مجله تحقیقات دامپزشکی، ۱۳۸۷، دوره ۶۳، شماره ۱، ۳۲-۲۹

بررسی اثرات تجویز خوراکی و تزریقی عصاره کیست‌های سارکوسیستیس فوزی فورمیس بر عملکرد سیستم انعقاد خون در خرگوش

محمد راضی جلالی[1]* غلامحسین خواجه[1] عبدالرحمن راسخ[2] هادی خجسته نژاد[3]

۱) گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.
۲) گروه آمار دانشکده ریاضی و علوم کامپیوتر دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.
۳) دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز - ایران.

(دریافت مقاله: ۱ شهریور ماه ۱۳۸۵، پذیرش نهایی: ۲۷ آذر ماه ۱۳۸۶)

چکیده

پس از جمع‌آوری کیست‌های سارکوسیستیس فوزی فورمیس از مری گاومیش‌های آلوده در کشتارگاه سوسپانسیونی با غلظت پروتیین ۲mg/ml تهیه و به‌شکل خام و پخته‌شده مورد استفاده قرار گرفت. تعداد ۳۶ سر خرگوش نر سفید آزمایشگاهی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه ۱ و ۲ عصاره خام، گروه ۳ و ۴ عصاره پخته‌شده و گروه ۵ و ۶ فسفات بافرسالین به ترتیب به صورت خوراکی و داخل صفاقی به میزان ۱ml/kg دریافت نمودند. در زمان‌های صفر، ۳، ۶، ۲۴ ساعت، ۳ و ۷ روز پس از تجویز خون‌گیری به عمل آمده و آزمایش‌های انعقادی شامل APTT, PT, CT, BT، اندازه‌گیری فیبرینوژن و شمارش پلاکت‌ها با روش‌های استاندارد انجام گرفت. نتایج مطالعه نشان داد تجویز داخل صفاقی این عصاره موجب مرگ خرگوش‌ها ظرف ۲۴ ساعت می‌شود. آنالیز آماری نشان داد تنها در گروهی که عصاره خام را به صورت تزریق داخل صفاقی دریافت نموده بود در زمان‌های مختلف تفاوت معنی‌داری در آزمایش‌ها اتفاق می‌افتد ($p<0/05$). از آنجایی که ماده سمی سارکوسیستین ماهیت پروتئینی دارد پختن آن در حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد برای ۳۰ دقیقه موجب دناتوره و غیرفعال شدن آن می‌گردد. همچنین به نظر می‌رسد سمیت این ماده در صورت تجویز خوراکی فرم خام آن تحت تاثیر اسید معده و آنزیم‌های گوارشی از بین می‌رود.

واژه‌های کلیدی: سارکوسیستیس فوزی فورمیس، سارکوسیستین، انعقاد خون، خرگوش.

مقدمه

انگل سارکوسیستیس به عنوان یکی از انگل های کوکسیدیایی ایجاد کننده کیست در عضلات مختلف انسان و بسیاری از دام‌های اهلی به شمار می‌رود. این انگل انتشار جهانی داشته و غالباً در عضلات مخطط قلب، زبان، مری، دیافراگم و عضلات اسکلتی یافت می‌شود(۹).

