مقایسه دو روش ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک جهت تشخیص تک یاخته سارکوسیست گوسفند در کشتارگاههای استان لرستان

حسین وثوقی[1*]، ناصر حقوقی‌راد[2]، صادق رهبری[2]

تاریخ دریافت: ۹۱/۳/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱

چکیده

تک یاخته سارکوسیست عامل بیماری مشترک انسان ودام می‌باشد. این انگل شیوع جهانی دارد و در بسیاری ازحیوانات آلودگی ایجاد می‌کند. از نظر بهداشتی و اقتصادی ضررهای زیادی را به جوامع انسانی و حیوانی تحمیل می‌کند. سارکوسیستیس یکی از شایعترین انگل های چهار پایان است. بسیاری ازپستانداران وحشی، پرندگان، جانوران خونسرد و انسان راآلوده می‌کند. بعضی ازگونه‌های سارکوسیست ممکن است منجر به بیماری شدید و حتی کشنده در میزبان واسط خود گردند. در این مطالعه آلودگی سارکوسیستیس در گوسفندان کشتارگاه استان لرستان با دو روش ماکروسکوپی و هضمی مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. ۱۸۰ راس گوسفند بطور تصادفی طی دو مرحله از سه کشتارگاه شهرستان‌های بروجرد،خرم آباد وپلدختر استان لرستان انتخاب شد. در مرحله‌ی اول اندام‌های مری،دیافراگم،قلب،عضله سردست و ران به روش ماکروسکوپی بررسی و در مجموع ۳۷ مورد حاوی کیست ماکروسکوپی تشخیص داده شد در مرحله دوم از ۱۸۰ نمونه‌ی انتخاب شده نمونه برداری از قسمت‌های مختلف صورت پذیرفت و به روش هضمی جدا سازی و تهیه گسترش، رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفت که ۱۱۹ نمونه حاوی برادی زوئیت تشخیص داده شد. در این مطالعه اختلاف آماری معنا داری بین دو روش تشخیص ماکروسکوپی و میکروسکوپی دیده شد. ($P<0.01$) و حساسیت تشخیص میکروسکوپی نسبت به ماکروسکوپی قابل ملاحظه بود.

واژگان کلیدی: سارکوسیست، زئونوز، ماکروسکوپی، روش هضمی

مقدمه

استان لرستان در غرب ایران بین ٦٤ درجه و ١٥ تا ٥٠ درجه و ٣ دقیقه طول شرقی از نصف النهارگرینویچ و ٢٣ درجه و ٧٣ دقیقه تا ٤٣ درجه و ٢٢ دقیقه ووسعت آن در حدود ٩٥٥٨٢ کیلومتر مربع با متوسط بارندگی سالانه ٥٠٠ میلی‌متر پس از استان‌های شمالی کشور قرار دارد که شهرستان بروجرد در شمال شرقی این استان با متوسط بارندگی ٣٥٠ میلی‌متر در سال ١٣٩٠ یکی از قطب‌های دامداری در کشور بوده و

١- دانشجوی دکتری تخصصی انگل شناسی دامپزشکی– دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات– دانشگاه آزاد اسلامی-تهران –ایران

٢-استاد، گروه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات– دانشگاه آزاد اسلامی-تهران -ایران

*- پست الکترونیکی نویسنده مسئول: Hosain_vosughi@yahoo.com

پرورش گوسفند در آن رواج دارد. سارکوسیستیس، بیماری زئونوزی است که عامل آن تک یاخته سارکوسیست، با بیش از ۱۲۰ گونه شناسایی شده در جهان، می‌باشدکه اکثر گونه‌ها منجر به عفونت در حیوانات می‌گردد. برخی گونه های سارکوسیستیس در انسان باعث اختلالات گوارشی از جمله؛ تهوع، اسهال و استفراغ می‌شود. منشاء آلودگی در انسان، خوردن گوشت نیم پز و یا خام است.(٦)

برخی گونه ها باعث سقط جنین، کاهش تولید وزن وشیر، کم خونی و حتی مرگ در میزبانان واسط می‌شود(۱).

