



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

## مطالعه میزان و تنوع آلودگی به تک یاخته ایمریا در خرگوش های منطقه شمال غرب ایران

سهراب رسولی<sup>۱</sup>، امین خدادادی<sup>۲\*</sup>، موسی توسلی<sup>۳</sup>، شهرام سقائی<sup>۴</sup>، محمد صدقیانی<sup>۵</sup>

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، ارومیه، ایران

۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

۳- دانشگاه ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

۴- دستیار تخصصی فارماکولوژی و توکسیکولوژی بالینی دانشگاه آنکارا و عضو هیئت علمی

دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، دانشکده دامپزشکی، ارومیه، ایران

۵- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شبستر، دانشکده دامپزشکی، گروه پاتوبیولوژی، شبستر، ایران

\*نویسنده مسئول: aminkhodadadi@ymail.com

دوره سوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱

صفحات ۱۶۳-۱۵۱

### چکیده

در این مطالعه که از اردیبهشت ماه سال ۱۳۸۹ تا مهر ماه سال ۱۳۹۰ صورت پذیرفت در مجموع ۲۶۵ راس خرگوش وحشی مورد بررسی قرار گرفت که از این تعداد نمونه، تعداد ۱۱۷ راس (۴۴٫۲ درصد) آلوده به تک یاخته ایمریا بودند. در مطالعه حاضر وضعیت آلودگی خرگوش های وحشی، نابالغ و بالغ، فراوانی کوکسیدیوز و گونه های شایع و پراکندگی جغرافیایی، میزان پراکندگی جنسیتی در میزبان و میزان اووسیست های دفع شده و ارتباط آن با ایجاد آلودگی، تاثیر آن در سن و تعداد گونه ایمریا در ایجاد بیماری و غیره مورد بررسی قرار گرفت. درصد آلودگی نمونه های مثبت هر استان نسبت به نمونه های کل هر استان به ترتیب، استان اردبیل ۸۰/۲ درصد، استان آذربایجان غربی ۸۷/۲ درصد و استان آذربایجان شرقی ۷۶/۲ درصد مشاهده گردید. نتایج نشان داد که از خرگوش های مورد بررسی نابالغ ۹۱ راس آلوده به انواع ایمریاها بودند. میانگین دفع اووسیست در خرگوش های بالغ ۳۵/۵۳ عدد در هر گرم مدفوع بود ولی این مقدار در خرگوش های نابالغ ۳۰/۱۸ عدد در هر گرم مدفوع بود. آلودگی در خرگوش های نابالغ بیشتر از خرگوش های بالغ بود و این ارتباط معنی دار بود ( $p = 0.0490$  و  $p = 0.0348$ ).

واژه های کلیدی: ایمریا، خرگوش وحشی، اووسیست، آلودگی، ایران



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

J.Vet.Clin.Res 3(3)151-163, 2012

## Investigation of the rate and diversity of *Eimeria* protozoa contamination in rabbits of north western Iran

Rasouli, S.<sup>1</sup>, Khodadadi, A.<sup>2\*</sup>, Tavassoli, M.<sup>3</sup>, Sagaei, Sh.<sup>4</sup>, Sadagiyani, M.<sup>5</sup>

1- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Uremia Branch, Islamic Azad University, Uremia, Iran

2- Faculty of Veterinary Medicine, Uremia Branch, Islamic Azad University, Uremia, Iran

3- Faculty of Veterinary Medicine, Uremia University, Uremia, Iran

4- Clinical Pharmacology and Toxicology PhD Assistant in Ankara University and Member of Faculty of Veterinary Medicine, Urmia branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

5- Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Shabestar Branch, Shabestar, Iran

\* Corresponding author: aminkhodadadi@gmail.com

### Abstract

In this study which was conducted from Ordibehesht 1389 to Mehr 1390, a total of 265 wild rabbits were investigated from which 117 (44.2%) were contaminated with *Eimeria* Protozoa. In this study, the contamination of wild rabbits, mature and immature, abundance of Coccidiosis, geographically disturbed and common species, sexual distribution rate in the host, and the rate of excreted oocytes and its relation with onset of contamination, its effect on age and number of *Eimeria* species responsible for onset of the disease, and etc. were evaluated. The contamination percentage of positive samples of each province compared to total samples of the province were observed to be 80.2% for Adabil, 87.2% for Western Azarbayjan, and 76.2 for Eastern Azarbayjan. Results showed that among the investigated immature rabbits, 91 were contaminated with *Eimeria*. Mean of oocytes excreted in mature rabbits was 35.53 per gram of feces. But this amount was 30.18 per gram of feces for immature rabbits. Contamination in immature rabbits was more than mature rabbits and this relation was significant ( $p=0.0490$  and  $p=0.0348$ ).

