مؤثر باشد. اگر چه نتایج تعدادی از محققین نشان می دهد که ایمنی محافظت کننده ای در آلودگی به *سارکوسیستیس* وجود نداشته و در صورت تماسهای بعدی احتمال عفونتهای مکرر وجود دارد (۷).

بنابراین با مقایسه روشهای تشخیصی به کار گرفته شده (سرولوژی، میکروسکوپی و ماکروسکوپی) باید این انتظار را داشت که در صورت بالا بودن عیار آنتی بادی تا ۱:۶۴۰ احتمال مشاهده کیست ماکروسکوپیک بیشتر خواهد بود، ولی بالاتر از این عیار احتمال مشاهده کیست کاهش می یابد.

به هر صورت با توجه به شرایط زیست گاومیشها در کنترل آفت سارکوسیست در این میزبان از طریق محدود کردن منشأ اولیه آلودگی (گربه ها و سایر گربه سانان) شانس کمی وجود دارد و تنها مسئله ای که به عنوان یک روش عملی در کنترل این انگل قابل تصور است تهیه واکسن از نوع زنده، کشته و یا فراکسیونی می باشد. بدیهی است مطالعه حاضر نشان داد که روش IFAT می تواند در ارزیابی نتایج استفاده از چنین واکسنهایی و همچنین مطالعات بعدی مورد توجه و استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی

قسمتی از هزینه های انجام این طرح از محل قطبهای علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تأمین شده است. از کلیه دست اندرکاران در این ارتباط تشکر می شود.

References

۱. دلیمی اصل، ح.، خداشناس، م.، نوری، ع. و مروتی، م. (۱۳۷۸): "مطالعه ریخت شناسی و فراریزبینی کیست *سارکوسیستیس* جداشده از گاومیشهای خوزستان" پژوهش و سازندگی، شماره ۴۳، صفحه: ۴۹-۴۷.

2. Aryeetey, M.E. and Piekarski,G. (1976): Serological studies on sarcocystis in man and rats. Z. Parasitenkd. 16::109-124.
3. Camisasca, S., Corsico, G., Tessuto, L., Scaziani, E., Genchi, C., Benedetti, G., Alfonsi, R. and Crippa, L. (1996): Sarcocystosis in buffaloes reared and slaughtered in Italy.Ingegneria Alimentare, Le conserve Animali 12: 9-12.
4. Cerna, Z. and Kolarova, I. (1978): Contribution to the serological diagnosis of sarcocystosis. Folia Parasitologia. 25: 289-292.
5. Claveria, F.G., Cruz, M.J. and Lim, R.S. (2000): *Sarcocystis spp.* Infection in Philippine water buffaloes (Bubalus bubalis). Southeast Asian J. Tropic. Med. Public Health. 31: 44-47.
6. Degloorkar, N.M., Kulkarni, G.B., Deshpande, B.B. and Digraskar, S.U. (1993): Incidence of *Sarcocystis fusiformis* in buffaloes (*Bubalus bubalis*). Indian J. Comparative Microbiol. Immunol. Infectious Diseases, 14: 29-30.
7. Dubey, J.P., Speer, C.A. and Fayer, R. (1989): Sarcocystis of animals and man. CRC Press, Inc. Boca Raton. Florida. USA.
8. Dubey, J.P., Speer, C.A. and Shah, H.L. (1989): Ultrastracture of *sarcocystis* from water buffalo in India. Vet. Parasitol. 34:149-152.
9. Ghosal, S.B., Joshi, S.C. and Shah, H.L. (1986): A note on the natural occurrence of *Sarcocystis* in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Jabalpur region. Indian Vet. J. 63: 165-166.
10. Gosling. (2000): Immunoassays.Oxford university Press. PP:89-126.
11. Habeeb, Y.S., S. Selim, M.A., Ali, M. S., Mahmoud, L.A., Abdelhadi, A.M. and Shafei, A. (1996): Serological diagnosis of extraintestinal sarcocystosis J. Egyptian Society of Parasitology. 26: 393-400.
12. Hall, A.R. (2001): Protozoology. Greenworld publishers, PP: 324-326.
13. Huong, L.T. (1999): Prevalence of *Sarcocystis spp.* in water buffaloes in Vietnam. Vet. Parasitol. 86: 33-39.
14. Huong, L.T., Dubey, J.P., Nikkila, T. and Uggla, A. (1997): *Sarcocystis buffalonis.*(*Protozoa: Sarcocystidae*) in the water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Vietnam. J. Parasitol. 83: 471-474.
15. Latif, B.M., Al-Delemi, J.K., Mohammed, B.S., Al-Bayati, S.M. and Al-Amiry, A.M. (1999): Prevalence of *Sarcocystis spp.* in meat producing animals in Iraq. Vet. Parasitol. 84: 85-90.
16. Mal, A.P. and Baranova, M. (1995): Detection of *sarcocystis* in slaughterhouse animals during a Veterinary inspection. Vet. Med. Praha. 40: 97-100.
17. Svobodova, V. and Nevole, M. (1990): Use of the muscle digestion method and indirect immunofluorescence reaction in the diagnosis of sarcocystosis in sheep. Acta Vet. Brno. 59: 157-170.
18. Svobodova, V. and Nevole, M. (1992): Diagnosis of sarcocystosis in sheep using the indirect fluorescence test and ELISA. Vet. Med. Praha. 37: 109-112.
20. Svobodova, V. and Nevole, M. (1991): Use of ELISA for the diagnostics of ovine sarcocystosis. Folia Parasitol. Praha. 38: 303-308.