گوسفند ممکن است به وسیله چهار گونه سارکوسیستیس آلوده شود که عبارتند از: *سارکوسیستیس تنلا Sarcocystis.tenella*، *سارکوسیستیس آریتی کنیس S.ariticanis*، *سارکوسیستیس ژیگانته S. gigantea* و *سارکوسیستیس مدیزیفورمیس S.medusiformis* که دو گونه اخیر غیر پاتوژن می‌باشند. دو گونه سارکوسیست تنلا و آریتی کنیس ممکن است باعث سقط جنین یا عفونت حاد در گوسفندان شود.(۱۰)

دو گونه *S.tenella* و *S.gigantea* در اقصی نقاط دنیا پراکندگی دارند؛ و دو گونه *S.gigantea* و *S.medusiformis* توسط میزبان نهایی گربه به شکل کیست‌های ماکروسکوپی و غیر پاتوژن پراکنده می‌شوند. دو گونه *S.tenella* و *S. arieticanis* به شکل کیست‌های میکروسکوپی و توسط سگ پراکنده شده و پاتوژن می‌باشند.(۱۰)

آلودگی توسط گونه‌های پاتوژن و غیر پاتوژن با خوردن اسپوروسیست همراه مواد غذایی و آب به میزبان واسط منتقل می‌گردد.(۱۰) انگل از لحاظ تولید مثلی و چرخه زندگی، نیاز به دو مرحله‌ی سیر تکاملی دارد. نخست این که این انگل زندگی اجباری داخل سلولی داشته که سیر تکاملی در میزبان (نهایی- واسط) وجود دارد. مرحله غیر جنسی خود را در سلول‌های آندوتلیال میزبان واسط (که معمولاً عروق یک حیوان علف خوار است) طی می‌کند. اندوزوئیت های نسل چهارم (آندوپلوژنی) در عضلات مخطط، بافت عصبی و بافت عضلانی قلب میزبان واسط تشکیل می‌شود.(۱۸) میزبان نهایی با خوردن عضلات آلوده به کیست حاوی برادی زوئیت به تک یاخته مبتلا می‌گردند شیزونت ومتروسیت برای میزبان نهایی آلوده کننده نیستند؛برادی زوئیت ها سیر تکاملی جنسی را در دیواره روده کوچک آغاز می‌کنند و تبدیل به ائووسیست می‌گردند واسپوروسیست حاوی اسپروزوئیت با مدفوع از میزبان نهایی دفع شده و با خوردن آنها توسط میزبان واسط سیکل زندگی انگل کامل می‌شود (۱۸) در بازرسی های کشتارگاهی فقط کیست‌های ماکروسکوپی تشخیص داده می‌شوند و کیست های میکروسکوپی از دید بازرسان مخفی می‌مانند(۱). هدف از این مطالعه مقایسه و ارزیابی دو روش تشخیصی ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هضمی) در تشخیص آلودگی گوشت گوسفندان ذبح شده در کشتارگاههای استان لرستان به سارکوسیستیس بوده است.

مواد و روش کار

در بررسی حاضر؛ کشتارگاههای استان لرستان شهرستانهای بروجرد خرم آباد پلدختر انتخاب، و طی دوره دو ماهه مراجعه به کشتارگاه هر بار ۳۰ نمونه در کشتارگاه به طور کاملا تصادفی گوسفندان ذبح شده انتخاب و در مرحله اول به شکل ماکروسکوپی، عضلات مری، قلب، سردست، دیافراگم مورد بررسی قرار گرفت. مشاهده کیست به شکل ماکروسکوپی مورد مثبت ثبت می‌گردید.در مرحله دوم از گوسفندان ذبح شده، ۵۰ گرم از عضلات مزبور نمونه برداری می‌گردید و درون کیسه نایلونی تمیز قرار داده می‌شد. پس از برچسب گذاری و کد بندی در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل می‌گردید، سپس با استفاده از روش هضمی دوبی

