

بررسی فراوانی عفونت سرمی توکسوپلاسمما در دامهای شهرستان مشکین شهر به روش ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم (IFA) و اهمیت بهداشتی آن

دکتر حسین کشاورز: استاد انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
E-mail: khesha@yahoo.com

دکتر مهدی محبعلی: استاد انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
وحیده شهنازی: دانشجوی دوره کارشناسی ارشد انگل شناسی دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران
ذبیح ا... زارعی: کارشناس آزمایشگاه، مرکز آموزشی و تحقیقاتی مشکین شهر
دریافت: ۱۰/۱۵/۸۵، پذیرش: ۲/۱۶/۸۶

چکیده

زمینه و اهداف: توکسوپلاسموزیس از جمله بیماریهای مشترک انسان و حیوان می باشد که از انتشار وسیعی برخوردار است. انسان عمدتاً از طریق مصرف گوشت آلوده به انگل توکسوپلاسمماگوندی به بیماری متلا میگردد. در گوسفند و بز سقط جنین و تلفات ناشی از توکسوپلاسموزیس، خسارات اقتصادی زیادی را نیز موجب می شود. با توجه به اینکه مشکین شهر از مناطق مهم دامداری بوده و سهم عمدۀ ای در تأمین گوشت منطقه دارد این مطالعه برای تعیین فراوانی عفونت سرمی توکسوپلاسمما در دامهای آن شهرستان صورت گرفته است.

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - مقطعی طی یکسال (۸۴-۸۳) نمونه خون ۳۲۰ رأس دام (۱۰۰ رأس گاو، ۱۲۰ رأس گوسفند و ۱۰۰ رأس بز) که با روش تصادفی ساده انتخاب شده بودند، اخذ و پس از جدا سازی سرم آنها آنتی بادی اختصاصی بر علیه توکسوپلاسمما به روش ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم (IFA) اندازه گیری گردید.

یافته ها: از مجموع ۱۲۰ نمونه سرم گوسفند مورد مطالعه ۵۹٪ آنها دارای آنتی بادی اختصاصی بر علیه توکسوپلاسمما با عیار ۱:۲ و بالاتر بودند. به همین ترتیب از ۱۰۰ رأس گاو مورد مطالعه تنها ۵٪ آلوده بوده اند که در مقایسه با گوسفندان، آلودگی پائینی داشته اند. در بزها میزان آلودگی ۳۶٪ تعیین گردید.

نتیجه گیری: نتایج مطالعه نشانگر بالا بودن میزان آلودگی گوسفندان و بزها در منطقه مشکین شهر میباشد. لذا پیشنهاد می گردد که چراگاههای عمومی منطقه با الگوهای بهداشتی مدیریت و با استفاده از آموزش‌های عمومی در منطقه از جمله چگونگی پختن گوشتها در غذاهای خانگی و به ویژه در رستورانها از گسترش عفونت انسان پیشگیری گردد.

کلید واژه ها: توکسوپلاسمماگوندی، ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم و عفونت سرمی

مقدمه

آلوده به اووسیست صورت می گیرد^(۱). در ایران، توکسوپلاسمماگوندی از گوشت و فراورده های گوشتی گوسفند، بز، گاو و مرغ جدا و گزارش شده است.^(۲).

بررسیهای سروپایدمیولوژی نشان می‌دهد که توکسوپلاسموزیس یکی از مهمترین عفونتهای مشترک بین انسان و دام می باشد^(۳). میزان آلودگی در مناطق مختلف جهان به دلایل ناشناخته متفاوت می باشد. عفونت در شرایط اقلیمی گرم و نواحی پست شایعتر از شرایط اقلیمی سرد و نواحی کوهستانی است. عادت فرهنگی و بهداشت مردم نیز نقش مهمی در گسترش آلودگی دارد^(۴).