**Key words:** *Eimeria*, wild rabbits, oocyst, contamination, Iran

## مقدمه

استان‌های شمال غرب کشور از دیرباز به لحاظ دارا بودن مراتع وسیع و وضعیت آب و هوای مناسب دارای جنگلهای خودرو و دشتهای فراوان می‌باشد که محیطی مناسب جهت رشد خرگوش‌های وحشی به شمار می‌آید و در برخی از اقلیت‌های دینی و همچنین مکروه بودن گوشت خرگوش در آیین مقدس اسلام این حیوان جنبه خوراکی داشته و در برخی از کشورهای اروپایی و خارجی همچون دانمارک و ترکیه از پوست این حیوان در موارد مختلف و در صنعت لباس استفاده می‌نمایند (۷). کوکسیدیوزیس بیماری ناشی از انگل تک یاخته‌ای در خرگوش می‌باشد و خرگوش‌های بهبود یافته از این بیماری معمولاً بصورت ناقل باقی می‌مانند (۴). دو نوع از این بیماری، نوع هپاتیک و نوع روده‌ای شناخته شده است. انتقال انگل در هر دو نوع از طریق بلع اووسیست‌های اسپوروله معمولاً از راه آب و غذایی آلوده صورت می‌گیرد. شدت بیماری به تعداد اووسیست‌های بلعیده شده بستگی دارد و خرگوش‌های جوانتر بیشتر مستعدند. این بیماری در خرگوش‌های مبتلا سبب بی‌اشتهایی و تضعیف سیستم دفاعی بدن شده و امکان عفونت و آلودگی‌های ثانویه از قبیل بیماری تولارمی که بیماری زئونوز می‌باشد را بیشتر می‌کند و همچنین چون برخی از افراد از خرگوش به عنوان غذایی شکاری استفاده می‌کنند احتمال شیوع بیماری‌های مشترک افزایش می‌یابد فلذا شناخت کافی نسبت به پراکندگی و میزان شیوع بیماری‌های انگلی شایع در کشور از ضرورت خاصی برخوردار بوده و در همین حال یکی از لازمه‌های دستیابی به بهداشت مدرن می‌باشد. بیماری‌های انگلی را میتوان از ابعاد مختلف تقسیم بندی کرد (۱۵). یکی از این تقسیم بندی‌ها اشاره به محل زیست انگل در داخل یا خارج بدن دارد. طبق این دیدگاه انگل‌ها یا پارازیت‌ها به دو گروه انگل‌های داخلی و انگل‌های خارجی تقسیم بندی می‌شوند. با توجه به محل استقرار فرم بالغ انگل کوکسیدیا میتوان گفت که این بیماری جزو بیماری‌های انگلی داخلی می‌باشد. اکثراً

تک میزبانه هستند و توسعه انگل در سلول‌های ویژه میزبان صورت می‌گیرد، آیمیریاها تمام بخش‌های یک سلول زنده از قبیل میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی، هسته، غشاء و ریبوزوم را دارا می‌باشد (۸). اووسیست آیمیریا حاوی چهار اسپوروسیست و هر اسپوروسیست دارای دو اسپوروزوایت می‌باشد (۱۵). انگل آیمیریا (*Eimeria*) در سلسله پروتوزوا (*Protozoa*)، شاخه آپی کمپلکسا (*Apicomplexa*)، رده اسپوروزوا (*Sporozoa*)، زیر رده کوکسیدیا (*coccidian*)، راسته ائوکوسیدیا (*Eucoccidia*)، زیر راسته آیمیرینا (*Eimerina*) و خانواده آیمیریده (*Eimeriidae*) می‌باشد (۸ و ۱۵). انگل‌های مربوط به زیر راسته آیمیرینا جزو انگلهای داخل سلولی بافت روده بوده و دو تکثیر غیر جنسی (شیزوگونی) و جنسی (گامتوگونی) را دارند که در مورد جنس آیمیریا هر دو مرحله در بدن یک میزبان انجام می‌گیرد و به همین دلیل آیمیریا، مونوگزونس به حساب می‌آید ولی دیگر جنس‌های خانواده آیمیریده که شامل ایزوسپورا می‌باشند هتروگزونس هستند (۱۵). علایم بالینی، شدت و ضایعات ناشی از کوکسیدوز متغیر است و اغلب به علت اینکه بسیاری از آلودگی‌ها بصورت تحت بالینی هستند و دامداران و دامپزشکان به آن توجهی نمی‌کنند، غیر قابل تشخیص می‌ماند (۷). وقوع شکل بالینی می‌تواند موجب ضایعات محیط زیستی شدیدی در خرگوش‌های وحشی و اهلی و مخصوصاً در فصل زمستان نماید. علاوه بر ضایعات اقتصادی، ظاهری، وزن و هزینه درمان و مرگ بیماری که به شکل حاد بیماری مبتلا هستند، هزینه بیشتری در ارتباط با اشکال تحت حاد تشخیص داده نشده بیماری مطرح است که کاهش ایمنی و حساسیت به سایر عفونت‌ها از آن جمله است. آیمیریا در سراسر جهان گسترده‌گی داشته و اختصاصیت میزبانی و ساختمان ویژه‌ای را دارا می‌باشد. بیشتر حیوانات مهره دار از جمله پرندگان و پستانداران استعداد ابتلا به کوکسیدیوز را دارا می‌باشند (۷). میزبانان این انگل شامل پرندگان، گاوها، بزها، خوک‌ها، اسب‌ها،

شتر و خرگوش می‌باشند (۱۵). اووسیست یک زیگوت است و در واقع مرحله‌ای مقاوم در چرخه زندگی انگل می‌باشد که در بافت‌های میزبان بوده و از راه مدفوع دفع می‌شوند. وقتی اووسیست عفونت را توسط حیوان بلعیده شد، دیواره اووسیست‌ها در اثر حرکات دستگاه گوارش به خصوص روده‌های باریک سائیده شده و پاره می‌شود و اسپوروسیست‌ها از داخل اووسیست‌های بالغ خارج می‌شوند. دیواره اسپوروسیست‌ها توسط املاح صفراوی و کیموتریپسین در روده کوچک از بین رفته و اسپوروزوئیت‌ها از آن آزاد می‌شوند و اسپوروزوئیت‌های آزاد شده وارد سلول‌های اپیتلیال روده کوچک (سلول‌های لامینا پروپریا-Lamina propria) شده و تبدیل به تروفوزوئیت می‌شوند. به عبارت دیگر اسپوروزوئیت‌ها مستقیماً وارد سلول اپیتلیال می‌شوند یا در بین سلول‌های اپیتلیال قرار گرفته و توسط لنفوسیت‌ها، بین سلول‌ها منتقل می‌شوند. بعد از جایگزینی اسپوروزوئیت‌ها تقسیم شیزوگونی یا غیر جنسی شروع می‌شود (۱۳).

