

بررسی فراوانی عفونت سرمی توکسوپلازما 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
وحید 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: ۸۵/۱۰/۱۵، پذیرش: ۸۶/۲/۱۶

چکیده

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

روش بررسی: در این مطالعه توصیفی - مقطعی طی یکسال (۸۳-۸۴) 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 توکسوپلازما 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 توکسوپلازما 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: توکسوپلازماگوندی، ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم و عفونت سرمی

مقدمه

آلوده به اووسیست صورت می گیرد (۵). در ایران، توکسوپلازماگوندی از گوشت و فرآورده های گوشتی گوسفند، بز، گاو و مرغ جدا و گزارش شده است (۶). بررسیهای سرواپیدمیولوژی نشان میدهد که توکسوپلازموزیس یکی از مهمترین عفونتهای مشترک بین انسان و دام می باشد (۷). 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 (۷).

بررسیهای سرمی یکی از روشهای نشان دادن منابع مختلف آلوده کننده انسان می باشد (۸). از آنجائیکه گوشت آلوده منبع اصلی

توکسوپلازماگوندی طیف وسیعی از حیوانات از جمله پستانداران و پرندگان را آلوده میکند (۱).

گره های خانگی و گربه سانان وحشی نقش اصلی را در انتشار این آلودگی از طریق پخش اووسیست ها ایفا می کنند (۲). از حیوانات خانگی، گوسفند و بز بیشتر از گاو و مرغ به این انگل آلوده می گردند (۳). 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 (۴).

مطالعات اخیر نشان داده که درصد کمی از آلودگی انسان به توکسوپلازماگوندی 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 تیترا 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 توکسوپلازما با عیار ۱:۲ و بالاتر بودند که دلالت بر تماس قبلی این حیوانات با توکسوپلازما می نماید.

در جدول شماره ۲، فراوانی مطلق، درصد فراوانی و تعداد کل نمونه به تفکیک تیترا آنتی بادی ضد توکسوپلازما 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 توکسوپلازما بوده اند که رقت تیترا 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 توکسوپلازما (IFA (سال ۸۴)

| فراوانی تجمعی | فراوانی | | عیار آنتی بادی توکسوپلازما |
|------------------|---------|------|-------------------------------|
| | نسبی | مطلق | |
| 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 توکسوپلازما (IFA (سال ۸۴)

| فراوانی تجمعی | فراوانی | | عیار آنتی بادی توکسوپلازما |
|------------------|---------|------|-------------------------------|
| | نسبی | مطلق | |
| 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 توکسوپلازما (IFA (سال ۸۴)

| فراوانی تجمعی | فراوانی | | عیار آنتی بادی توکسوپلازما |
|------------------|---------|------|-------------------------------|
| | نسبی | مطلق | |
| 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 توکسوپلازما گوندی می باشد، لذا بررسی شیوع آلودگی حیوانات تأمین کننده گوشت مصرفی از اهمیت ویژه ای برخوردار می باشد. با توجه به اینکه عمده گوشت مصرفی مردم آذربایجان از گوسفند و گاو تأمین می گردد و منطقه مشکین شهر عمده نیاز گوشت منطقه را تأمین می کند لذا در این تحقیق فراوانی عفونت سرمی توکسوپلازما 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 ۲۰۰۰ سانتریفوژ 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 نسبتهای ۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲ و ۱:۶۴ رقیق و برای اندازه گیری و تعیین تیترا آنتی بادی آنها از روش IFA (ایمونو فلئورسانس آنتی بادی غیر مستقیم) استفاده کردیم. در این روش ابتدا آنتی ژن فیگوره توکسوپلازما گوندی (تاکی زوئیت) را در آزمایشگاه سرولوژی توکسوپلازما گوندی 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 بادهای 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 بزنی نشاندار شده با ماده فلوروسئین 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 مونته کردن در بافر گلیسرین PBS، توسط میکروسکوپ ایمنو فلئورسانس لامها را مطالعه نمودیم. جهت تأیید روش و تعیین تیترا گونژوگه های اختصاصی Anti Bovine، Anti Sheep، Anti Goat (تهیه شده از شرکت 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 بادهای ضد توکسوپلازما گوندی در رقت های مختلف (۱:۲، ۱:۴، ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲، ۱:۶۴ و ۱:۱۲۸) مورد آزمایش قرار گرفتند.