بررسیهای سرمی یکی از روش‌های نشان دادن منابع مختلف آلوده کننده انسان می باشد^(۵). از آنجاییکه گوشت آلوده منبع اصلی

توکسوپلاسمماگوندی طیف وسیعی از حیوانات از جمله پستانداران و پرندگان را آلوده میکند^(۶).

گربه های خانگی و گربه سانان وحشی نقش اصلی را در انتشار این آلودگی از طریق پخش اووسیست ها ایفا می کنند^(۷). از حیوانات خانگی، گوسفند و بز پیشتر از گاو و مرغ به این انگل آلوده می گرددند^(۸). سقط جنین و مرگ و میر نوزادی در گوسفندان و بزها مهمترین تظاهر بالینی این آلودگی می باشد که تا فراوانی ۵۰٪ گزارش شده است^(۹).

مطالعات اخیر نشان داده که درصد کمی از آلودگی انسان به توکسوپلاسمماگوندی از طریق جفت بوده و آلودگی غالباً از طریق خوردن گوشت کم پخته حاوی کیست، بلع اووسیست های موجود در غذای آلوده، دست آلوده و مصرف آب و سبزیجات

فراوانی مطلق، فراوانی نسبی و تعداد کل نمونه (n) به تفکیک تیتر آنتی بادی از رقت ۱:۲ به بالاتر در سرمهای گوسفندان مورد مطالعه در جدول شماره ۱ نشان داده شده است.

طبق جدول شماره ۱ از مجموع ۱۲۰ نمونه سرم گوسفند مورد مطالعه به روش IFA، تعداد ۷۱ (۵۹ درصد) دارای آنتی بادی اختصاصی بر علیه توکسوپلاسمای با عیار ۱:۲ و بالاتر بودند که دلالت بر تماس قبلي این حیوانات با توکسوپلاسمای نماید.

در جدول شماره ۲، فراوانی مطلق، درصد فراوانی و تعداد کل نمونه به تفکیک تیتر آنتی بادی ضد توکسوپلاسمای از رقت ۱:۲ بالاتر در سرم گاوهای مورد مطالعه خلاصه شده است. از مجموع ۱۰۰ گاو مورد مطالعه تنها پنج مورد آلوده بودند که در عیار ۱:۲ مثبت بوده است.

به همین ترتیب نتیجه آزمایشات بر روی سرم های اخذ شده از بزهای شهرستان مشکین شهر در جدول شماره ۳ آورده شده که طبق این جدول ۳۶ مورد (۳۶٪ درصد) از بزهای مورد مطالعه آلوده به توکسوپلاسمای بوده اند که رقت تیتر آنتی بادی در آنها از ۱:۲ تا ۱:۱۶ می باشد.

جدول ۱: توزیع فراوانی سرمهای گوسفندان جمع آوری شده از شهرستان مشکین شهر بر حسب عیار آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی به روش IFA (سال ۸۴)

فرابوی	فرابوی	فرابوی	فرابوی
تجمعی	عیار آنتی بادی ضد	فرابوی	فرابوی
	توکسوپلاسمایی	فرابوی نسبی	فرابوی
%۴۱	%۴۱	۴۹	منفی
%۶۴	%۲۳	۲۸	۱:۲
%۷۹	%۱۵	۱۸	۱:۴
%۹۱	%۱۲	۱۴	۱:۸
%۹۶	%۵	۶	۱:۱۶
%۱۰۰	%۴	۵	۱:۳۲
%۱۰۰	%۱۰۰	۱۲۰	جمع

جدول ۲: توزیع فراوانی سرمهای گاو جمع آوری شده از شهرستان مشکین شهر بر حسب عیار آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی به روش IFA (سال ۸۴)

فرابوی	فرابوی	فرابوی	فرابوی
تجمعی	عیار آنتی بادی ضد	فرابوی	فرابوی
	توکسوپلاسمایی	فرابوی نسبی	فرابوی
%۹۵	%۹۵	۹۵	منفی
%۱۰۰	%۵	۵	۱:۲
	%۱۰۰	۱۰۰	جمع