#### مواد و روش کار

منطقه مورد تحقیق در این مطالعه، استان‌های شمال غرب کشور به ترتیب آذربایجان غربی، آذربایجان شرقی و اردبیل بود. در مجموع ۲۶۵ نمونه مدفوع خرگوش‌های وحشی با استفاده از روش‌های تله گذاری، شکار حیوانات (تهیه بیوپسی مدفوع)، مراجعه به باغ وحش‌ها و همکاری ماموران سازمان حفاظت از محیط زیست در رده‌های سنی نابالغ و بالغ، از دو جنس نر و ماده از نظر وجود انواع آیمریاها تحت بررسی قرار گرفت. نمونه گیری در فاصله زمانی اردیبهشت ماه ۱۳۸۹ تا شهریور ۱۳۹۰ به عمل آمد. نمونه‌های مدفوع تازه اخذ شده از خرگوش‌ها پس از درج مشخصات حیوان از قبیل جنس، سن، شماره نمونه روی ظروف نمونه گیری به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی انتقال می‌گردید. جهت جلوگیری از اسپورله شدن اووسیست‌ها، نمونه

مدفوع تا زمان آزمایش در یخچال نگهداری می‌شد ولی حداکثر امکان نمونه‌های جمع آوری شده همان روز آزمایش می‌گردید (۳ و ۱). از روش شناور سازی برای مدفوع در این تحقیق استفاده گردید. وزن مخصوص اووسیست آیمریاها، غالباً کمتر از ذرات معمول در مدفوع است، از این رو به آسانی می‌توان با استفاده از روش مذکور آیمریاها را جدا و حتی آلودگی‌های بسیار کم را مشخص کرد (۱۵). ابتدا ۳ گرم مدفوع در ۴۲ سانتیمتر مکعب آب مقطر حل شده و با الک ۱۰۰ صاف گردید. ۱۵ سانتیمتر مکعب از محلول صاف شده در لوله آزمایش ریخته و در سانتریفیوژ با دور ۲۰۰۰ - ۱۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس محتویات رویی لوله آزمایش خالی شد تا رسوب حاوی مدفوع و اجرام انگلی در آن باقی بماند. در مرحله بعد با وارد آوردن چند ضربه به انتهای لوله یا با استفاده از پی پت پاستور استریل، مدفوع از انتهای لوله جدا می‌گردید. سپس تا نصف لوله محلول شناورسازی سولفات روی در لوله ریخته و انگشت شست را روی در لوله گذاشته و آرام ۷-۸ بار لوله سر و ته می‌گردید تا رسوب کاملاً در سولفات روی حل شود. بعد لوله کاملاً با مایع شناور سازی پر می‌شد تا سر لوله به حالت محدب در آید (۱۳). بعد لامل چهار گوشه‌ای روی لوله طوری قرار می‌گرفت تا حباب هوا تشکیل نشود. بعد از ۳۰ دقیقه لامل را با سه انگشت برداشته و روی لامل گذاشته و در زیر میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰ و ۴۰ و به صورت زیگزاگ و میدانی تمام سطح لامل بررسی می‌گردید. در صورت وجود آلودگی جهت شناسایی گونه انگل، اندازه اووسیست تعیین می‌شد. برای این کار از میکرومترهای چشمی استفاده می‌شد و قطر طولی و عرضی اووسیست بر حسب میکرون به دست می‌آمد و براساس آن و سایر مشخصات، گونه آیمریا مشخص می‌گردید. در ضمن تعداد اووسیست‌ها در هر گرم مدفوع ثبت می‌شد (۶ و ۸).

اسپورله کردن مدفوع: جهت اسپورله نمودن مدفوع به ۳۰

سی سی بیکرمات پتاسیم ۲,۵ درصد، ۵ گرم مدفوع اضافه نموده و در انکوباتور ۲۵ درجه سانتیگراد قرار می گرفت. هر ۱۲ ساعت یکبار محیط کشت به هم زده و با پیپت پاستور هوادهی می شد. در ضمن هر ۶ تا ۱۲ ساعت یکبار محیط از نظر اسپورله شدن اووسیست ها کنترل می شد، به این صورت که پیپت پاستور از محیط کشت برداشت نموده و یک قطره محلول روی لام قرار داده و لامل را روی آن گذاشته و در زیر میکروسکوپ با بزرگنمایی ۱۰۰ اووسیستها از نظر اسپوریه شدن (تشکیل اسپوروسیست داخل اووسیست) بررسی و در صورت مثبت بودن زمان آن یادداشت می شد. زمانی که ۵۰٪ کل اووسیست های موجود اسپورله شدند به عنوان زمان اسپورزایی در نظر گرفته می شد. زمان اسپورزایی، اندازه، رنگ، شکل و چگونگی دیواره اووسیست، وجود یا عدم وجود دریچه، اندازه اسپوروسیست ها، باقیمانده اووسیستی، دانه قطبی و سایر معیارهای مورد استفاده در تشخیص گونه های مختلف آیمیریا بودند (۶ و ۸ و ۱۵).

### نتایج

در این مطالعه از مجموع ۲۶۵ نمونه اخذ شده از خرگوش های وحشی تحت بررسی که از آنها نمونه مدفوع جمع آوری گردیده بود، ۱۱۷ راس (۴۴/۲٪) آنها آلوده به انواع انگل آیمیریا بودند (تصویر ۲). از میزان ۱۱۷ مورد آلودگی به انگل آیمیریا، ۲۲ مورد مربوط به دشت مغان و ۲۲ مورد دیگر مربوط به سایر مناطق استان اردبیل و ۴۱ مورد مربوط به استان آذربایجان غربی و ۳۲ مورد مابقی مربوط به استان آذربایجان شرقی بود. در این میان از ۱۱۷ مورد آلودگی به انگل آیمیریا، ۸۵ مورد مربوط به جنس نر و ۳۲ مورد مربوط به جنس ماده بود. از ۱۱۷ مورد آلودگی ۲۶ مورد مربوط به خرگوش های بالغ و ۹۱ مورد مربوط به خرگوش های نابالغ بود همچنین درصد آلودگی نمونه های مثبت هر استان نسبت به نمونه های کل هر استان به ترتیب، استان اردبیل ۸۰/۲٪، استان آذربایجان غربی ۸۷/۲٪ و