سارکوسیستیس چرخه زندگی اجباری، دو میزبانه داشته و مراحل غیرجنسی آن در میزبان واسط که معمولاً یک حیوان علفخوار است تکامل می‌یابد. بررسی‌ها نشان داده است که گاومیش (*Bubalus bubalis*) میزبان واسط چهار گونه این انگل شامل سارکوسیستیس فوزی فورمیس، سارکوسیستیس بوفالونیس، سارکوسیستیس لوینی و سارکوسیستیس دوبیی می‌باشد. دو گونه اول در گروه سارکوسیست‌های ماکروسکوپی و دو گونه دیگر میکروسکوپی می‌باشند. مطالعات انجام گرفته نشان می‌دهد که کیست‌های این انگل حاوی ماده‌ای سمی به نام سارکوسیستین بوده که تجویز آن به طور تجربی موجب بروز علائمی همچون درد، دپرسیون، کاهش وزن، کاهش دمای بدن، کم خونی، اختلالات خونریزی دهنده، اسهال و در برخی موارد مرگ می‌گردد(۱،۵،۶،۷،۹،۱۰،۱۲،۱۹). از چهار گونه انگل فوق‌الذکر گونه سارکوسیستیس فوزی فورمیس به فراوانی در گاومیش‌های مناطق مختلف کشور از جمله اهواز گزارش شده است(۳،۴،۱۷،۱۸). شیوع قابل توجه این انگل از یک سو و نگرانی‌های ناشی از مصرف گوشت‌های آلوده به کیست‌های انگل از سوی دیگر توجه زیادی را به خود جلب نموده است. در این تحقیق سعی شده است تا ضمن مقایسه اثرات تجویز خوراکی و تزریقی عصاره کیست‌های انگل تاثیر دمای پخت نیز به طور همزمان مورد ارزیابی قرار گیرد. از آنجایی که احتمالاً سیستم انعقاد خون به عنوان یکی از سیستم‌های تاثیرپذیر نسبت به سم این انگل به شمار رفته و اختلالات آن به عنوان یکی از علل کم خونی ناشی از این آلودگی مطرح می‌باشد، لذا در این مطالعه اثرات تجویز خوراکی و تزریقی عصاره این کیست‌ها بر عملکرد سیستم انعقاد خون مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

الف- تهیه عصاره کیست‌های سارکوسیستیس فوزی فورمیس: کیست‌های انگل فوق از ناحیه مری گاومیش‌های کشتار شده در کشتارگاه اهواز جمع‌آوری و در محلول فسفات بافرسالین با pH=۷/۲ به آزمایشگاه منتقل گردید. پس از چند مرحله شستشوی کیست‌ها با PBS، با استفاده از هموژنیزر به سوسپانسیون تبدیل شده که در مرحله بعد به مدت ۱۰ دقیقه با ۵۰۰g سانتریفوژ و محلول فوقانی آن مجزا گردید. میزان پروتئین عصاره مذکور به روش براد فورد تعیین و با استفاده از PBS در حد ۲ میلی گرم در میلی لیتر تنظیم شد(۲۰).

در مرحله بعد عصاره فوق به دو شکل خام و پخته شده (در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه) تقسیم شده و به هر کدام از آنها پنی سیلین (۱۰۰IU/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰µg/ml) اضافه گردید. هریک از اشکال خام و پخته شده به طور جداگانه به روش خوراکی و تزریق داخل صفاقی به

*)نویسنده مسؤول: تلفن: ۳۳۳۰۰۷۳-۰۶۱۱ نمابر: ۳۳۶۰۸۰۷-۰۶۱۱ Email: jalali-m@scu.ac.ir

جدول ۱- تغییرات میانگین ± خطای انحراف معیار مقادیر پارامترهای انعقادی اندازه‌گیری شده در گروه ۲.

زمان / پارامتر	صفر a	۳hr b	۶hr c	۲۴hr d	۳روز e	یک هفته f
BTثانیه	۱۲۵±۱۱^{d}	۱۳۱±۱۰^{d}	۲۸۸±۱۱^{abd}	۳۹۵±۱۳^{abc}	-	-
CTثانیه	۲۷۱±۱۶^{d}	۲۶۲±۱۱^{d}	۲۸۳±۱۱^{d}	۶۹۰±۱۲^{abc}	-	-
PTثانیه	۱۰±۰/۶۵	۱۱±۰/۷۱	۲۸±۳^{abd}	۴۵±۲^{abc}	-	-
APTTثانیه	۳۲±۲	۳۴±۳	۵۷±۳^{abd}	۶۹±۳^{abc}	-	-
فیبرینوژن mg/dl	۲۳۱±۱۴^{cd}	۲۲۳±۱۶^{cd}	۱۲۶±۱۶^{ab}	۱۱۸±۱۷^{abc}	-	-
پلاکت k/µl	۶۷۶±۷۱^{cd}	۶۰۲±۸۰^{cd}	۳۲۴±۴۱^{abd}	۱۵۱±۲۸^{abc}	-	-

***وجود حروف کوچک لاتین نامتشابه در کنار میانگین‌ها در جداول بیانگر اختلاف معنی‌دار می‌باشد (p<۰/۰۵).**

خرگوش‌های مورد مطالعه تجویز گردید (۲۰).