جدول ۳: توزیع فراوانی سرمهای بز جمع آوری شده از شهرستان مشکین شهر بر حسب عیار آنتی بادی ضد توکسوپلاسمایی به روش IFA (سال ۸۴)

فرابوی	فرابوی	فرابوی	فرابوی
تجمعی	عیار آنتی بادی ضد	فرابوی	فرابوی
	توکسوپلاسمایی	فرابوی نسبی	فرابوی
%۶۴	%۶۴	۶۴	منفی
%۸۲	%۱۸	۱۸	۱:۲
%۹۴	%۱۲	۱۲	۱:۴
%۹۸	%۴	۴	۱:۸
۱۰۰	%۲	۲	۱:۱۶
	۱۰۰	۱۰۰	جمع

آلودگی انسان به عفونت توکسوپلاسمای گوندی می باشد، لذا بررسی شیوع آلودگی حیوانات تأمین کننده گوشت مصرفی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. با توجه به اینکه عمدۀ گوشت مصرفی مردم آذربایجان از گوسفند و گاو تأمین می گردد و منطقه مشکین شهر عمدۀ نیاز گوشت منطقه را تأمین می کند لذا در این تحقیق فراوانی عفونت سرمی توکسوپلاسمای گوندی در دامهای شهرستان مشکین شهر به روش IFA مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش ها

میزان ده میلی لیتر خون از ۱۰۰ رأس گاو، ۱۲۰ رأس گوسفند و ۱۰۰ رأس بز که با روش تصادفی ساده از مناطق مختلف شهرستان، چراگاههای عمومی و کشتارگاهها انتخاب شده بودند، اخذ و آنها را به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۲۰۰ سانتیمتر فیوژر نمودیم. سرم های جدا شده در ۲۰ درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری شدند. جهت آزمایش ابتدا سرمها را با محلول رقیق کننده PBS به نسبتها ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲ و ۱:۶۴ و ۱:۱۶ رقیق و برای اندازه گیری و تعیین تیتر آنتی بادی آنها از روش IFA (ایمونو فلئورسانس آنتی بادی غیر مستقیم) استفاده کردیم. در این روش ابتدا آنتی ژن فیگوره توکسوپلاسمای گوندی (تاکی زوئیت) را در آزمایشگاه سروولوژی توکسوپلاسموز گروه انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران تولید و سپس بر روی لام میکروسکوپی پوشانیده شدند. در مرحله بعد رقت های مختلف تهیه شده از سرم حیوانات تحت بررسی را به روی لام اضافه کرده تا در صورت وجود آنتی بادیهای اختصاصی در سرم به آنتی ژن فیکس شده در روی لام متصل شوند. پس از انکوباسیون و انجام شستشو، کونژوگه های اختصاصی رقیق شده ضد گاوی، گوسفندی و بزی نشاندار شده با ماده فلوروسین را به روی لام اضافه و نیم ساعت در اتاقک مرطوب قرار دادیم تا در صورت وجود کمپلکس آنتی ژن - آنتی بادی، کونژوگه به آن متصل گردد. سپس لام را سه بار شسته و بعد از موئنه کردن در بافر گلیسیرین PBS، توسط میکروسکوپ ایمنوفلئورسانس لامها را مطالعه نمودیم. جهت تأیید روش و تعیین تیتر گونژوگه های اختصاصی (تیتر گوشتی Anti Goat و Anti Sheep، Anti Bovine حاب تک) از سرمهای مثبت و منفی شاهد تهیه شده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران استفاده شد.