(محلول هضمی حاوی پپسین ۲/۵ گرم، اسید کلریدریک ۱۰ سی سی و ۱۰۰ سی سی فسفات بافر) (۱۲)، نمونه‌ها هضم وبا پارچه تنظیف صاف سپس شیرابه جمع آوری شده ، درون لوله آزمایش ریخته و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفیوژ می‌گردید. بعد از ریختن مایع رویی از رسوب به دست آمده بر روی لام، گسترش تهیه شده و پس از خشک شدن با الکل متیلیک ثابت می‌گردید. در مرحله آخر با رنگ آمیزی گیمسا به مدت ۳۰-۲۰ دقیقه نمونه ها رنگ و در پایان با میکروسکوپ نوری با عدسی ۱۰۰ مورد بررسی و مطالعه قرار می‌گرفت.اشکال برادی زوئیت انگل به عنوان نمونه مثبت تلقی و ثبت می‌گردید. در پایان جهت مقایسه دو روش تشخیصی ماکروسکوپی و میکروسکوپی با نرم افزار SPSS 16 و با استفاده از روش آماری Non parametric test-chi-square مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج

در این مطالعه دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی (هضمی) جهت تشخیص تک یاخته سارکوسیست مورد بررسی قرار گرفت.

طبق نتایج جدول شماره ۱ در تشخیص سارکوسیستیس روش هضمی نسبت به روش ماکروسکوپی داری اهمیت و ارزش بیشتری بود و اختلاف این دو روش از لحاظ آماری معنی دار بود (P<۰/۰۱).

جدول ۱- نتایج آزمایشات ماکروسکوپی و میکروسکوپی جهت تشخیص سارکوسیستیس در کشتارگاههای استان لرستان

کل نمونه‌های بررسی شده در کشتارگاههای استان لرستان (۱۸۰ نمونه)	تشخیص ماکروسکوپی ابتلا به سارکوسیست		تشخیص میکروسکوپی ابتلا به سارکوسیست	
	مثبت	منفی	مثبت	منفی
	۳۷	۱۴۳	۱۱۹	۶۱

بحث

سارکوسیست برای اولین بار در سال ۱۸٤۳ به وسیله میشر در موش خانگی گزارش گردید. این تک یاخته در میزبانان واسط خود به صورت کاملا اختصاصی می‌باشد(۱۷). درایران اولین تحقیقات در خصوص تشخیص سارکوسیستیس توسط Afshar و همکاران (۱۹۷٤) عنوان گردید.(۹)

نتایج تحقیق حاضر ارجحیت روش میکروسکوپی را نسبت به ماکروسکوپی آشکار ساخت و اختلاف معنی داری در تشخیص این دو روش مشاهده گردید. (P<۰/۰۱). مطالعات مختلفی در خصوص جایگاه قرارگیری کیست سارکوسیست در اندام‌های مختلف حیوانات به خصوص گوسفند در ایران و در جهان صورت پذیرفته است، و کمتر به تفاوت تشخیصی بین دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی پرداخته شده است(۱). در مطالعه یDehaghi وهمکاران (۲۰۱۱) در کرمان بر روی ۲۹٤ بز به روش ایمپرژن اسمیر و میکروسکوپی صورت گرفته نشان داد که ۹۸/۹۷ درصد به روش ایمپرژن اسمیر و ۱۰۰ درصد در روش هضمی ابتلا به سارکوسیست وجود داشته است. در این مطالعه میزان شیوع عفونت در مری بیشتر از سایر ارگان‌ها بود. میزان عفونت با سن ارتباطی نداشت و در جنس ماده میزان آلودگی بیشتر از نرها تشخیص داده شد، که با نتایج ما در بخش اول و بهتر بودن روش هضمی مطابقت داشت(۱۱). در مطالعه‌ی فلاح و همکاران (۱۳۸۸) در شهر همدان در سطح کشتارگاه میزان شیوع سارکوسیستیس در گوسفند ٦/۹ درصد به روش مشاهده مستقیم عنوان شده است(٦). در شهرستان سنندج میزان شیوع این آلودگی در گوشت با روش هضمی ۹۳/۳۳ درصد توسط رسولی و همکاران (۱۳۸۸) عنوان شده است(۵). در مطالعه دیگری در استان تهران توسط میریان و همکاران (۱۳۸٦) به صورت مقایسه ای نتایج ماکروسکوپی منفی ولی از نظر میکروسکوپی به روش هضمی ۹۷ درصد میزان آلودگی