بحث و نتیجه گیری

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

میزان آلودگی گاوها به توکسوپلاسمای کشورهای مختلف دنیا بسیار متفاوت می باشد. این میزان در مناطق مختلف دنیا از صفر تا ۹۹٪ (۹) و در اروپا از ۲ تا ۹۲٪ (۵) گزارش شده است. اطلاعات جمع آوری شده در ارتباط با شیوع توکسوپلاسموزیس در حیوانات بایستی بدقت مورد بررسی قرار گیرد. چرا که میزان آلودگی به انگل در مناطق مختلف جغرافیایی یک کشور نیز متفاوت می باشد. بطوریکه 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 ۲۰۰۰ گاو انجام داده میزان آلودگی را در ایران صفر درصد گزارش نموده است (۱۰). حقوقی راد این میزان را در گاوهای اهواز در سال ۱۹۹۳ حدود ۱۵٪ (۱۱)، خزائی میزان آلودگی گاوهای منطقه اردبیل را در سال ۲۰۰۵، ۹٪ گزارش نموده است (۱۲). شیوع پایین آلودگی به توکسوپلاسمای منطقه مشکین شهر با نتایج هاشمی فشارکی هم خوانی داشته ولی با نتایج سایر محققین متفاوت می باشد. همچنین مقایسه نتیجه حاصل از این مطالعه و مطالعات هاشمی فشارکی و حقوقی راد با گزارشات جهانی نشان می‌دهد که میزان آلودگی گاوها به توکسوپلاسمای ایران نسبت به سایر مناطق دنیا بسیار پایین می باشد. 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 مابین روشهای مختلف نشان نداده اند (۱۳). لذا پایین بودن درصد آلودگی در گاوهای این منطقه نسبت به مناطق مختلف دیگر جهان بایستی مورد توجه قرار گیرد. همانند گاو، آلودگی گوسفندان به توکسوپلاسمای گوندی نیز بسیار متغیر و گسترده 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٪ می باشد (۱۵). گزارشات اخیر از اروپا میزان آلودگی را بین ۴ تا ۹۲٪ نشان می‌دهد (۵).

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

گوسفندان ۲۴٪ (۱۰) و خزائی 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 ۵۸/۸٪ بر آورده کرده است (۱۳). نتایج این تحقیق نشان می‌دهد که آلودگی گوسفندان در منطقه مشکین شهر بسیار بیشتر از سایر مناطق کشوری می باشد که تا بحال گزارش شده است. بنظر میرسد که وجود چراگاههای گسترده و غیر قابل کنترل در منطقه برای گوسفندان زمینه لازم را برای آلودگی گسترده آنها فراهم آورده است. این یافته تأییدی بر یافته های مطالعات قبلی شمالغرب ایران می باشد بطوریکه قربانی و همکارانش در شمالغرب (۱۶) و خزائی در اردبیل نیز به این مهم اشاره کرده اند (۱۲).

Astrid و همکارانش در سال ۲۰۰۰ شیوع آلودگی بز به توکسوپلاسمای 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 گسترده ناشی از اختلاف جغرافیایی، آب و هوایی، زمان مطالعه، سن حیوانات و استفاده از متدلوژی 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 خزائی در مطالعه ای در ۵۳۰ بز آنرا ۲۰٪ (۱۲)، هاشمی فشارکی با استفاده از تست LAT میزان آلودگی در ۲۰۰ بز منطقه اردبیل را ۱۵٪ بر آورد کرده است (۱۰). چاکر رضا در پایان نامه خود که با روش LAT و IFA توأمآ انجام داده در صد آلودگی نمونه های سرم ۶۲ بز جمع آوری شده از کشتارگاههای اطراف تهران را ۶۷٪ ذکر کرده است (۱۳). در این مطالعه میزان آلودگی در ۱۰۰ سرم بز منطقه مشکین شهر ۳۴٪ می باشد که بیشتر از گزارش حقوقی راد از اهواز و برآورد هاشمی فشارکی از کل ایران و خزائی از اردبیل می باشد.

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 بز می‌تواند در بومی کردن مبارزه با گسترش عفونت توکسوپلاسمای نقش بسزایی داشته باشد با توجه به بالا بودن عفونت در گوسفندان که عمده ترین منبع گوشت مصرفی منطقه می باشد، می‌توان عمده ترین علت آلودگی انسانی را در منطقه به آن نسبت داد. جهت جلوگیری از گسترش آلودگی انسانی پیشنهاد می گردد که مزارع و چراگاهها با اصول بهداشتی مدیریت گردند، آموزش عمومی لازم در استفاده از گوشت و فرآورده های آن در منطقه صورت گیرد و اقدامات پیشگیرانه عمومی توسط مراکز بهداشتی جهت پاکسازی منطقه به عمل آید.

References

1. Pepin M., Russo f, Pardon P.: Public health hazards from small ruminant meat product in Europe. *Rev sci Teach IntEpi* 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, Heckerroth AR, Weiss LM: Toxoplasma gondii: 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 lupe Miro, Ana Montoya, Jimenez, et al. Prevalence of antibodies to Toxoplasma gondii and intestinal Parasites in stray, Farm and household cats in Spain. *Vet. Parsitol* 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
۱۳. چاکر رضا- الهام تهیه آنتی ژن توکسوپلازما گوندی جهت لاتکس آگلوتیناسیون و مقایسه این تست با IFA تست در تشخیص عفونت توکسوپلازما در حیوانات اهلی. (۱۳۷۸): پایان نامه 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 Parsitol*, 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. Heckerroth, 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.