یافته ها

در این بررسی، مجموعاً ۳۲۰ نمونه سرم حیوانات اهلی شامل گوسفند (۱۲۰ رأس)، گاو (۱۰۰ رأس) و بز (۱۰۰ رأس) که توسط کارشناس ایستگاه تحقیقات بهداشتی مشکین شهر جمع آوری شده و در شرایط مطلوب به دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران ارسال گردیده بود با روش IFA از نظر وجود آنتی بادیهای ضد توکسوپلاسمایی در رقت های مختلف (۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲، ۱:۶۴ و ۱:۱۲۸) مورد آزمایش قرار گرفتند.

گوسفندان ۲۰۰٪ (۱۰) و خزانی در ۲۰۰ گوسفند از منطقه اردبیل میزان آلودگی را ۳۱٪ گزارش نموده است (۱۲). چاکر رضا میزان شیوع توکسوپلاسموزیس را در ۱۶۰ گوسفند اطراف تهران با روش IFA با عیار ۱:۱۶ به بالا ۵۸٪ برآورده کرده است (۱۳). نتایج این تحقیق نشان میدهد که آلودگی گوسفندان در منطقه مشکین شهر بسیار بیشتر از سایر مناطق کشوری می‌باشد که تا بحال گزارش شده است. بنظر میرسد که وجود چراگاههای گسترشده و غیر قابل کنترل در منطقه برای گوسفندان زمینه لازم را برای آلودگی گسترش آنها فراهم آورده است. این یافته تأثیری بر یافته‌های مطالعات قبلی شمالغرب ایران می‌باشد بطوريکه روبانی و همکارانش در شمالغرب (۱۶) و خزانی در اردبیل نیز به این مهم اشاره کرده اند (۱۲).

Astrid و همکارانش در سال ۲۰۰۰ شیوع آلودگی بزرگ توکسوپلاسمما را در مناطق مختلف جهان از صفر تا ۷۷٪ گزارش نموده اند (۱۷). مقایسه نتایج بدست آمده از مطالعات مختلف نشان میدهد که این اختلاف گسترش ناشی از اختلاف جغرافیایی، آب و هوایی، زمان مطالعه، سن حیوانات و استفاده از متولژی مختلف برای بررسی بوده است (۱۷). بر اساس مطالعات Dubey و همکارانش شیوع آلودگی در اروپا از ۴۲٪ در آلمان، ۶۳٪ در اسپانیا تا ۷۷٪ در فرانسه متفاوت است (۱۸).

حقوقی راد میزان آلودگی از اهواز را ۱۳٪ (۱۱) و خزانی در مطالعه ای در ۵۳۰ بزرگ آنرا ۲۰٪ (۱۲)، هاشمی فشارکی با استفاده از تست LAT میزان آلودگی در ۲۰۰ بزرگ اردبیل را ۱۵٪ برآورده کرده است (۱۰). چاکر رضا در پایاننامه خود که با روش LAT و IFA توأمًا انجام داده در صد آلودگی نمونه‌های سرم ۶۲ بزرگ جمع آوری شده از کشتارگاههای اطراف تهران ۷/۶٪ ذکر کرده است (۱۳). در این مطالعه میزان آلودگی در ۱۰۰ سرم بزرگ منطقه مشکین شهر ۳۴٪ می‌باشد که بیشتر از گزارش حقوقی راد از اهواز و برآورده هاشمی فشارکی از کل ایران و خزانی از اردبیل میباشد.

پیشنهادات

نتایج این مطالعه نشان میدهد که گاوها در منطقه کمترین آلودگی را دارند، لذا بررسی علل این امر و تعمیم نتایج آن به نگهداری و چرای گوسفند و بزرگ میتواند در بومی کردن مبارزه با گسترش عفونت توکسوپلاسمما نقش بسزایی داشته باشد با توجه به بالا بودن عفونت در گوسفندان که عملده ترین منبع گوشت مصرفی منطقه می‌باشد، میتوان عمدۀ ترین علت آلودگی انسانی را در منطقه به آن نسبت داد. جهت جلوگیری از گسترش آلودگی انسانی پیشنهاد می‌گردد که مزارع و چراگاهها با اصول بهداشتی مدیریت گرددند، آموزش عمومی لازم در استفاده از گوشت و فراورده‌های آن در منطقه صورت گیرد و اقدامات پیشگیرانه عمومی توسط مراکز بهداشتی جهت پاکسازی منطقه به عمل آید.

