Archive of SID

شیوع سارکوسیستوزیس در شتران کشتار شده در کشتارگاه نجف آباد

سید رضا حسینی[۱*]، عباس عطایی [۲]، ابراهیم رحیمی[۳]، محسن جعفریان[٤]

۱- استادیارگروه آموزشی پاتوبیولوژی، دانشکده ی دامپزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۲- دانش آموخته ی دانشکده ی دامپزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

۳- استادیارگروه آموزشی بهداشت مواد غذایی، دانشکده ی دامپزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

٤- گروه آموزشی علوم درمانگاهی ، دانشکده ی دامپزشکی ، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران.

***نویسنده مسئول**: *dr.s.reza@gmail.com*

چکیده

سارکوسیست ها تک یاخته هایی داخل سلولی و دو میزبانه هستند که اساس ارتباط بین میزبان های اصلی و واسط بر رابطه ی غذایی بین شکار و شکارچی است. مرحله تولید مثل غیر جنسی انگل در میزبان واسط با هضم اووسیست های خورده شده شروع می شود و در نهایت به کیست های عضلانی تبدیل می شود. در این مطالعه میزان شیوع تک یاخته *سارکوسیستیس کملی* در ۱۰۰ عدد از شتران کشتار شده در کشتارگاه شهرستان نجف آباد با استفاده از دو روش تهیه اسمیر فشاری و هضم آنزیمی و مقایسه این دو روش با یکدیگر بود. برای انجام این مطالعه نمونه های دیافراگم، مری و زبان از شتران مورد بررسی اخذ و با دو روش هضم آنزیمی و گسترش فشاری مورد بررسی قرار گرفتند. بر پایه آزمون اسمیر فشاری ۳۱ درصد از نمونه به این انگل آلوده بودنددرصد آلودگی در نمونه های زبان، دیافراگم و مری به ترتیب ۱۵درصد ، ۱۷درصد و ۱۱درصد بود. درصد شیوع آلودگی در روش هضم اسیدی ٦۰/۸ درصد بود. تفاوت معنی داری($p\leq$ ۰/۰۵) از نظر حضور آلودگی در جنس نر و ماده مشاهده نشد ولی آلودگی بین شتران سنین کمتر از ۳ سال و بالای ۵ سال تفاوت معنی داری ($p\leq$ ۰/۰۵) مشاهده شد. همچنین هیچ آلودگی با حضور ماکروکیست دیده نشد.

واژه های کلیدی: سارکوسیست، شتر، دیافراگم، مری، زبان

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

سارکوسیست ها تک یاخته هایی از خانواده ی سارکوسیستیده (Sarcocystidae) و از شاخه ی آپی کمپلکسا (Apicomplexa) و دو میزبانه هستند. میزبان واسط این انگل عمدتاً علفخواران و انسان است و میزبان اصلی گوشتخوارانی مثل سگ و گربه می باشند. سیر تکاملی این تک یاخته به دو شکل است که در ابتدا در داخل روده میزبان اصلی تکثیر وتمایز می یابند. بدین صورت که ابتدا اسپروزوایت ها وارد روده می شوند و طی یکسری تقسیمات به شیزونت نسل اول و سپس مروزوایت نسل اول تبدیل می شوند. سپس شیزونت های نسل دوم و مروزوایت های نسل دوم و در نهایت میکروگامت ها و ماکروگامت ها شکل می گیرند. نتیجه ی لقاح جنسی اووسیست ها هستند که از راه مدفوع دفع می شوند. این مرحله از سیر تکاملی انگل در بدن میزبان اصلی اتفاق می افتد و فاقد هر گونه از علائم بالینی می باشد(۱). میزبان واسط باخوردن اووسیست های دفع شده از بدن میزبان اصلی مبتلا می شود. در بدن میزبان واسط اسپروزوایت ها از داخل اووسیست ها آزاد و وارد سلول های آندوتلیال عروق لنفی می شوند.در این سلول ها شیزونت های نسل اول ایجاد می شود. سپس شیزونت های نسل دوم در داخل مویرگ های مغز و کلیه ایجاد می شوند. به همین ترتیب شیزونت های نسل سوم در داخل مونوسیت ها و شیزونت های نسل چهارم در عضلات ایجاد می شوند(۲). حضور این انگل در برخی از میزبان های واسط باعث ایجاد بیماری و بروز علایمی همچون کاهش اشتها وکم خونی و موریختگی و بیرون زدگی چشم ها از حدقه و ادم تحت فکی و حتی سقط جنین می شود. بعد از ایجاد شیزونت های نسل سوم افزایش انگل را در خون حدود سه هفته پس از شروع آلودگی داریم (۱ و۳). از جمله گونه های این تک یاخته که در شتر ایجاد آلودگی می کند *Sarcocystis cameli* را می توان نام برد . کیست های این انگل اصولاً به صورت میکروشیزونت می باشند(٤) . البته نوع ماکرو شیزونت آن هم وجود دارد (۵). محل این کیست ها ممکن است بر روی مری، عضلات دیافراگم، بین دنده ای، جوشی، سه سربازو، قلب و همچنین عضلات ران باشد (۲ و ٤). با توجه به اهمیت این انگل که به صورت مشخصی در کیفیت گوشت و میزان بازاریابی آن مؤثر می باشد مطالعه ی حاضر با هدف بررسی شیوع سارکوسیست ها در شترهای کشتار شده درکشتارگاه نجف آباد انجام گرفت .