بیان شد، که اختلاف معنی داری در تشخیص این تک یاخته با دو روش مشاهده گردید که با نتایج حاصل از این مطالعه مطابقت دارد (۸).در مطالعه دیگری در شهرستان تبریز توسط ارشد و همکاران (۱۳۸٦) به سه روش هضمی، ماکروسکوپی و گسترش بافتی از گوسفندان ذبح شده نتایج زیر به دست آمد. با روش ماکروسکوپی از نواحی مری، ران، بازو، دیافراگم و قلب به ترتیب ۲٤/۷، ۱٦/۲، ۱۷،۲۷/۷ و در روش بافتی ۲/۲ درصد آلودگی مشاهده شد. این در حالی بود که روش هضمی ۱۰۰ درصد آلودگی را نشان می داد. در این بررسی روش‌های گسترش بافتی و ماکروسکوپی، آلودگی را کمتر از روش هضمی نشان دادند. بنا براین روش هضمی حساس ترین روش آشکارسازی واقعی آلودگی گوسفندان به سارکوسیستیس شناخته شد(۱).که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت د ارد. همچنین در مطالعه دیگری در کشتارگاه قائم شهرستان شهریار توسط کامل (۱۳۷۸) وجود ۱۰۰ درصد الودگی در گوشت با روش هضمی مشخص گردید. در این مطالعه روش هضمی را ارجح تر از روش هیستو پاتولوژی دانسته است(۷) .که با نتایج ما در این تحقیق نیز همخوانی داشت.

در تنکابن به روش ماکروسکوپی توسط اکبریان وهمکاران (۱۳۸٦) میزان شیوع سارکوسیستیس در کشتارگاه، ۱٤/۵۵ درصد عنوان شد(۲).در قزوین توسط دلیمی و همکاران ۱۳۷۸ با روش PCR گونه‌های سارکوسیستیس در گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه زیاران مورد مطالعه قرار گرفت. در این مطالعه، کیست‌های ماکروسکوپی متعلق به سارکوسیستیس ژیگانته آ و کیست‌های میکروسکوپی متعلق به سارکوسیستیس آریتی کنیس بوده اند(٤).

در مطالعه بنیادیان وهمکاران (۱۳۸۲)در شهرستان شهرکرد میزان شیوع سارکوسیستیس در کشتارگاه به روش میکروسکوپی ۹۱ درصد بوده است(۳).

در بررسی Latif و همکاران (۱۹۹۹) در کشور همسایه عراق نیز طی مطالعه ای به روش ماکروسکوپی ٤/۱ درصد گوسفندان و با روش هضمی ۹۷ درصد میزان آلودگی را گزارش داده‌اند. (۱٤). در مطالعات صورت گرفته در سایر نقاط جهان میزان آلودگی گوسفندان، در کشورهای آلمان ٤/ ۸۵ درصد اسپانیا۹٦ درصد، استرالیا ۹۳ درصد توسط Oryan وهمکاران (۱۹۹٦) آلودگی بیان شده است. (۱۵) همچنین در کشور فرانسه ۹٤/۸ درصد، ترکیه ۹۷ درصد، آمریکا ۱۰۰ درصد آلودگی عنوان شده است(۱٦). در اتیوپی ۹۳ درصد و اسلواکی ۸۷/٦ درصد آلودگی گزارش شده است(۱).