استان آذربایجان شرقی ۷۶/۲٪ مشاهده گردید. براساس نتایج تجزیه و تحلیل آماری نرم افزار Spss نسخه ۱۶ در هیچ کدام از موارد فوق ارتباط آماری معنی داری وجود نداشت. طبق بررسی به عمل آمده میانگین اووسیست های دفع شده در مدفوع حیوانات آلوده، در کل ۳۱/۳۷ عدد می باشد که این مقدار در خرگوش های نر ۳۱/۹۰ عدد و در خرگوش های ماده ۲۹/۹۶ عدد بود. براساس مشاهدات میکروسکوپی در موارد نمونه های مدفوع مثبت آلوده، کمترین مقدار اووسیست دفع شده ۴ عدد و بیشترین مقدار اووسیست دفع شده ۱۹۳ عدد مشاهده گردید. نتایج آماری حاکی از عدم وجود ارتباط معنی داری در میان تعداد اووسیست ها در مدفوع های موارد مثبت آلوده به انگل آیمیریا بود و  $p > 0.05$  بود. براساس نتایج آزمون های آماری نرم افزار Spss دفع اووسیست در خرگوش های بالغ بیشتر از خرگوش های نابالغ می باشد. بر طبق نتایج عددی نرم افزار spss میانگین دفع اووسیست در خرگوش های بالغ ۳۵/۵۳ عدد در هر گرم مدفوع می باشد ولی این مقدار در خرگوش های نابالغ ۳۰/۱۸ عدد در هر گرم مدفوع می باشد. همچنین براساس نتایج بدست آمده، آلودگی در خرگوش های نابالغ بیشتر از خرگوش های بالغ می باشد و این ارتباط معنی دار می باشد ( $p = 0.0348$  و  $p = 0.0490$ ). براساس مشاهدات میکروسکوپی و نتایج آماری در ۹۰/۶٪ (۱۰۶ نمونه آلوده) آلودگی به یک گونه آیمیریا و در ۸/۵٪ (۱۰ نمونه آلوده) آلودگی به دو نوع آیمیریا و در ۰/۹٪ (۱۱ نمونه آلوده) آلودگی به بیش از ۳ نوع گونه آیمیریا مشاهده گردیده است که تفاوت معنی داری از نظر آماری مشاهده نگردید ( $p > 0.05$ ). تنوع تعداد گونه های آیمیریا (اووسیست های آنها) در یک حیوان سبب افزایش احتمال شیوع بیماری نمی شود ( $p > 0.05$ ) بلکه هر چقدر تعداد گونه بیشتری در محیط باشد شیوع و وقوع بیماری کاسته می شود ( $p = 0.034584$  و  $p = 0.029614$ ). همچنین تنوع گونه در جنس نر و ماده تاثیری در روند ایجاد بیماری نداشت ( $p > 0.05$ ). از لحاظ شیوع بیماری تفاوت معنی

داری در بین استانهای مختلف شمال غرب وجود نداشت ( $p > 0.05$ ). همچنین با توجه به سن حیوانات، تنوع گونه و تعداد گونه‌های انگل و تعداد گونه‌های مختلف در یک سن، در ایجاد بیماری و گسترش آن، نقش معکوس یا بر عکس دارند یعنی با افزایش تنوع و تعداد در یک رده سنی خاص احتمال شیوع بیماری کاسته می‌شود و ارتباط آماری معنی

داری به صورت عکس (چون اعداد مربوط به P منفی آمده است) وجود داشت ( $p < 0.05$ ). کشت مدفوع و ارزیابی اندازه شکل اووسیست‌ها، رنگ جداره، وجود یا عدم وجود دریچه، اندازه اسپوروسیست‌ها و سایر معیارهای تشخیصی گونه‌های مختلف آیمریا ملاک تشخیص گونه های متعدد بود. کلیه اطلاعات فوق در جداول ۱ الی ۴ نشان داده شده است.

جدول ۱- تعداد نمونه‌های مثبت آلوده به انگل آیمریا و درصد آلودگی در استان های آذربایجان غربی، شرقی، دشت مغان و سایر نقاط اردبیل

| ردیف | نام استان                  | تعداد نمونه    | نمونه های مثبت آلوده به انگل آیمریا |              |
|------|----------------------------|----------------|-------------------------------------|--------------|
|      |                            |                | تعداد                               | درصد         |
| ۱    | آذربایجان غربی             | ۴۷             | ۴۱                                  | ۸۷.۲۳        |
| ۲    | آذربایجان شرقی             | ۴۲             | ۳۲                                  | ۷۶.۱۹        |
| * ۳  | اردبیل ( دشت مغان )        | ۱۴۲            | ۲۲                                  | ۱۵.۴۹        |
| * ۴  | اردبیل ( سایر نقاط استان ) | ۳۴             | ۲۲                                  | ۶۴.۷۰        |
| ۵    | مجموع استانها              | تعداد کل : ۲۶۵ | تعداد کل : ۱۱۷                      | درصد کل ۴۴.۲ |

\* با توجه به اینکه جنگل‌های دشت مغان دارای وسعت فراوانی می‌باشد این منطقه به صورت مجزا در برخی موارد مورد مطالعه قرار گرفته شده است.

جدول ۲- توزیع فراوانی تعداد نمونه های آلوده بر اساس جنسیت خرگوش ها

| جنسیت حیوان | نمونه های مثبت آلوده به انگل آیمریا |              | تعداد کل نمونه |
|-------------|-------------------------------------|--------------|----------------|
|             | تعداد نمونه                         | درصد فراوانی |                |
| ماده        | ۳۲                                  | ۶۵.۳۰        | ۴۹             |
| نر          | ۸۵                                  | ۳۹.۳۵        | ۲۱۶            |