مواد و روش کار

در این مطالعه در مجموع ۳۰۰ نمونه زبان ، مری و دیافراگم از ۱۰۰ عدد شتر کشتار شده در کشتار گاه نجف آباد جمع آوری شد. نمونه گیری در چهار فصل سال ۱۳۸٦ به صورت مساوی در هر فصل ۷۵ نمونه از ۲۵ عدد شتر جمع آوری شد. با ورود هر شتر به سالن کشتار اطلاعات لازم نظیر سن و جنس آن در جداول توصیفی ثبت و بعد از کشتار نمونه های لازم از نواحی مذکور (زبان ، مری و دیافراگم) اخذ شد و در ظرف نمونه گیری مجزا قرار داده شد. سپس نمونه های جمع آوری شده در مجاورت یخ به آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد انتقال داده شدند. لازم به ذکر است که برای جلوگیری از تخریب دیواره

www.SID.ir

Archive of SID

ی کیست های مورد نظر، تمامی مراحل انجام کار و انتقال در کنار یخ و در ظروف حاوی یخ انجام شد(٦).

تهیه ی نمونه ها به صورت اسمیر فشاری: تکه ای از نمونه را به وسیله پنس گرفته و با کمک تیغ اسکالپل سطح آن برش داده شد تا نواحی عمیق تر در دسترس باشد. سپس هر نمونه را میان دو لام قرار گرفت و بافشاری متعادل که باعث شکستن لام ها نگردد فشرده شدند و پس از خشک شدن به روش گیمسا رنگ آمیزی شدند. بدین ترتیب که در ابتدا برروی لام الکل اتانول ریخته به نحوی که کل سطح لام را الکل بپوشاند. پس از گذشت سه دقیقه و خشک شدن الکل در سطح لام رنگ آمیزی با رنگ گیمسا انجام گرفت. غلظت رنگ دراین آزمایش ۱ به ۱۰ ومدت زمان لازم جهت رنگ آمیزی لام ۲۰ دقیقه بود. پس از اتمام زمان مذکور شستشوی لام با آب و خشکاندن آن انجام گرفت. لام های تهیه شده در زیر میکروسکوپ نوری و با استفاده از عدسی ۱۰۰ شئی و روغن مورد مشاهده قرار گرفتند(۷).

تهیه ی نمونه ها به روش هضم آنزیمی : پنجاه و یک نمونه از نمونه های اخذ شده به تفکیک درون هاون چینی له و سپس توسط اسید سولفوریک درصد۱ هضم شدند شیرابه ی حاصل از حل شدن نمونه ها به مدت ۳ الی ۵ دقیقه در ۲۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و رسوب گیری شدند . رسوب حاصله برروی لام منتقل شد. پس از خشک شدن لام ها، نمونه ها رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار گرفتند.. نتایج به دست آمده با استفاده از نرم افزار اکسل و آزمون منبع کای در سطح اطمینان ۹۵ درصد بررسی شد.