ب- حیوانات مورد آزمایش: تعداد ۳۶ سر خرگوش سفید آزمایشگاهی نر از نژاد (New Zealand white) به طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه ۱: خرگوش‌های این گروه عصاره خام را به میزان ۱ml/kg به طور خوراکی دریافت نمودند.

گروه ۲: خرگوش‌های این گروه عصاره خام را به میزان ۱ml/kg به طور تزریق داخل صفاقی دریافت نمودند.

گروه ۳: خرگوش‌های این گروه عصاره پخته شده را به میزان ۱ml/kg به طور خوراکی دریافت نمودند.

گروه ۴: خرگوش‌های این گروه عصاره پخته شده را به میزان ۱ml/kg از طریق داخل صفاقی دریافت نمودند.

گروه ۵: خرگوش‌های این گروه PBS به روش خوراکی به میزان ۱ml/kg دریافت نمودند.

گروه ۶: خرگوش‌های این گروه PBS به روش داخل صفاقی به میزان ۱ml/kg دریافت نمودند.

نمونه‌گیری: جهت بررسی اثرات احتمالی تجویز خوراکی و تزریقی عصاره‌های خام و پخته سارکوسیست در خرگوش‌های مورد مطالعه خون‌گیری جهت انجام آزمایش‌های APTT، PT، CT، اندازه‌گیری فیبرینوژن و شمارش پلاکت‌ها از ورید وداج با استفاده از ضدانعقاد سیترات سدیم ۳/۶درصد به نسبت ۱:۹ در زمان‌های صفر (قبل از تجویز عصاره سارکوسیست)، ۳ ساعت، ۶ساعت، ۲۴ساعت، ۳ روز و یک هفته پس از تجویز عصاره سارکوسیست صورت گرفت. علاوه بر آن در زمان‌های فوق آزمایش زمان سیلان خون (BT) نیز انجام پذیرفت.

آزمایش CT به روش لوله موئینه، آزمایش PT و APTT با استفاده از ویال‌های تجارتی ساخت شرکت بیومریو، فیبرینوژن با استفاده از روش کلاوس و شمارش پلاکت‌ها با استفاده از لام مستقیم انجام گرفت. جهت انجام آزمایش BT از روش اصلاح شده دوک استفاده گردید.

نتایج

پس از انجام آزمایش‌های مورد نظر به منظور مقایسه هر یک از فاکتورهای فوق در گروه‌های مورد مطالعه و در کل دوره از طرح با اندازه‌گیری مکرر و برای مقایسه دو به دو گروه‌های مورد نظر با یکدیگر از آزمون حداقل اختلافات معنی‌دار LSD استفاده گردید. از آنجایی که تغییرات پارامترهای اندازه‌گیری شده فقط در گروه ۲ (گروهی که عصاره خام کیست‌های سارکوسیستیس‌فوزی‌فورمیس را به صورت تزریقی دریافت نموده بود) مشاهده گردید و در هیچ‌یک از گروه‌های دیگر در رابطه با پارامترهای مورد نظر تغییر معنی‌داری مشاهده نشد، لذا جهت اختصار فقط نتایج آزمایش‌های مربوط به گروه ۲ در جدول ۱ آورده می‌شوند.

بحث

آلودگی به انگل سارکوسیستیس در طیف وسیعی از دام‌های اهلی در کشورهای مختلف جهان گزارش شده است. بررسی‌های انجام گرفته در کشور ما فراوانی آن را در برخی گونه‌های دامی مشخص نموده است. یکی از مهمترین موارد اهمیت این آلودگی وجود پروتئین سمی به نام سارکوسیستین می‌باشد که وجود آن در گوشت‌های آلوده به کیست‌های این انگل موجب بروزنگرانی‌های فراوانی برای مصرف کنندگان گردیده است (۳،۱۳،۱۷،۱۸).

نکته قابل توجهی که در این مطالعه لحاظ شده است استفاده از دو روش تجویز عصاره کیست‌ها به طور همزمان و تحت یک شرایط می‌باشد. لازم به ذکر است که مطالعاتی که تاکنون درخصوص بررسی اثرات سمی کیست‌های گونه‌های مختلف سارکوسیستیس صورت گرفته است تماماً براساس تزریق عصاره مذکور بوده حال آن که در این مطالعه در کنار روش تزریق داخل صفاقی روش خوراکی نیز مورد استفاده قرار گرفته است. علاوه بر مقایسه دو روش خوراکی و تزریقی، اثرات پخت در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد برای ۳۰ دقیقه نیز مورد توجه بوده و نتایج آن نیز مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفته است.