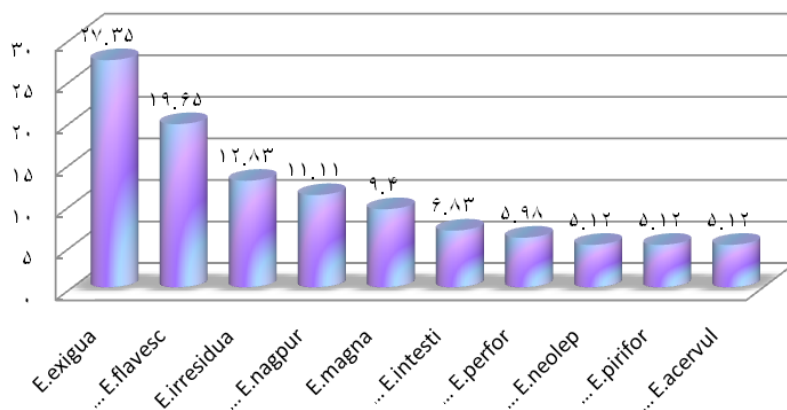
جدول ۳- میزان شیوع آلودگی برحسب محل نمونه گیری

| درصد فراوانی نسبی نمونه های مثبت آلوده هر استان نسبت به کل نمونه ها جمع آوری شده | موارد مثبت آلوده به انگل آیمیریا |              | تعداد نمونه استان | استان نمونه گیری |
|--|----------------------------------|--------------|-------------------|------------------|
|  | تعداد                            | درصد فراوانی |                   |                  |
| ۱۷.۷   | ۴۱                               | ۸۷.۲         | ۴۷                | آذربایجان غربی   |
| ۱۵.۸   | ۳۲                               | ۷۶.۲         | ۴۲                | آذربایجان شرقی   |
| ۱۲.۸   | ۲۲                               | ۶۴.۷         | ۳۴                | اردبیل           |
| ۵۳.۶   | ۲۲                               | ۱۵.۵         | ۱۴۲               | دشت مغان         |

جدول ۴- نام و تعداد گونه های آیمیریا یافت شده از مدفوع خرگوش های شمال غرب ایران

| ردیف | نام گونه              | تعداد حیوان آلوده به این گونه | درصد حیوانات آلوده به این گونه |
|------|-----------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| ۱    | <i>E.intestinalis</i> | ۸                             | ٪ ۶/۸۳                         |
| ۲    | <i>E.perforans</i>    | ۷                             | ٪ ۵/۹۸                         |
| ۳    | <i>E.nagpurensis</i>  | ۱۳                            | ٪ ۱۱/۱۱                        |
| ۴    | <i>E.flavescens</i>   | ۲۳                            | ٪ ۱۹/۶۵                        |
| ۵    | <i>E.magna</i>        | ۱۱                            | ٪ ۹/۴۰                         |
| ۶    | <i>E.irresidua</i>    | ۱۵                            | ٪ ۱۲/۸۳                        |
| ۷    | <i>E.exigua</i>       | ۳۲                            | ٪ ۲۷/۳۵                        |
| ۸    | <i>E.neoleporis</i>   | ۶                             | ٪ ۵/۱۲                         |
| ۹    | <i>E.piriformis</i>   | ۶                             | ٪ ۵/۱۲                         |
| ۱۰   | <i>E.acervulin</i>    | ۶                             | ٪ ۵/۱۲                         |

