

# بررسی واکنش سرولوژیک گاو میش‌های خوزستان در برابر پادگن توکسوپلازما

● شاهرخ نوید پور، مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام خوزستان  
● ناصر حقوقی راد، استاد بخش انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

✓ پژوهش و سازندگی، شماره ۳۵، تابستان ۱۳۷۴

میکرولیتر سرم با رقت‌های مختلف روی هر لکه پادگن روی لام، قرار دادن در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت نیم ساعت، شستشوی لام‌های پادگن با بافر فسفات ۷/۲ دو بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با استفاده از دستگاه تکان دهنده الکتریکی، خشک کردن لام‌ها در هوای آزمایشگاه و اضافه کردن سرم کونزوگه رقیق شده با بافر ۷/۲ به نسبت ۱:۱۰۰ دارای اوانس بلو به نسبت ۱:۱۰۰ روی پادگن‌های فیکس شده، قرار دادن لام‌ها در گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت نیم ساعت شستشوی لام‌ها با بافر ۷/۲ دو بار و هر بار به مدت ۵ دقیقه با کمک دستگاه تکان دهنده الکتریکی، مونته کردن لام‌ها با بافر گلیسرین دار ۷/۲ (با رقت ۱:۱۰۰) و بالاخره مشاهده نتیجه آزمایش با میکروسکوپ فلورسانس. سرم‌های مثبت و منفی شاهد با روش تست رنگی سابقین فلدمن در انستیتو پاستور تهران انتخاب شدند.

## نتایج

طی مدت یک سال (۷۴-۱۳۷۳) جمعاً ۳۸۵ نمونه سرم گاو میش جمع‌آوری و با روش IFAT مورد آزمایش قرار گرفت. از این تعداد ۳۴ نمونه (۸/۸ درصد) با عیار پادتن توکسوپلازما ۱:۱۰۰ و بیشتر مثبت تشخیص داده شد (جدول شماره ۲).

نتایج آزمایش نشان داد که گاو میش‌های دارای سن کمتر از یک سال (۱۰/۸۵ درصد) به نحو چشمگیری در مقایسه با گاو میش‌های دارای سن بیش از یک سال (۴/۷۲ درصد) دارای پادتن ضد توکسوپلازما هستند در تکنیک جنس‌های نر و ماده دیده شد که گاو میش‌های ماده زیر یک سال (۱۲/۱۴ درصد) و بیش از یک سال (۵/۳ درصد) تا حدی نسبت به گاو میش‌های نر زیر یک سال (۹/۳٪) و بیش از یک سال (۳/۸٪) دارای پادتن ضد توکسوپلازما بیشتری می‌باشند (جدول شماره ۳).

ضمناً تست سرم‌های مثبت گاو میش‌ها تنها در ۱۱ مورد از ۲۸ مورد تا ۱:۱۰۰ مثبت بوده که ۷ مورد آن در سرم گاو میش‌های کمتر از یک سال سن مشاهده گردید. (عیار بالاتر بیشتر در جنس ماده دیده شد).

## بحث

در مورد آلودگی گاو میش به توکسوپلازما در نقاط مختلف دنیا مطالعات اپیدمیولوژیک کمی صورت گرفته و در ایران نیز تاکنون مطالعه‌ای انجام نشده است. براساس گزارش Beattie و Dubey (۱) شیوع توکسوپلازما در گاو میش‌های مصر بین ۷ تا ۴۸ درصد با روش‌های IFAT، تست رنگی سابقین فلدمن<sup>۱</sup> و هم‌گلو تیناسیون غیر مستقیم می‌باشد. تنها با انجام آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم ۲۸ درصد از ۲۱۱ رأس گاو میش مصر با عیار ۱:۱۰۰ و بیشتر آلوده به توکسوپلازما گزارش شدند. آلودگی گاو میش‌ها در هندوستان با روش هم‌گلو تیناسیون غیر مستقیم بین ۱۰ تا ۲۴ درصد و در اندونزی با انجام تست رنگی ۰٪ و نیز در ویتنام ۱۰ درصد در مالزی ۱۱ درصد و در ترکیه تا ۸۳ درصد گزارش شده است. در مقایسه با آمار آلودگی گاو میش در نقاط مختلف به نظر می‌رسد میزان ۸/۸٪ آلودگی گاو میش‌های خوزستان نسبت پائین باشد.

داده می‌شود (۱) و در حال حاضر نیز توجه خاصی به تکثیر و استفاده از آن مبذول می‌گردد لازم دیدیم از نظر آلودگی به توکسوپلازما مطالعاتی صورت گیرد تا میزان آلودگی معلوم شود و روش جلوگیری از انتقال انگل به انسان پیشنهاد گردد.