نتایج

نتایج حاصل از روش اسمیرفشاری : از میان ۱۰۰ عدد شتر (۵۷ عدد شتر نر و ٤٣ عدد ماده) بررسی شده از نظر آلودگی به سارکوسیستیس کملی ۳۱ شتر (۳۱ درصد) آلوده تشخیص داده شد. بررسی میزان آلودگی به تفکیک اعضای مطالعه شده نشان داد ۱۱ نمونهٔ از نمونه های مری ، ۱۷ نمونه از نمونه های دیافراگم و ۱۵ نمونه از نمونه های زبان حامل سارکوسیتیس کملی بوده است (نمودار ۱). اگر چه بیشترین آلودگی در دیافراگم (۱۷درصد) و کمترین آلودگی در ناحیه مری (۱۱درصد) مشاهده شد اما اختلاف آماری معنی داری بین این اجزای مشاهده نشد ($p> ۰/۰۵$).

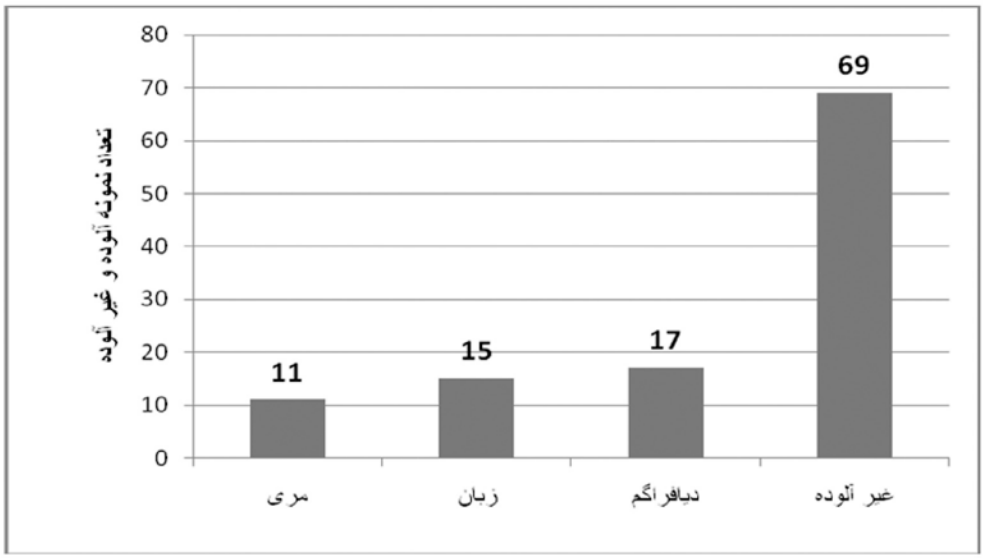
نتایج میزان آلودگی شتران به سارکوسیستیس کملی حاکی از آن است که۲۵/۸۰ درصد ازشتران آلوده زیر ۳ سال ، ۲۵/۸۰ درصد بین ۳ تا ۵ سال و ۳۸/ ٤٨ درصد بالاتر از ۵ سال سن آلوده بودند (نمودار شماره ۲). از لحاظ آلودگی در دو جنس نر وماده تفاوت معنی داری مشاهده نشد و آلودگی هر دو جنس تقریباً به صورت مساوی بود.

نتایج حاصل از روش هضم آنزیمی : در این مطالعه با هدف مقایسه دو روش اسمیر فشاری و هضم بافتی در ردیابی سارکوسیست ها در نمونه های شتر، ۱۵۳ نمونه ی اخذ شده از ۵۱ عدد شتر پس از هضم آنزیمی مورد بررسی قرارگرفتند. نتایج این بخش از مطالعه نشان دهنده ی اختلاف معنی داری بین میزان آلودگی با دو روش اسمیر فشاری و هضم بافتی وجود دارد. میزان آلودگی نمونه ها به این تک یاخته در روش هضمی نزدیک به دو برابر یعنی ٦۰/۷۸ درصد برآورد شد. بررسی اختلاف فصلی در روش هضم آنزیمی نتایج