درصد آلودگی نمونه‌های مثبت آلوده به آیمیریا

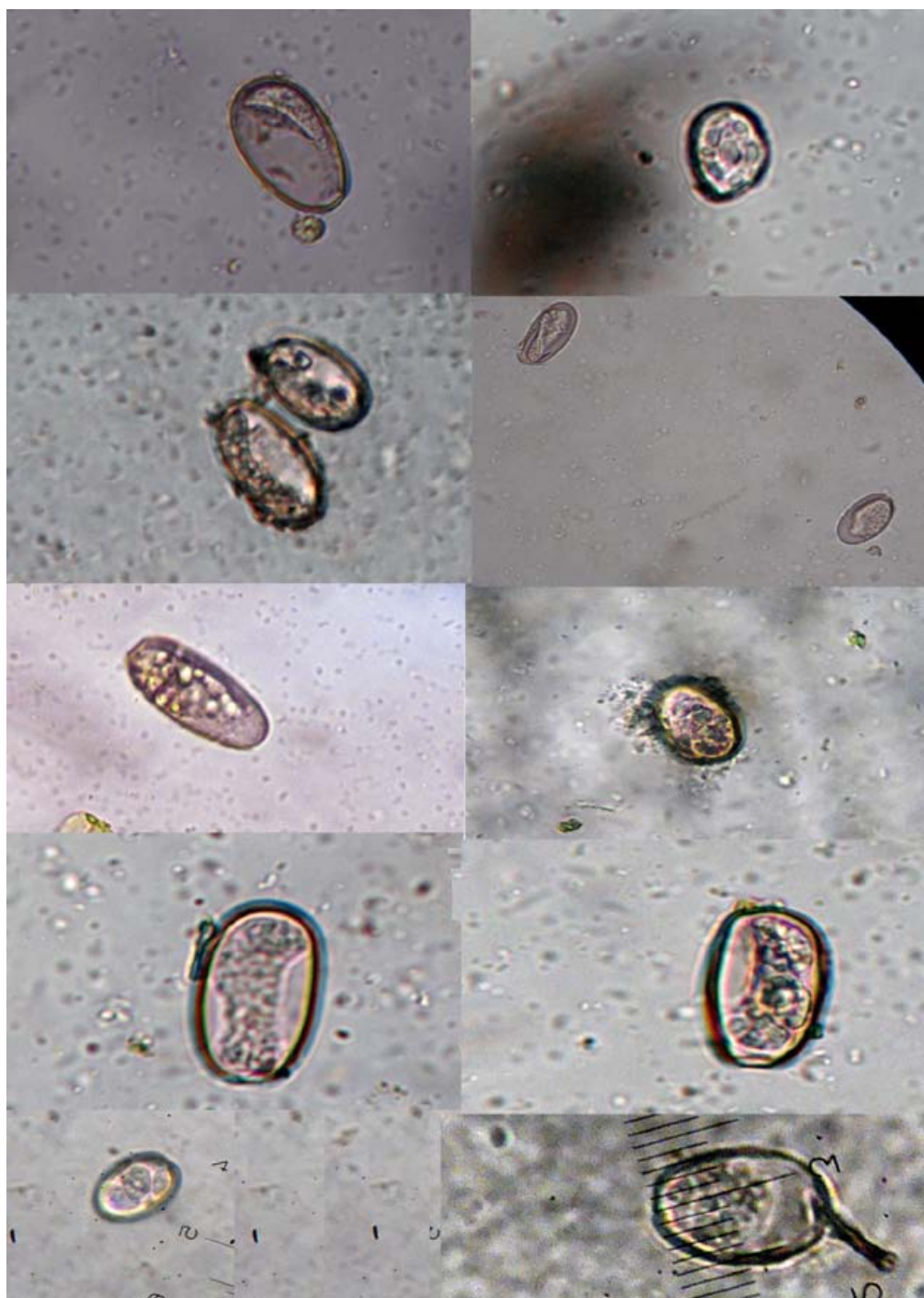


نمودار شماره ۱- میزان فراوانی گونه‌های مختلف آیمیریا



تصویر ۱- اوسیسیت گونه‌های مختلف انگل آیمیریا در شکل و اندازه‌های مختلف X = 400





تصویر ۲- اوسیست‌های گونه‌های مختلف آیمیریا جدا شده از خرگوش‌های شمالغرب

*E. exigua*, (2) *E. flavescens*, (3) *E. irresidua*, (4) *E. nagpurensis*, (5) *E. magna*, (6) *E. intestinalis*, (7)

*E. perforans*, (8) *E. piriformis*, (9) *E. acervulina*, (10) *E. neoleporis*

درشت نمایی در تمام تصاویر ( x 1000 به غیر از تصاویر ۲ و ۴ و ۹ که دارای درشت نمایی x 1500)

## بحث و نتیجه گیری

نظر به جمعیت بالای خرگوش‌های وحشی در جنگل‌های شمالغربی کشور و مناطق مجاور و کیفیت محصولات این دام (در برخی از آیین و همچنین در نزد برخی از مردم خرگوش به عنوان حیوان شکار مطرح می‌باشد و از گوشت و پشم آن استفاده می‌نمایند)، لازم است که به شناخت انواع بیماری‌ها و اختلالات رایج آن و همچنین عوامل و شرایط مختلف ایجاد آنها توجه شود. در مطالعه حاضر وضعیت آلودگی خرگوش‌های وحشی، نابالغ و بالغ، فراوانی کوکسیدیوز و گونه‌های شایع آن و همچنین پراکندگی جغرافیایی، پراکندگی جنسی آن و میزان اوسیسیت‌های دفع شده و ارتباط آن با ایجاد آلودگی و تاثیر سن و تعداد گونه آیمریا در ایجاد بیماری و... مورد بررسی قرار گرفت (۷).

از میان موارد مثبت آلودگی، ۳۷/۶٪ مربوط به استان اردبیل و ۳۵٪ مربوط به استان آذربایجان غربی و ۲۷/۴٪ مربوط به استان آذربایجان شرقی بود. منطقه مورد مطالعه به دلیل مجاورت با کشورهای همسایه از قبیل ترکیه، عراق، آذربایجان، نخجوان و ارمنستان این منطقه دارای ارزش مطالعاتی فرا منطقه‌ای می‌باشد.

در مورد میزان شیوع کوکسیدیوز در خرگوش‌های وحشی قاره اروپا Pilar R. Foronda و همکاران در سال ۲۰۰۵ میلادی نتایج تحقیقات جامع خود را در مورد میزان شیوع گونه‌های متفاوت آیمریا در خرگوش‌های وحشی جزیره Canary Island را در تابستان سال ۱۹۹۸ میلادی ۹۲٪، در پاییز سال ۱۹۹۸ میلادی ۲۲٪، در زمستان سال ۱۹۹۸ میلادی ۲۹٪، در بهار سال ۱۹۹۹ میلادی ۷۴٪، در تابستان سال ۱۹۹۹ میلادی ۴٪ و در پاییز سال ۱۹۹۹ میلادی ۳۸٪ بیان نمودند (۱۱).

با توجه به نتایج مطالعه Pilar R. Foronda و همکاران میزان شیوع کوکسیدیوز ارتباطی به دمای هوا و تغییرات جغرافیای نداشته و میزان شیوع آن در فصول مختلف متغییر و نامنظم می‌باشد نتایج این تحقیق سبب اندیشه بررسی

گونه‌های مختلف آیمریا و نحوه انتقال و شیوع را در میان خرگوش‌های وحشی را ایجاد می‌نمایند و همخوانی با نتایج شیوع کوکسیدیوز در خرگوش‌های وحشی ایران را نیز دارد (۷ و ۱۱).

همچنین درصد آلودگی نمونه‌های مثبت هر استان نسبت به نمونه‌های کل هر استان به ترتیب، استان اردبیل ۸۰/۲٪، استان آذربایجان غربی ۸۷/۲٪ و استان آذربایجان شرقی ۷۶/۲٪ مشاهده گردید که نشان دهنده شیوع بیشتر کوکسیدیوز در استان آذربایجان غربی نسبت به سایر استانهای شمال غرب می‌باشد.

نتایج نشان داد که از خرگوش‌های نابالغ تحت بررسی ۹۱ سر آلوده به انواع آیمریاها بودند. میانگین دفع اوسیسیت در خرگوش‌های بالغ ۳۵/۵۳ عدد در هر گرم مدفوع می‌باشد ولی این مقدار در خرگوش‌های نابالغ ۳۰/۱۸ عدد در هر گرم مدفوع می‌باشد. همچنین آلودگی در خرگوش‌های نابالغ بیشتر از خرگوش‌های بالغ می‌باشد و این ارتباط معنی دار بود ( $p = 0.0348$  و  $p = 0.0490$ ). براساس آزمون‌های آماری نرم افزار Spss دفع اوسیسیت در خرگوش‌های بالغ بیشتر از خرگوش‌های نابالغ می‌باشد که در این صورت احتمال انتقال آلودگی از خرگوش‌های والدین به فرزندان افزایش پیدا می‌کند و می‌توان علت شیوع بیشتر کوکسیدیوز در خرگوش‌های نابالغ (در حدود ۳ برابر) را چنین بیان نمود.