با توجه به نتایج این تحقیق بین هیچ‌یک از زمان‌های نمونه‌گیری در گروه‌های ۱،۳،۴،۵،۶ و همچنین بین زمان‌های مشابه در گروه‌های مذکور اختلاف معنی‌داری از لحاظ آماری مشاهده نگردید (p>۰/۰۵). حال آن که در گروه ۲ که عصاره خام را به شکل تزریق داخل صفاقی دریافت نموده بود در رابطه با آزمایش‌های انجام گرفته در زمان‌های مختلف با زمان صفر (قبل از تزریق) تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (p<۰/۰۵). علاوه بر آن در این گروه علائم بالینی شامل ضعف، بی‌اشتهایی، بی‌حالی، دپرسیون، لرز و تشنج در کلیه خرگوش‌های این گروه مشاهده گردید. همچنین کلیه خرگوش‌های این گروه در فاصله زمانی ۷۲-۲۴ ساعت پس از تجویز عصاره مذکور بر اثر شدت علائم بالینی تلف شدند، لذا امکان انجام نمونه‌گیری‌های بعدی (۳ روز

و یک هفته پس از تلقیح) میسر نگردید.

Saleque و همکاران در سال ۱۹۹۱ نشان دادند که تزریق عصاره سارکوسیستیس فوزی فورمیس از طریق داخل صفاقی با غلظت ۲ میلی گرم پروتئین و یا بیشتر (۴ و ۶ میلی گرم) برای خرگوش‌ها و موش‌ها کشنده می‌باشد. علاوه بر آن محققین مذکور نشان دادند که پروتئازها و تریپسین در محیط آزمایشگاه موجب غیرفعال شدن سارکوسیستین شده ولی پاپائین بر سمیت آن تاثیری نداشته است. یافته‌های این محققین دلالت بر ماهیت پروتئینی سم سارکوسیستین داشته که در اثر آنزیم‌های فوق الذکر غیرفعال شده است. همچنین این محققین در بررسی اثرات دمای پخت به این نتیجه رسیدند که دمای بالاتر از ۶۰ درجه سانتیگراد و همچنین pH اسیدی (۵-۴) سمیت سارکوسیستین را از بین می برد (۲۰).

در بررسی حاضر که از دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه جهت پختن عصاره کیست‌ها استفاده شد، در گروهی که عصاره پخته شده به روش داخل صفاقی تجویز شده بود (گروه۴)، هیچگونه تغییر معنی‌داری در آزمایش‌های انعقادی و علائم بالینی مشاهده نشد. این یافته‌ها دلالت بر این دارد که علاوه بر راه تجویز، حرارت پخت نیز می تواند در بروز سیمت ناشی از سارکوسیستین موثر واقع شود. همچنین در گروه‌هایی که به طور خوراکی عصاره خام و یا پخته شده سارکوسیست تجویز شده بود، هیچگونه تغییر معنی‌داری در یافته‌های آزمایشگاهی و علائم بالینی مشاهده نشد ($p>0/05$).

Brose و همکاران در سال ۱۹۸۹ نشان دادند که خرگوش‌ها به سمیت عصاره سارکوسیستیس ژیگانتهآ حساس بوده حال آن که موش‌ها نسبت به سم این گونه سارکوسیستیس مقاوم می‌باشند. بنابراین به نظر می رسد که بین سمیت گونه‌های انگل وحساسیت‌های میزبان‌های مختلف نیز تفاوت‌هایی وجود دارد (۲).

Hiepe و همکاران در سال ۱۹۸۱ و Saha و همکاران در سال ۱۹۸۵ عصاره سارکوسیتس فوزی فورمیس را برای خرگوش و موش از طریق تزریق داخل صفاقی سمی و کشنده گزارش نمودند (۱۴،۱۹).