بحث و نتیجه گیری

توکسوپلاسموزیس در حیوانات اهلی از جمله گوسفند، گاو و بزرگ بعلت اهمیت بهداشتی آن مورد توجه بوده و به همین علت شیوع آن در کشورهای مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است. نتایج این مطالعه برروی میزان عفونت توکسوپلاسمما گوندی در حیوانات اهلی منطقه مشکین شهر نشان میدهد که گاوها ۵ درصد، گوسفندان ۶۰ درصد و بزرگها ۳۶ درصد دارای عفونت توکسوپلاسمایی بوده اند.

میزان آلودگی گاوها به توکسوپلاسمما در کشورهای مختلف دنیا بسیار متفاوت می‌باشد. این میزان در مناطق مختلف دنیا از صفر تا ۹۹٪ (۹) و در اروپا از ۲ تا ۵٪ (۵) گزارش شده است. اطلاعات جمع آوری شده در ارتباط با شیوع توکسوپلاسموزیس در حیوانات بایستی بدقّت مورد بررسی قرار گیرد. چرا که میزان آلودگی به انگل در مناطق مختلف جغرافیایی یک کشور نیز متفاوت می‌باشد. بطوريکه میزان آلودگی گاوها در هلند از ۱۳٪ تا ۴۳٪ از شهرهای مختلف آن گزارش شده است (۵).

هاشمی فشارکی در سال ۱۹۹۶ در یک مطالعه ای که بر روی ۲۰۰ گاو انجام داده میزان آلودگی را در ایران صفر در صد گزارش نموده است (۱۰). حقوقی راد این میزان را در گاوها اهواز در سال ۱۹۹۳ حدود ۱۵٪ (۱۱)، خزانی میزان آلودگی گاوها می‌باشد که میزان آلودگی را در سال ۲۰۰۵، ۲۰۰۵ در یک مطالعه ای که بر روی شیوع پایین آلودگی به توکسوپلاسمما در منطقه مشکین شهر با نتایج هاشمی فشارکی هم خوانی داشته ولی با نتایج سایر محققین متفاوت میباشد. همچنین مقایسه نتایج حاصل از این مطالعه و مطالعات هاشمی فشارکی و حقوقی راد با گزارشات جهانی نشان میدهد که میزان آلودگی گاوها به توکسوپلاسمما در ایران نسبت به سایر مناطق دنیا بسیار پایین می‌باشد. با اینکه اختلاف در نتایج حاصله میتواند به علت استفاده از متدهای مختلف سرولوژیکی باشد به طوریکه ما از روش IFA و بعضی از محققین دیگر از روش‌های ELISA و LAT استفاده کرده اند با این حال مطالعات اختلاف معنی داری را بین نتایج حاصله مایبن روشهای مختلف نشان نداده اند (۱۳). لذا پایین بودن درصد آلودگی در گاوها این منطقه نسبت به مناطق مختلف دیگر جهان باستثنی مورد توجه قرار گیرد. همانند گاو، آلودگی گوسفندان به توکسوپلاسمما گوندی نیز بسیار متغیر و گسترشده است. درصد آلودگی از صفر تا ۹۶٪ از کشورهای مختلف گزارش شده است (۱۴). بر اساس تخمین Fayer در سال ۱۹۸۱ میزان شیوع آلودگی گوسفندان به انگل در سطح دنیا بطور متوسط در حدود ۳۱٪ میباشد (۱۵). گزارشات اخیر از اروپا میزان آلودگی را بین ۴ تا ۹٪ نشان میدهد (۵).