در مطالعات صورت گرفته توسط Dubey و همکاران (۱۹۸۹) در گاو عنوان شده، گونه‌های آلوده‌کننده گاو که میزبان نهایی آن سگ و سگ سانان است، در میزبان واسط تولید کیست میکروسکوپی می‌نماید. همچنین عنوان گردیده، گونه هایی که میزبان نهایی آن گربه است، در مناطق محدود بوده که علت آن تماس کمتر گاو با گربه بوده است و یا این که دفع اسپروسیست از گربه در مقایسه با سگ کمتر است. به همین دلیل کیست‌های میکروسکوپی نسبت به ماکروسکوپی بیشتر می باشد(۱۲).

از آن جایی که چهار گونه ی سارکوسیست در گوسفند وجود دارد و دو گونه ی پاتوژن آن، یعنی سارکوسیست تنلا و سارکوسیست آریتی کنیس توسط میزبان نهایی سگ منتشر می شود و چون شکل کیست میکروسکوپی است، اهمیت روش تشخیص هضمی تک یاخته سارکوسیستیس را آشکارتر می سازد. سگ‌ها و گربه‌ها میزبانان قطعی برای تعدادی از گونه‌های شناخته شده سارکوسیستیس گوسفند هستند. یکی از دلایل وقوع عفونت شدید در میزبانان واسط، به این علت نسبت داده می شود، که حیوانات مزارع در ارتباط نزدیکی با سگ‌های نگهبان گله هستند و سگ ها چراگاهها را با اسپروسیت‌های سارکوسیستیس آلوده می‌کنند(۱). در یک مطالعه در بغداد توسط Latif و

همکاران (۱۹۹۹)نشان داده شده است که سگ‌های آلوده، حدود ۲۰۰ میلیون اسپروسیست (روزانه چهار میلیون اسپروسیست) در طول دوره آلودگی دفع می کنند(١٤) . همچنین در مطالعات Dubey وهمکاران (١٩٧٦) اشاره شده که سگ‌های آلوده، حدود دو میلیون اسپروسیست در روز دفع می کنند و اسپروسیست ها در زمان دفع خاصیت آلوده کنندگی دارند که این فاکتور، نقش مهمی را در اشاعه و اپیدمیولوژی سارکوسیستیس بازی می‌کند(۱۳).

لذا با توجه به بررسی حاظر که اکثریت کیست ها در لاشه گوسفندان میکروسکوپی بوده ومیزبان نهایی آن سگ میباشد و از آنجا که ارتباط گله ی گوسفند با سگ گله نیز زیاد است و با توجه به آلودگی بالای دام ها و همچنین با توجه به بازرسی لاشه ها در کشتارگاه ها به صورت ماکروسکوپی به نظر میرسد ضرورت در تغییر نحوه بازرسی و کنترل گوشت ها در کشتارگاه ها و همچنین تصمیم گیری روشهای ویژه در از بین بردن آلودگی گوشت قبل از مصرف برای جلوگیری از آلودگی انسان لازم باشد. همچنین پیشنهاد میگردد با توجه به عدم امکان جدا سازی سگ آلوده باگله ومراتع در صورت امکان سازمانهای مربوطه در خصوص واکسیناسیون سگ گله وگوسفندان کشوراقدامات لازم را هر چه سریعتر اجرایی نمایند تا هم میزان خسارات مستقیم ناشی از این آلودگی برطرف و هم ابتلای انسانی آن کنترل و پیشگیری گردد.

تشکر و قدردانی

از جناب آقای دکتر رضا گودرزی وجناب آقای دکتر شهرام نخجوان کمال تشکر وقدردانی را دارم.