Saito و همکاران در سال ۱۹۹۵ نشان دادند که در اثر تزریق زیرجلدی عصاره سارکوسیستیس کروزی به موش، خوکچه هندی و خرگوش تنها در خرگوش واکنش شدیدی به تزریق عصاره مذکور با غلظت ۲۵ میکروگرم نشان داده شد. در مطالعه مذکور مهمترین نشانه‌های بالینی شامل کاهش دمای بدن و اسهال خفیف بوده است. در تحقیق مذکور افزایش معنی‌دار گلبول‌های سفید، گلبول‌های قرمز میزان هماتوکریت، پروتئین تام، ازت اوره، کراتینین و افزایش فعالیت آنزیم‌های ALT و AST و کاهش گلوکز، پتاسیم و pH خون نیز مشاهده شد. این محققین سم این انگل را پروتئین حساس به حرارت با وزن مولکولی تقریبی ۱۶-۱۵ کیلودالتون اعلام نمودند (۲۱).

Fayer و همکاران در سال ۱۹۸۸ اثرات القای تجویز عصاره سارکوسیستیس کروزی را در تولید TNFα به اثبات رسانید و اعلام نمود که به احتمال قوی یکی از مهمترین واسطه هایی که موجب بروز اثرات سمی ناشی از سم این کیست‌ها می‌شود TNFα می باشد (۱۳).

Nakamura و همکاران درسال ۱۹۹۹ نشان دادند که در تلقیح عصاره سارکوسیستیس کروزی به خرگوش علائمی شبیه اندوتوکسمی ایجاد می‌شود. این محققین نیز سم پروتئین موجود در عصاره سارکوسیستیس کروزی را حساس به حرارت اعلام نمودند (۱۶).

Prasse و Fayer درسال ۱۹۸۱ در آلودگی تجربی گوساله‌ها علاوه بر تغییرات آنزیم‌های سرمی و برخی الکترولیت‌ها افزایش معنی‌دار زمان پروترومبین را گزارش نمودند (۱۶).

Daugschies و همکاران درسال ۱۹۹۸ نیز در آلودگی تجربی گوساله‌ها افزایش زمان پروتروپین و زمان ترومبوپلاستین پارشال فعال شده را گزارش نمودند. همچنین Daugschies و همکاران درسال ۱۹۸۹ در آلودگی تجربی خوک‌ها با دوزهای تحت کشنده آن نشان دادند که زمان پروترومبین به طور معنی داری افزایش می یابد (۸،۱۰).

از آنجایی که در بررسی کالبدگشایی کلیهٔ خرگوش‌های تلف شدهٔ گروه دوم، شواهدی از وجود انعقاد منتشر داخل عروقی در قسمت‌های مختلف بدن وجود داشت، لذا در خصوص مکانیسم احتمالی اثرات سم سارکوسیستین در ایجاد تغییرات حاصله در ارتباط با آزمایش‌های انعقادی این احتمال مطرح است که بواسطه DIC متعاقباً بسیاری از فاکتورهای انعقادی مصرف شده و ادامهٔ روند کاهش آنها موجبات تغییرات آزمایش‌های انعقادی را فراهم می‌آورد. البته اثبات این نظریه نیاز به انجام بررسی‌های بیشتری دارد. براساس یافته‌های این تحقیق و در مقایسه با سایر بررسی‌های انجام شده در زمینه اثرات احتمالی سمیت کیست‌های گونه‌های مختلف انگل سارکوسیستیس چنین به نظر می رسد که عصاره مذکور به لحاظ ماهیت پروتئینی در صورتی که به شکل خوراکی تجویز شود با توجه به حساسیت آن در برابر اسید معده و آنزیم‌های پروتئولیتیک سمیت آن از بین رفته و انتظار بروز عوارض ناشی از آن وجود نخواهد داشت. درخصوص حرارت با توجه به تجارب سایر محققین که پروتئین سمی عصاره این کیست‌ها را حساس به حرارت گزارش نموده‌اند، مشاهده گردید که در حرارت ۶۰ درجه سانتیگراد برای مدت ۳۰ دقیقه سمیت این ماده از بین رفته و در گروهی که این عصاره را به صورت تزریقی دریافت نموده بود هیچگونه علائم بالینی دال بر سمیت و هیچ تغییر معنی داری در ارتباط با آزمایش‌های انعقادی انجام گرفته مشاهده نشد. حال آن که در گروهی که عصاره خام را به صورت تزریقی دریافت نموده بود علاوه بر تغییرات وسیع آزمایش‌های انعقادی طیف وسیعی از علائم بالینی و مرگ نیز مشاهده گردید. این امر دلالت بر حساس بودن ماده سمی عصاره سارکوسیست به حرارت دارد. بنابراین می توان چنین نتیجه‌گیری نمود که مصرف خوراکی گوشت‌های آلوده به این انگل به صورت پخته شده حداقل درخصوص علائم بالینی و آزمایش‌های انعقادی موجب بروز تغییراتی نخواهد شد و از این بابت نگرانی وجود نخواهد داشت. اگر چه ممکن است از سایر جنبه‌ها موادی در عصاره مذکور وجود داشته باشد که به لحاظ مقاوم بودن به حرارت موجب اختلالاتی که در عملکرد سایر بافت‌ها شده که طبیعتاً اثبات این موارد نیاز به انجام بررسی‌های بیشتری دارد.