حقوقی راد در سال ۱۹۹۳ شیوع عفونت با توکسوپلاسمما گوندی را در اهواز ۱۴٪ (۱۱)، هاشمی فشارکی در سال ۱۹۹۶ این میزان را در ۲۲۰۹ نمونه با روش LAT در

References

1. Pepin M., Russo f, Pardon P.: Public health hazards from small ruminant meat product in Europe. *Rev sci Teach IntEpiz* 1997; **16**: 415-425.
2. Dubey J. P, welcome F. L: Toxoplasma gondii induced abortions in sheep. *JAVMA*, 1988; **193**: 698-700
3. Georgi JR: *Parasitology for Veterinarians*. Philadelphia. 1st ed., WB Saunders, 1985; PP: 257-69
4. Dubey J.P, Beattie C.P: *Toxoplasmosis of animals and man*. Boca Raton, Fla: CRC Press. 1988; PP: 220-250
5. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM: Toxoplasmagondii: from animals to humans. *Int J parasitol*. 2000; **30**: 1217 -58
6. Hoghooghi Rad N, Afraa M: Prevalence of Toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz. *J Trop Med Hyg*. 1993; **69**: 8 – 163
7. Mariana W., James B: Laboratory Diagnosis of Toxoplasmosis. *Clinics in Lab. Medicine*. 1991; **11** (4): 923-35
8. Guada lufe Miro, Ana Montoya, Jimenez, et al. Prevalence of antibodies to Toxoplasma gondii and intestinal Parasites in stray, Farm and household cats in spain. *Vet. Parasitol* 2004; **126**: 249-550.
9. Hall, S., Ryan, M., Buxton, M: *The epidemiology of toxoplasma infection: a Comprehensive Clinical Guide*. Cambridge University Press, Cambridge 1st ed, 2001; pp.: 58-124
10. Hashemi-Fesharki R: seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats in Iran. *Vet Parasitol*. 1996; **61**: 1-3.
11. Hoghooghi-Rad N, Afraa M: Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz, capital of Khuzestan Province, south-west Iran. *J Trop Med Hyg*, 1993; **96**: 163-8.
12. Ciamak Ghazai: Serologic Survey of Antibodies to Toxoplasma gondii in Ardabil, Iran. *Intern. J. Appl. Res. Vet. Med.* 2005; **13**(1): 44-47
13. چاکر رضا-الهام تهیه آنتی ژن توکسوبلاسمایگوندی جهت لاتکس آگلوتیناسیون و مقایسه این تست با IFA تست در تشخیص عفونت توکسوبلاسمای در حیوانات اهلی. (۱۳۷۸): پایاننامه جهت اخذ کارشناسی ارشد در رشته انگل شناسی پزشکی از دانشکده بهداشت - دانشگاه علوم پزشکی تهران
14. Ivana Klun, Olgica Djurkovic-Djakovic Sofija Katic-Radivojevic, Aleksandra Nikolic: Cross-sectional survey on Toxoplasma gondii infection in cattle, sheep and pigs in Serbia. Seroprevalence and risk factors. *Vet Parasitol*, 2005; **13**(2): 33- 43
15. Fayer R. Toxoplasma update and public health implications. *can vet J* 1981; **22**: 344-352
16. Ghorbani M, Edrissian GH, Afshar A: serological survey of human Toxoplasmosis in the northern part of Iran using indirect fluorescent antibody technique. *Trans Res soc Trop Med Hyg* 1981; **79**: 4-49.
17. Astrid M. Tenter, Anja R. Heckeroth, Louis M. Weiss. Toxoplasma gondii: from animals to humans. *Int. J. for Parasitology* 2000; **30**: 1217-1258
18. Dubey JP, Adams DS. Prevalence of Toxoplasma gondii antibodies in dairy goats from 1982 to 1984. *J Am Vet Med Assoc* 1990; **196**: 295-6.