## مواد مورد آزمایش و روش کار

### الف - جمع‌آوری سرم خون گاو میش‌ها

برای جمع‌آوری نمونه‌های خون عمدتاً به گاو میش‌داری‌های اهواز، هفت تپه، اندیمشک، شوش، دزفول، شوشتر، ایذه، شادگان، آبادان، هویزه و بستان مراجعه شد و از وریدوداج هر گاو میش با سرنگ پلاستیکی حدود ۱۰ سی‌سی خون کشیده و در لوله شیشه‌ای تمیز ریخته می‌شد. در موارد معدودی به کشتارگاه اهواز و یا برخی از شهرهای ذکر شده مراجعه و نمونه خون دام هنگام ذبح جمع‌آوری می‌گردید. هنگام خونگیری سن دام به صورت بیش از یک سال و یا کمتر از یک سال و جنس و محل پرورش و تاریخ نمونه‌برداری یادداشت می‌شد. سرم نمونه‌های خون به کمک سانتریفوژ در آزمایشگاه جدا و در فریزر ۴۰- درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری می‌شدند.

### ب - روش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم (IFAT)

سرم گاو میش‌ها براساس روش پیشنهادی O'Neill و Voller (۲) برای ایمنوفلورسانس غیر مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند. پادگن توکسوپلازما از انستیتو پاستور ایران و سرم کونزوگه گاو میش تهیه شده در ایران (آقای دکتر حکیمی) خریداری و استفاده شدند. روش آزمایش به طور مختصر عبارت بود از تهیه لام‌های پادگن و خشک کردن آنها در هوای آزمایشگاه، رقیق کردن سرم گاو میش‌ها و مشاهده با بافر فسفات دارای pH=۷/۲ در میکروتیتراسیون پلیت، اضافه کردن ۱۰

## مقدمه

*Toxoplasma gondii* تک یاخته‌ای از گروه کوکسیدیاست که قادر است حیوانات خونگرم منجمله انسان را آلوده سازد. میزبان اصلی این انگل گربه و خانواده گربه سانان می‌باشد. انگل در روده میزبان اصلی مراحل شیزوگونی و گامتوگونی را طی می‌کند اووسیست تشکیل شده همراه مدفوع دفع می‌گردد. ضمناً در میزبان اصلی مراحل خارج روده‌ای طی می‌شود که منجر به توکسوپلازما بدون علائم و ندرتاً با علائم می‌گردد. میزبانان واسطه با خوردن اووسیست توکسوپلازما و همچنین کیست نسجی موجود در گوشت حیواناتی که به توکسوپلازما آلوده هستند دچار توکسوپلازما می‌گردند. در بدن میزبانان واسطه تنها مرحله غیر جنسی طی می‌شود و انگل با ورود در سیتوپلاسم سلولهای ریکتولولوتلیال اجزاء مختلف به تکثیر می‌پردازد و توکسوپلازما بدون علائم و در مواردی با علائم ظاهری بوجود می‌آورد. انگل به دلیل دفاع بدن به شکل کیست نسجی در اجزاء و یا عضلات میزبان باقی می‌ماند. گاهی انگل در برخی از حیوانات نظیر گوسفند و بز و همچنین انسان از جفت عبور کرده وارد بدن جنین می‌شود و موجب مرگ جنین قبل از تولد و یا ضایعات متعدد در آن می‌گردد. این بیماری عمدتاً در دامپزشکی از نظر اقتصادی و در پزشکی از نظر بهداشتی خصوصاً صدماتی که به جنین وارد می‌سازد حائز اهمیت فراوان است (۲).

تاکنون در مورد آلودگی ساکنین مناطق مختلف استان خوزستان و حیوانات اهلی نظیر گربه، گوسفند، گاو و برخی پرندگان منطقه از نظر آلودگی به توکسوپلازما مطالعاتی صورت گرفته است (۳، ۴ و ۵) ولی در مورد گاو میش که گوشت و شیر و فرآورده‌های آن مصرف فراوانی در بین اهالی دارد گزارشی از آلودگی ارائه نشده است. با توجه به اینکه در استان خوزستان بیش از ۱۱۴ هزار رأس گاو میش نگهداری و پرورش

جدول شماره ۱- انتشار پادتن ضد توکسوپلازما بر حسب سن در سرم ۳۸۵ رأس گاو میش استان خوزستان (۱۳۷۳-۷۴)