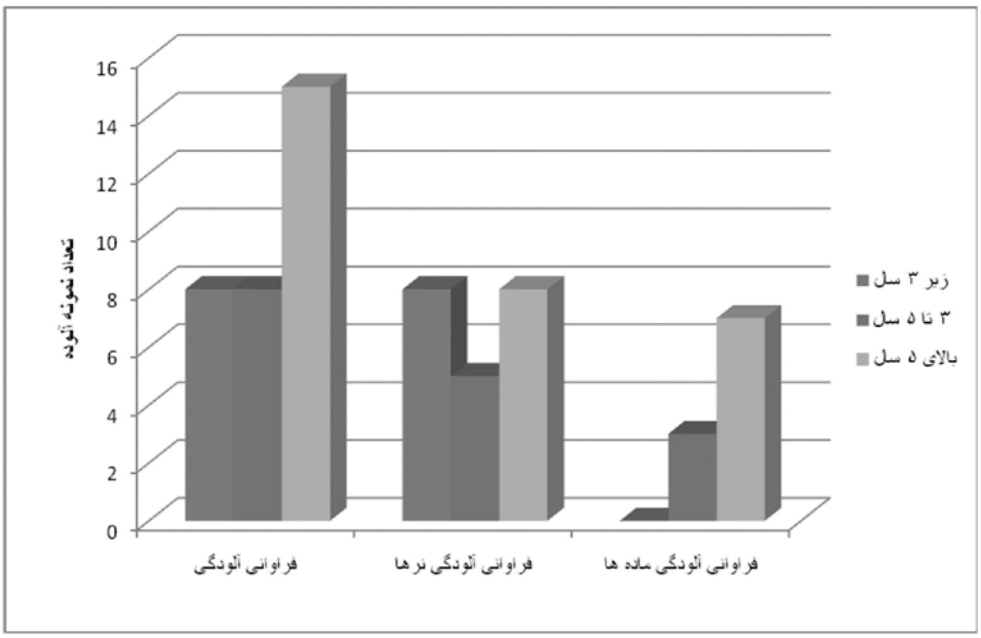
www.SID.ir

Archive of SID

مشابه روش تهیه اسمیر فشاری را نشان داد بیشترین میزان آلودگی مربوط به گروه سنی بالای ۵ سال (۵۶/۶۶ درصد) و کمترین میزان آلودگی مربوط به گروه سنی زیر ۳ سال بود(۱۳/۳۳ درصد) . در گروه سنی ۳ تا ۵ سال نیز میزان الودگی ۳۰ درصد بود.



نمودار ۱- تعداد نمونه های غیر آلوده و آلوده به سارکوسیستیس کملی در بافت های مختلف شتر به روش تهیه اسمیر فشاری



نمودار ۲- فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس کملی در سنین مختلف شتران مورد مطالعه به تفکیک جنس به روش تهیه اسمیر فشاری

www.SID.ir

Archive of SID

بحث و نتیجه گیری

تحقیقی در سال ۲۰۰۱ توسط ولدمسکل و گامی در کشور اتیوپی با هدف بررسی شیوع سارکوسیست بر روی ۱۲۱ عدد شتر بالغ به روش رنگ آمیزی هماتوکسیلین وائوزین انجام شد. نتایج حاصل از این تحقیق بیانگر آلودگی ٤٥/٤٥ درصد شتران بود . همچنین طی این تحقیق بیشترین میزان آلودگی در مری گزارش شده است . اختلاف معنی داری در بروز آلودگی بین دو جنس نر و ماده نیز وجود نداشت(۸).

همچنین طی تحقیقی که توسط بارو و همکاران در سال ۱۹۸۹ در کشور سومالی بر روی ۲۰۰ عدد شتر حاکی از آلودگی ۸۲/۵ درصد از شترها آلودگی به تک یاخته سارکوسیت را نشان دادند(۵) .

تحقیق دیگری در سال ۱۹۹٦ توسط فاتانی و همکارانش در کشور عربستان بر روی ۱۰۳ عدد شتر انجام گرفت. نمونه هایی از مری ، دیافراگم و قلب گرفته شد . نتایج حاصل نشان داد ۸۸/۳۵ درصد از شتران آلوده به این تک یاخته می باشد. بیشترین میزان آلودگی مربوط به نمونه های اخذ شده از دیافراگم (حدود ۷۹/٦ درصد) بوده است (۹) .