References

1. Azumendi, J. L., Granda, I., Rey, Y. A., Pinzon, C., Forero, L. F., Espitia, S., Gil, M., Avello, N., Esguerra, A. and Perez, L. F. (1995) Pharmacological actions of *Sarcocystis* toxin. Revista de Salud Animal, 17: 273-284.
2. Brose, E. E., Tietz, H. Z., Montag, T., Widera, P., Volk, H. D. and Hiepe, T. (1989) *Sarcocystis gigantea* influences host reactions. Presented at the 13th conference of world Association for the Advancement of Veterinary Parasitology.
3. Dalimi Asl, A., Khodashenas, M., Nouri, A., Morovati, H.(1999) Study the ultrastructure of the sarcocyst derived from buffaloes of Khouzestan. Pajouhesh va Sazandegi. 43: 47-49.
4. Daryani, A., Alaei, R., Dehghan, M. H., Arab, R., Sharif, M. and Ziaei, H. (2006) Survey of *Sarcocystis* infection in slaughtered sheep and buffaloes in Ardabil, Iran. J. Anim. Vet. Adv. 5:60-62.
5. Dessouky, M.I., Mohammed, A. H., Nassar, A.M. and Hilali, M. (1984) Hematological and biochemical changes in buffalo calves inoculated with *Sarcocystis fusiformis* from cats. Vet. Parasitol. 14: 1-6.
6. Dey, S., Gupta, S.L., Singh, R.P., Verma, P. C. (1993) Clinical pathological changes in goats experimentally infected with *Sarcocystis capracanis*. Indian J. Vet. Med. 13: 5-8.
7. Dey, S. Gupta, S. L., Singh, R. P. (1995) Clinicohematologic findings in caprine sarcocystosis. Indian J. Anim. Sci. 65: 44-46.
8. Daugschies A., Altfeld, E., Rommel, M.(1989) Hemostatic alterations in pigs fed sublethal doses of *Sarcocystis miescheriana*. Vet. Parasitol., 34:1-13.
9. Duagschies, A., Hasche, H. O., Rommel, M. (1990) Activities of selected enzymes in the blood plasma and muscles of *Sarcocystis* infected pigs. Mitteilungen der Osterriechen Gesellschaft for Tropenmedizin and Parasitol. 12:131-139.
10. Daugschies, A., Rupp, U., Rommel, M. (1998) Blood clotting disorders during sarcocystosis in calves. Int. J. Parasitol. 28: 1187-1194.
11. Dubey. J. P. Speer, C. A., Fayer, R. (1989) Sarcocystosis of Animals and Man. CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida, USA. pp.121-215.
12. Fayer, R., Prasse, K. W. (1981) Hematology of experimental acute *Sarcocystis bovicanis* infection in calves. I. Cellular and serologic changes. Vet. Pathol. 18: 351-357.
13. Fayer R, Andrews, C., Dubey, J.P. (1988) Lysates of *Sarcocystis cruzi* bradyzoites stimulate RAW 264.7 macrophages to produce tumor necrosis factor (cachectin). J. Parasitol. 74: 660-664.
14. Hiepe, F., Litzke, L. F., Scheibner, G., Jungmann, R., Hiepe, T. and Montag, T. (1981) Unter suchungen der toxischen wirkung von Extrakten aus *Sarcocystis ovifelis*. Makrozysten owf Kaninchen. Monatsh. Veterinaermed. 36: 908-910.
15. Nakamura, Y., Saitom, Shibata, Y., Itagaki, H.(1999) Induction of tumor necrosis factor alpha and nitric oxide in rabbits inoculated with a cyst extract of *Sarcocystis cruzi*. Vet. Parasitol. 1: 85: 235-43.
16. Prasse, K.W., Fayer, R. (1981) Hematology of experimental acute *Sarcocystis bovicanis* infection in calves. II. Serum biochemistry and hemostasis studies. Vet. Pathol. 18:358-67.
17. Razi Jalali, M., Khazraee Nia, P., Haddadzadeh, H., Taheri, M.(2001) A study on the frequency of *Sarcocystis* infection in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Ahvaz abattoir. Scientific Journal of the School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz. 4:58-66.
18. Razmi, G., Rahbari, S.(2000) A survey of *Sarcocystis Spp.* in ruminants in Tehran and Golestan provinces. Scientific Journal of the School of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz. 3:36-46.
19. Saha, A. K., Srivastava, P.S., Sinha, S.R.P. (1985) Toxic effects of the extracts of *Sarcocystis fusiformis* to laboratory mice. Indian J. Anim. Sci. 55: 656-658.
20. Saleque, A., Bhatia, B.B., Juyal, P.D. and Rahman, H. (1991) Toxicity of cyst extract of *Sarcocystis fusiformis* from buffalo in rabbits and Mice. Vet. Parasitol. 38: 61-65.
21. Saito, M., Taguchik, K., Shibata, Y. Kabayashi, T., Shimura, K. and Itagaki, H. (1995) Toxicity and Properties of the extract from *Sarcocystis cruzi* cysts. J. Vet. Med. Sci. 57: 1049-51.