از موارد مذکور می‌توان نتیجه گرفت که خرگوش‌های نابالغ استعداد بیشتری نسبت به واگیری و شیوع انواع آیمریاها دارند (۹) و در موارد پرورش خرگوش جهت مصارف آزمایشگاهی و همچنین در کشورهای خارجی جهت تولید مصارفی از قبیل گوشت و پوست باید خرگوش‌هایی را که در رده‌های سنی متفاوت هستند را به صورت جداگانه نگه داری و پرورش داد و تقریباً از روش All in – All out صنعت طیور جهت جلوگیری از شیوع انواع کوکسیدیوز و گونه‌های مختلف آیمریا اجرا نمود.

و حیوانات مبتلا در برخی از موارد حتی تلافات تا مر ۱۰۰٪ را نیز تجربه نموده اند (۱۰ و ۱۴).

براساس مشاهدات میکروسکوپی و نتایج آماری در ۹۰/۶٪ (۱۰۶ نمونه آلوده) آلودگی به یک گونه آیمیریا و در ۸/۵٪ (۱۰ نمونه آلوده) آلودگی به دو نوع آیمیریا و در ۰/۹٪ (۱ نمونه آلوده) آلودگی به بیش از ۳ نوع گونه آیمیریا مشاهده گردیده است. بدین سان تنوع تعداد گونه انگل در محیط اطراف حیوان با واگیری بیماری و شیوع اپیدمیولوژیک آن هیچ ارتباطی ندارد ( $p > 0.05$ ) و برعکس، تنوع تعداد گونه های آیمیریا (اوسیست های آنها) در یک حیوان سبب افزایش احتمال شیوع بیماری نمی شود ( $p > 0.05$ ) بلکه هر چقدر تعداد گونه بیشتری در محیط باشد شیوع و وقوع بیماری کاسته می شود ( $p = 0.034584$  و  $p = 0.029614$ ). همچنین تنوع گونه در جنس نر و ماده تاثیری در روند ایجاد بیماری ندارد ( $p > 0.05$ ).

همچنین با توجه به سن حیوانات، تنوع گونه و تعداد گونه های انگل و تعداد گونه های مختلف در یک سن، در ایجاد بیماری و گسترش آن، نقش معکوس یا برعکس دارند یعنی با افزایش تنوع و تعداد در یک رده سنی خاص احتمال شیوع بیماری کاسته می شود و ارتباط آماری معنی داری به صورت عکس (چون اعداد مربوط به P منفی آمده است) وجود داشت ( $p < 0.05$ ).

براساس بررسی به عمل آمده میانگین اوسیست های دفع شده در مدفوع حیوانات آلوده، در کل ۳۱/۳۷ عدد می باشد که این مقدار در خرگوش های نر ۳۱/۹۰ عدد و در خرگوش های ماده ۲۹/۹۶ عدد می باشد که براساس مطالعات تجربی در برخی از گونه های حساس خرگوش و همچنین برخی از جنس های آیمیریا با حداقل تعداد، حدود ۳۰ عدد اوسیست بلعیده شده، می توانند سبب ایجاد بیماری در حیوان شود.

نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپی در نمونه های مدفوع مثبت آلوده، کمترین مقدار اوسیست دفع شده ۴ عدد و بیشترین مقدار اوسیست دفع شده ۱۹۳ عدد مشاهده

چنین می توان استنباط نمود که مدفوع خرگوش های بالغ بسیار آلوده تر از مدفوع خرگوش های نابالغ می باشد (۱۲) و چون خرگوش ها دارای عادت به نام مدفوع خواری شبانه می باشند و از طرفی می توان به رفتار ذاتی خرگوش ها، که فقط در یک منطقه خاص در اطراف قلمرو خود و در یک محل خاص هر روز اقدام به مدفوع می نمایند احتمال مخلوط شدن انواع مدفوع های حیوانات، در رده های سنی مختلف وجود دارد و به همین دلیل احتمال شیوع گونه های از قبیل *E. fluorescens*، که این گونه بسیار پاتوژن برای خرگوش های جوان می باشد و حتی دوز کم آن می تواند سبب بیماری با موربیدیتی و مورتالیتی زیاد شود (۵) و یا *E. intestinalis*، که این گونه برای خرگوش بالغ پاتوژن نمی باشد، حتی دوزهای بالا سبب بیماری نمی شود ولی برای خرگوش های چند ماهه مشکلات گوارش شدیدی از قبیل اسهال، نزله و زکام و دهیدراتاسیون شدید را به وجود می آورد و حتی در برخی از موارد سبب مرگ حیوانات جوان می گردد (۵) و *E. irresidua*، که این گونه از آیمیریاهای خرگوش یکی از گونه های شدید پاتوژن می باشد و یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده کوکسیدیوز در خرگوش ها می باشد (۴) و همچنین *E. magna*، که این گونه در برخی از موارد خیلی شدید پاتوژن می باشد و از جمله علایم آن کاهش وزن سریع و دهیدراتاسیون و بی اشتها می باشد همراه با مدفوع موکوسی می باشد و یا سطح روده ها در این گونه شدیداً پر خون و ملتهب می شوند و سلولهای اپیتلیوم روده ممکن است نابود شوند و حیوان مبتلا به ندرتا به اندازه وزنی سابق خود برگردد (۵). *E. media* نیز گونه ای از آیمیریاهای خرگوش های وحشی سراسر جهان می باشد که مکان اصلی و اولیه آن در روده باریک می باشد ولی در موارد درگیری روده بزرگ سبب آلودگی های شدید می شود و در خرگوش های اهلی نیز مشاهده می گردد که برای خرگوش های نابالغ بسیار خطرناک می باشد (۵ و ۱۰) همچنین *E. piriformis*، که این گونه از آیمیریا بسیار پاتوژن می باشد

و سایر حیوانات وحشی، انجام تحقیق و مطالعه بیشتر در مورد آیمیریا استیدی در کشور، همکاری بیشتر سازمان محیط زیست با اداره دامپزشکی و حمایت و پشتیبانی از محققان کشور در زمینه تحقیقات دامپزشکی پیشنهاد می‌گردد.