لطیف و همکاران نیز در کشور عراق بر روی حیوانات مختلف از جمله گوسفند بز ، گوساله ، بوفالو و شتر به بررسی شیوع این تک یاخته پرداخت طی این تحقیق که به دو روش آزمایشگاهی هضم بافتی با حساسیت ۹۳/۳ درصدی و تهیه اسمیر فشاری با حساسیت ۸۱/۲ درصدی انجام شد درصد آلودگی های ماکروسکوپی در گوسفند ٤/۱ درصد ، بز ۳۳/٦ درصد ، گوساله ۰/۲ درصد ، بوفالو ۱۵/٦ درصد و شتر ۰درصد گزارش شده است. .همچنین آلودگی میکروسکوپی به *سارکوسیست* درگوسفند ۹۷درصد ، بز ۹۷/٤ درصد ،گوساله ۹۷/۸ درصد ، بوفالو ۸۲/۹ درصد و شتر ۹۱/٦ درصد بوده است (۱۰) . عبدل غفار وهمکاران نیز در کشور مصر در سال ۱۹۷۹توسط میکروسکوپ الکترونی بر روی ۲۹ عدد شتر تحقیقاتی انجام دادند . طی این روش تک یاخته در مری و عضلات دیافراگم یافت شد(۱۱) .

در ایران طی تحقیقی که در سال ۲۰۰٦ توسط شکر فروش و همکاران بر روی شتران کشتار شده در اصفهان به *سارکوسیست* میزان شیوع این انگل به مراتب بالاترگزارش شده است(٦). همچنین ولی نژاد و همکاران در سالهای۲۰۰۳ تا ۲۰۰۵ بر روی ۲۵۰ شتر مطالعه کردند و شیوع ۸۳/٦درصد را گزارش نموده اند. شیوع آلودگی به سارکوسیست در این مطالعه در مری ، زبان، قلب، عضلات بدن و دیافراگم به ترتیب ۵۸/۸درصد، ٤۸درصد، ٤٦/۸درصد، ٤۱/٦درصد و ۲۸درصد آمده است(۱۲).

به طور کلی نتایج به دست آمده طی این تحقیق آلودگی ۳۱ درصدی شتران به روش تهیه اسمیر فشاری و آلودگی ٦۰/۷۸ درصدی با استفاده از روش هضم آنزیمی را به انگل سارکوسیست نشان می دهد که در مقایسه با نتایج حاصل از سایر تحقیقات انجام شده در مناطق گوناگون نظیراتیوپی با آلودگی ٤٥/٤٥ درصدی ، سومالی با آلودگی ۸۲/۵ درصدی ،عربستان با آلودگی ۸۸/۳۵ درصدی، عراق با آلودگی ۹۱/٦ درصدی ، مانگولیا با آلودگی ۱۰۰ درصدی و ایران با آلودگی های ۸۹/۷ درصدی و ۹٤/۸ درصدی به انگل سارکوسیست از اختلاف معنی داری برخوردار نمی باشد (٤، ۵، ٦، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳) و پراکندگی این انگل در سایر نقاط

www.SID.ir

Archive of SID

مورد مطالعه تقریباً به صورت یکسان می باشد که این نتیجه، صحت روند تحقیقات و آزمایش های ما را برای پی بردن به میزان آلودگی به این انگل در شتران کشتار شده در کشتارگاه نجف آباد به اثبات می رساند.

نتایج به دست آمده در مطالعه ی حاضر نیز اختلاف معنی دار ($p\leq$ ۰/۰۵) را بین گروه های سنی مختلف را نشان می دهد. موندی در استرالیا درسال ۱۹۷٤ رابطه ی آلودگی به سارکوسیست و افزایش سن را نشان می دهد (١٤) . همچنین موهانتی و همکاران (۱۹۹۵) نیز ارتباط میزان آلودگی و سن دام های مختلف را به این انگل تایید می کنند(۱۵). با توجه به اینکه با افزایش سن احتمال برخورد بیشتر با انگل و در نتیجه آلودگی بیشتر دور از انتظار نیست. از طرفی مقاومت انگل در برابر سیستم ایمنی میزبان نیز می تواند دلیل دیگر این اختلاف در بین گروه های سنی باشد .