تعداد کل	بیش از یک سال		کمتر از یک سال	
	تعداد آزمایش شده	تعداد مثبت	تعداد آزمایش شده	تعداد مثبت
۳۸۵	۱۲۷	۶	۲۵۸	۲۸
		۴/۷۲		۱۰/۸۵

$$X^2 = 3/96, 0.02 < P < 0.05$$

جدول شماره ۲- انتشار پادتن ضد توکسوپلازما بر حسب جنس و سن گاو میش‌های استان خوزستان

تعداد کل	سن کمتر از یک سال		سن بیش از یک سال	
	تعداد آزمایش شده	تعداد مثبت	تعداد آزمایش شده	تعداد مثبت
ماده	۱۴۰	۱۷	۷۵	۴
نر	۱۱۸	۱۱	۵۲	۲
جمع	۲۵۸	۲۸	۱۲۷	۶
		۱۰/۸۵		۴/۷۲

جدول شماره ۳- پادتن ضد *T. gondii* در گاوهای منطقه اهواز

گروه‌های سنی	تعداد آزمایش شده	تعداد موارد مثبت	نسبت درصد
کمتر از ۶ ماه	۵۴	۳۱	۵۷/۴۰
۶ تا ۱۲ ماه	۱۱۹	۲۸	۲۳/۵۲
۱-۳ سال	۱۵۸	۲۱	۱۳/۲۹
۳-۵ سال	۱۳۹	۱۲	۸/۶۲
بیش از ۵ سال	۱۲۲	۴	۳/۲۷
جمع	۵۹۲	۹۶	۱۶/۲۱

## پاورقی

### 1- Sabin-Feldman Test

#### منابع مورد استفاده

- ۱- آمار دامپزشکی، گزارش سالانه شبکه دامپزشکی استان خوزستان
- 2- Dubey J.P. and Beattie, C.P., 1988. Toxoplasmosis of animals and man. CRC Press, PP: 147-8
- 3- Nasser Hoghooghi-Rad and Manijeh Afraa, 1993. Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz, capital of Khoozestan province, south-west Iran. Journal of tropical medicine and hygiene, 96, 163-168.
- 4- Hoghooghi-Rad, Nasser, Sadre-Bazzaz, A.R., Saadat, M., Bozorgnia, A. and Asmar, M., 1994. The trend of toxoplasmosis in sheep and cattle in Khoozestan, Iran.
- 5- Hoghooghi-Rad, N., Razi-Jalali, M., Sadre-Bazzaz, A.R., Seadat-Amoli, M., Ataii-Kachooii, S., and Bozorgnia, A., 1995. Toxoplasmosis in cats, sheep, cattle and some birds in Ahwaz area, Centre of Khoozestan province, Iran. World Veterinary Congress, XXV congress of world vet. Cong. 3-9 Sept. 95-Yokohama, Japan.
- 6- Hashemi-Fesharaki, R., 1996. Sero-prevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. Veterinary parasitology, 61, 1-3.
- 7- Voller, A., and O'Neill, P., 1971. Immunofluorescence methods suitable for large scale application to malaria. Bulletin of the World Health Organization, 43, 524.

روزهای دیگر ذبح گردیدند. قطعات هموژنیزه شده مغز، ریه، کبد، کلیه، عقده‌های لنفاوی مزانتر و پیش کتفی، دیافراگم، طحال و شبکیه چشم هر یک از گوساله‌ها به موش تزریق شد *T. gondii* فقط از نسوج مختلف گوساله‌ای که ۱۱ روز پس از خوردن اووسیت‌ها مرده بود و همچنین فقط از عقده‌های غدد لنفاوی مزانتر دو گوساله پس از روزهای ۲۳ و ۳۲ آلودگی از بدن موش جدا گردید. به عبارت دیگر پس از این مدت احتمالاً انگل زنده نمانده بود (۲).

به هر صورت آنچه که برای پیشگیری می‌توان پیشنهاد کرد آن است که گوشت گاو میش‌های کمتر از یک سال سن به طور اخص و گوشت گاو میش و فرآورده‌های آن نظیر سوسیس و کالباس و غیره به طور اعم می‌توانند به عنوان منابع خطر انتقال انگل به افراد انسانی باشند. در چنین حالتی پختن کامل گوشت لازم است. در خوزستان احتمال آلودگی به توکسوپلازما از طریق مصرف گوشت و فرآورده‌های گوشتی به مراتب بیش از خوردن اووسیت انگل وجود دارد (۳، ۴ و ۵).