#### تقدیر و تشکر

بدینوسیله از مساعدت های جناب آقای دکتر خلیلی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه، جناب آقای دکتر رستگارنیا ریاست دانشکده دامپزشکی و پیراپزشکی و همچنین جناب آقای مهندس ولیزاده مسئول محترم آزمایشگاه انگل شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه تشکر می‌گردد.

گردید. همچنین براساس آزمون‌های آماری نرم افزار Spss ارتباط معنی داری در میان تعداد اوسیست‌ها در مدفوع‌های موارد مثبت آلوده به انگل آیمیریا وجود نداشت و  $p > 0.05$  بود. در مورد بررسی انواع گونه‌های آیمیریا در خرگوش‌های وحشی ایران قبلا مطالعات بسیار ناچیزی صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه گونه‌های آیمیریا در استان فارس توسط دانشگاه شیراز صورت گرفته بود که به ترتیب (1) *E. perforans*, (2) *E. magna*, (3) *E. media*, (4) *E. irresidua*, (5) *E. flavescens*, (6) *E. coecicola* را به عنوان آیمیریاهای خرگوش‌های وحشی شناسایی کرده بودند و این نشان دهنده هم خوانی این مطالعه با مطالعات قبلی در ایران می‌باشد اگر چه نتایج این مطالعه گسترده تر می‌باشد (۲).

در گزارشی که توسط حدادزاده و توسلی در سال ۱۳۷۷ انتشار گردید، تمامی خرگوش‌های وحشی محصور در قفس شهرستان تنکابن، در اثر آلودگی به آیمیریا استیدی تلف گردیده بودند و کل خرگوش‌های تلف شده ۱۰۰٪ به انواع آیمیریاهای و مخصوصا آیمیریا استیدی مبتلا بودند که نشان دهنده اهمیت بیماری کوکسیدیوزیس در میان خرگوش‌های وحشی می‌باشد (۱۵).

خسارات اقتصادی سالانه حاصل از کوکسیدیوز در خرگوش‌های نژاد آنقوره که جهت موارد تزئینی و پشمی کاربرد دارد، حدود ۴ میلیون دلار آمریکا تخمین زده شده است (۱۷) و همین امر باعث شده است تحقیقات چشمگیری در سطح جهان در رابطه با انگل مذکور در انواع دامها به عمل آید (۱۶). با توجه به اهمیت موضوع، هنوز تحقیقات چندانی در ایران در این زمینه صورت نگرفته است. با توجه به نتایج این بررسی مواردی نظیر: لزوم جلب توجه بیشتر به سایر حیوانات وحشی از جمله خرگوش‌ها، آگاهی مردم به مشکلات و بیماری‌های حیوانات وحشی و عواقب و عوارض آنها، انجام تحقیقات بیشتر در زمینه خرگوش‌ها

**References**

- 1- Eckert, J., Braun, R., Shirley, M.W., Coudert, P. (1995), Guidelines on techniques in coccidiosis research, COST 89/820: Biotechnology. European Commission, Luxembourg, pp: 52–73.
- 2- Eslami, A. Bahadori, Sh. R. (2005) Diagnostic Helminth Infections, Islamic Azad university publications pp:215-236.
- 3- Georgi, J.M., Marinoe, S. (1990) The Merck Veterinary manual. 7<sup>th</sup> Ed. Merck Co. Inc. Rahway. N. J. U.S.A., pp: 4-1551.
- 4- Goudert, M. (1971) Report about of some Genus of Eimeria. Folia parasitology. Parha. 38(2) 13-17.
- 5- Gres, V., Voza, T., Chabaud, A., Landau, I. (2003). Coccidiosis of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in France. Parasite 10: 51–57.
- 6- Hendrix, C.M. (2007) diagnostic veterinary parasitology 387-420.
- 7- Khodadadi, A., Rasouli, S. (2012) A survey on Eimeria contamination and species in wild rabbit of northwest of Iran, DVM Theses No. 400, Islamic azad university, Urmia Branch
- 8- Levine, P.H., Norman, D. (1985) Veterinary protozoology, 2<sup>th</sup> ed., Saunders: W.B. company USA, 125-133.
- 9- Maratel, P.T. (1998) Rabbit coccidiosis in some African country. Vet parasitol, 104: 33-102.
- 10- Pellerdy, L.P. (1974) Coccidia and coccidiosis. 2<sup>nd</sup> edition. Verlag PaulParey, Berlin and Hamburg, pp: 448–459.
- 11- Pilar, R. (2005) Survery of Rabbit coccidiosis in the Iberian peninsula to Tenerife Island (canary Island). 1998-2000.
- 12- Shirley, M.W. (1992) Research on avian coccidiosis: an update. British Veterinary Journal, 48(16)479-499.
- 13- Soulsby, E.J.L. (1986) Helminthes, arthropods and protozoa of domesticated animals, 7<sup>th</sup> ed, Saunders: W.B. company USA, pp: 594-613.
- 14- Stockdale, P.H. G., Bainborough, A.R., Bailey, B.C., Niilo, L. (1998) some patho-physiological changes associated with infection of Eimeria. Journal of Canj company 45(2) 34-37.
- 15- Tavassoli, M. (2006) Diagnostic veterinary Parasitology, 2<sup>th</sup> ed, Urmia university publications, pp: 25-77 & 387-444.
- 16- Tenter, A.M. (2002) The conceptual basis for a new classification of the coccidian. Int J Parasitol, 32:595-616.
- 17- Tranas, J., Heinzen, R.A., Weiss, L.M., McAllister, M.M. (1999) Serological evidence of human infection with the protozoan Neospora caninum, Clin Diagn Lab Immunol. 6:765–7.