نتایج به دست آمده نشان داد که روش هضم آنزیمی بسیار دقیق ترو قابل اعتمادتر از روش تهیه ی اسمیر فشاری در تشخیص آلودگی به *سارکوسیستیس* در شتر است. هر چند در تمام موارد آلودگی میکروکیست مشاهده شد و هیچ کدام از موارد کیست های قابل مشاهده با چشم غیر مسلح نبودند .روش هضم آنزیمی را به عنوان روش کارآمد تر در این نوع تشخیص می دادیم. به نظر می رسد به کارگیری روش های دقیق تر ملکولی می تواند دقت و صحت مطالعه مورد نظر را تایید نماید که به عنوان مسیری تازه برای مطالعات جدید پیشنهاد می گردد . از آنجایی که شتران آلوده به این انگل در زمان حیات علایم بالینی خاصی را نشان نمی دهد و صرفاً بعد از کشتارآن ها می توانیم شاهد علایم کالبدگشایی ناشی از این انگل باشیم، لذا فراهم آوردن یکسری شرایط نظیر کاهش میزان تماس شتران و غذای مورد استفاده آن ها با مدفوع سگ های مبتلا می تواند نقش به سزایی در کاهش آلودگی جمعیت شتران به این انگل داشته باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

منابع

1. Dubey, J.P., 1976. A review of *sarcocystis* of domestic animals and other coccidia of cats and dogs, Journal of the American Veterinary Medical Association 169(10), 1061-1078.

2. Bowman, D., Georgis, D., 1999. Parastiology for Veterinarians. 7th ed. W.B. saunders company.,pp. 94 -95, 308-309.

3. Turquhart, G.M., Armour, J., Duncan, J.R., Dunn, A.M., Jennings, F.W., 1996. Veternary Parasitology. Longman Scientific and Technical Printed and Bound in great Britain at the bath press, Avon., pp. 231-234.

4. Tenter, A.M., 1995. Current research on *Sarcocystis* spacies of domestic animals, International Journal of Parasitology 25(11), 1311-30.

5. Borrow, H.A., Mohammed, H.A., Sacco, D.B., 1989. *Sarcocystis* in Somali camel. Parassitologia 31(2-3), 133-136.

6. Shekarforoush, S.S., Shakerian, A., Hasanpoor, M.M., 2006. Prevalence of *Sarcocystis* in slaughtered one-humped camels (*Camelus dromedarius*) in Iran. Tropical Animal Health and Production 38(4), 301-303.

7. Edith, D.B., Duszynski, D.W., 1977. Survey for Sarcocystis in the brown-headed cowbird (*Molothrus ater*): a comparison of macroscopic, microscopic and digestion techniquse, Journal of Wildlife Disease 13(4), 356-359.

8. Woldemeskel, M., Gumi, B., 2001. Prevalence of *Sarcocystis* in one-humped camel (*Camelus dromedarius*) from Southern Ethiopia. Journal of Veterinary Medicine 48(3), 223-226.

9. Fatani, A., Hilali, M., Atiya, A.S., Shami, A.S., 1996. Prevalence of *Sarcocystis* in camels (*Camelus dromedarius*) from Al-Ahsa, Saudi Arabia, Veterinary Parasitology 62(3-4), 241-245.

10. Latif, B.M., Delemi, J.K., Mohammad, B.S., Albayati, S.M., Alamir, A.M., 1999. Prevalence of *Sarcocystis* in meat producing animals in Iraq. Veterinary Parasithology 85(1-2), 85-90.

11. Abdel, G.F., Entzeroth, R., Chobatar, B., Scholtyseck, E., 1979. Ultrassractural studies of sarcocystis from the camel in Egypt. Tropenmed Parasitology 30(4), 434-438.

12. Valinezhad, A., Oryan, A., Ahmadi, N., 2008. *Sarcocystis* and its complications in camels (*Camelus dromedarius*) of eastern provinces of Iran. Korean Journal of Parasitology 46(4),229-234.

13. Woldemeskel, M., Gebreab, F., 1996. Prevalence of sarcocyst in livestock of northwest Ethiopia. Zentralbl Veterinarmed B 43(1), 55-58.

14. Munday, B.L., 1975. The prevalence of sarcosporidiosis in Australian meat animals, Australian Veterinary Journal 51(10), 487-480.

15. Mohanty, B.N., Misra, S.C., Panda, D.N., Panda, M.R., 1995. Prevalence of *Sarcocystis* infection in ruminants in Orissa , Indian Veterinary Journal 72(10), 1026-1030.

www.SID.ir