STUDY THE EFFECTS OF ORAL AND INTRAPERITONEAL INOCULATION OF *SARCOCYSTIS* FUSIFORMIS CYSTS EXTRACT ON THE FUNCTION OF COAGULATION SYSTEM IN RABBITS

Razi jalali, M.[1]*, Khadjeh, G. H.[1], Rasekh, A. R.[2], Khojasteh Nezhad, H.[3]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine University of Shahid- Chamran, Ahvaz-Iran.*

[2]*Department of Statistics, School of Mathematical Science and Computer, Shahid Chamran University, Ahvaz-Iran.*

[3]*Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine University of Shahid Chamran, Ahvaz-Iran.*

(Received 4 October 2005 , Accepted 21 April 2006)

Abstract:

Macrocysts of *S. fusiformis* were teased out from the oesophageal muscles of infected buffaloes and a suspension of cyst extract with protein concentration of 2mg/ml was used as uncooked (UE) and cooked (CE) form. Thirty six healthy male laboratory rabbits were divided into six equal groups randomly. Group I and II were inoculated with UE, group III and IV were inoculated with CE and group V and VI were inoculated with PBS orally and intraperitonealy (1 ml/kg) respectively. Blood samples were taken in 0, 3, 6, 24 hrs, 3 and 7 days after inoculation. Coagulation tests including BT, CT, PT, APTT, fibrinogen level and platelet count were measured at the different times which mentioned in all groups. Statistical analysis showed significant differences between different times of all tests in group II compare to other groups ($p<0.05$). The study showed that IP inoculation of UE of *S. fusiformis* at protein concentration of 2mg/ml is lethal to rabbits about 24 hr after inoculation , and caused significant changes in blood coagulation tests in different times. The results also showed that *S.fusiformis* extract toxin was thermolabile as it was inactivated at 60 ºC for 30 min. In addition oral administration of the cysts extract did not make any changes in both cooked and uncooked form. Thus it seems that orally inoculation of *S. fusiformis* cysts extract had no toxic effects on coagulation tests mentioned above in rabbits because the toxin is probably susceptible to the gastric enzymes and low pH of the stomach.

Key words: *Sarcocystis fusiformis*, extract , Sarcocystin, coagulation, rabbit.

***Corresponding author's email: jalali-m@scu.ac.ir, Tel: 0611- 3330073, Fax: 0611- 3360807**