## تشکر و قدردانی

بدینوسیله لازم می‌دانم از آقای دکتر حکیمی (آزمایشگاه دانش) که تهیه سرم کونژوگه را بر عهده داشتند و آقایان سعید هادیان و رحیم ترقی تکنسین‌های مؤسسه رازی اهواز و آقای معرف تکنسین بخش انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران صمیمانه تشکر نمایم. همچنین از واحد اطلاع‌رسانی و کامپیوتر مرکز تحقیقات منابع طبیعی و امور دام خوزستان که زحمت تایپ مقاله را بر عهده داشتند سپاسگزارم.

زیاد نبودن میزان آلودگی گاو میش‌های خوزستان ممکن است به دلایل زیر باشد:

الف - آزمایش ایمنوفلورسانس غیر مستقیم روش مناسبی برای تعیین میزان واقعی آلودگی گاو میش‌ها نباشد. به همین لحاظ احتمال دارد انجام روش‌های تشخیصی دیگر ضروری باشد.

ب - به دلیل حرارت زیاد و رطوبت متوسط هوا و میزان بارندگی کم منطقه (۲) اووسیت‌های توکسوپلازما نتوانند به حد کافی زنده بمانند تا تعداد بیشتری از گاو میش‌ها را آلوده سازند (۳، ۴ و ۵).

ج - احتمالاً گاو میش‌ها را آلوده سازند (۳، ۴ و ۵).  
توکسوپلازما نمی‌باشد. زیرا عیار پادتن در موارد مثبت از  $\chi^2$  تجاوز نکرد.

در بررسی حاضر مشاهده شد که آلودگی گاو میش‌های کمتر از یک سال سن (۱۰/۸۵ درصد) به میزان چشمگیری نسبت به گاو میش‌های دارای بیش از یک سال سن (۴/۷۲ درصد) بیشتر است. این وضعیت مشابه آلودگی گاووان و بر عکس روند آلودگی در گوسفندان منطقه است (۴ و ۵). در بررسی آلودگی گاووان منطقه اهواز دیده شد که آلودگی در سنین پائین بیشتر و در سنین بالاتر کاهش می‌یابد به صورتی که در جدول شماره ۱ دیده می‌شود.

اختلاف در آلودگی به توکسوپلازما در آنها در گروه سنی دیده شد بلکه در جنس نر و ماده نیز مشاهده گردید. بدین ترتیب که آلودگی جنس ماده تا حدودی نسبت به جنس نر بیشتر بود. یافته‌های بررسی حاضر، مشابه آلودگی گاووان منطقه است. به عبارت دیگر به نظر می‌رسد که روند بیماری توکسوپلازما در گاو و گاو میش یکسان باشد. میزان با افزایش سن مقاومت بیشتری در مقابل توکسوپلازما کسب می‌کند و این امر احتمالاً منجر به مرگ انگل در مدت کوتاهی می‌شود. در گوسفند بر عکس گاو میش و گاو آلودگی به توکسوپلازما با افزایش سن زیاد می‌شود (۲، ۴ و ۵).

وجود پادتن ضد توکسوپلازما در سنین پائین گاو میش و گاو را نمی‌توان منحصرأ مربوط به عبور پادتن‌ها از مادران آلوده به جنین دانست زیرا تعداد مادران آلوده کم است در حالیکه برعکس در گوسفندان چنین حالتی امکان پذیر است زیرا گوسفندان مسن و خصوصاً ماده حداکثر آلودگی را نشان می‌دهند.

به گزارش Beattie و Dubey (۲) و هاشمی فشارکی (۶) در گاو سقط جنین ناشی از توکسوپلازما دیده نشده است و میزان پادتن در خون گاو طی ۳-۲ ماه رو به کاهش می‌گذارد به عبارت دیگر به نظر می‌رسد که گاو و گاو میش میزبانان مناسبی برای توکسوپلازما نمی‌باشند. در عین حال مطالعات بیشتری لازم است تا وجود کیست‌های نسجی زنده انگل در گوشت گاو میش و فرآورده‌های آن را مشخص سازد.

در یک گزارش تجربی روی گاو میش در هندوستان (۲) معلوم شد که با آلوده کردن ۱۰ گوساله با سوش RH توکسوپلازما ۶ رأس پس از ۱۰ روز با علائم توکسوپلازما منتشره و حاد تلف شدند. در گزارش تجربی دیگر ۸ گوساله ۵-۷ ماهه را با مقادیر ۵۰۰۰۰۰ - ۱۰۰۰۰۰ اووسیت از راه دهان آلوده کردند. چند روز بعد افزایش درجه حرارت و بی‌اشتهایی در همه گوساله‌های تزریق شده دیده شد و یک گوساله دیگر به علت ضعف شدید پس از ۲۳ روز کشته شد و بقیه در