منابع

۱- ارشد،م. دلیمی اصل،ع. غفاری فرد، ف(١٣٨٦): مطالعه مقایسه‌ای تشخیص سارکوسیستیس در لاشه گوسفند ذبح شده در کشتارگاه تبریز. مجله پژوهش و سازندگی. امور دام و آبزیان ۷۵. ۲.صفحه۷۲-٦٩

۲- اکبریان، ح. جبلی جوان ،ا. ایزدی ،س.س.(١٣٨٦): آلودگی به سارکوسیستیس در گاو، گوسفند ،بز در طول یک سال مطالعه در کشتارگاه تنکابن. ششمین کنگره انگل شناسی و بیماریهای انگلی ایران.کرج.موسسه رازی.

۳- بنیادیان، م . مشکی، ب . (۱۳۸۲): میزان آلودگی سارکوسیستیس در حیوانات اهلی کشتار شده در شهرکرد. مجله پژوهش و سازندگی.امور دام و آبزیان۷۵.صفحه ۱۸-١٤.

٤- دلیمی، ع. پایکاری، ح. اسماعیل زاده ،م. ولی زاده ،م. کریمی،غ. معتمدی ،غ. عبدی گودرزی،م (۱۳۸۷): تعیین گونه‌های سارکوسیستیس گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه زیاران قزوین با روشPCR-RFLP.مجله علوم پزشکی مدرس.(۱۱).(۱ و ۲) صفحه ۷۲-٦٥

٥- رسولی، س. صادقیان،م. کریمیان،ص. ولیزاده، الف، جعفری، ک(۱۳۸۸): بررسی میزان شیوع آلودگی گوشت به تک یاخته سارکوسیست در شهرستان سنندج با روش هضمی. مجله پژوهش نوین دامپزشکی. ۱(۳):صفحه ۳۲-۲۷

٦- فلاح، م. متینی،م. بیگم کیا،ع. موبدی،الف (۱۳۸۸): بررسی شیوع آلودگی به انگل‌های مشترک انسان و دام (کیست هیداتیک، ترماتودهای کبدی، سارکوسیستیس) در دامهای کشتار شده در کشتارگاه صنعتی همدان. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی همدان ۱۷ (۳):صفحه۱۲-۵

۷- کامل،ع(۱۳۷۸):بررسی میزان فراوانی سارکوسیست در عضلات گوسفند و بز کشتارگاه قائم شهریار به دو روش هضمی و آسیب شناسی.پایان نامه دکترای حرفه ای تخصصی شماره ۳۷۰ ،دانشکده دامپزشکی آزاد اسلامی واحد کرج صفحه۲۰-۱٦

۸- میریان، س.ج. دلیمی ، ع.ح.حبیبی ،ق .(۱۳۸٦): فراوانی سارکوسیستیس در گاوهای کشتار شده در استان تهران.ششمین کنگره انگل شناسی و بیماریهای انگلی ایران.کرج.موسسه رازی.

9- Afshar, A., Naghshineh, R.,Neshat, H.,(1974): Incidence of Sarcosporidiosis in sheep in Iran.Tropical Animal Health.6(4) :1920

10- .Anja,H., Tenter,R., Astrie, M., Tokai, J., (1999): Comparision of Immunologicil and Molecular Methods for the Diagnosis of Infections with Pathogenic Sarcocystis species in Sheep.Exprimental Medical Clinical ., Vol.23,No.6,PP.293-30

11- Dehaghi, M. M., Fathi,S., Norozi Asl,E., (2011): Survey of Sarcocystis infection in Slaughtered goats in Kerman Abattoir,Southeast of Iran. Journal of Animal and veterinary advances.Volume:10 ISSUE:9: 1205-1208

12- Dubey, G.P., Speer,C.A., Fayer,R., (1989): Sarcocystosis of animals and Man.Florida,CRC.Press.

13- Dubey, J.P., (1976): A review of Sarcocystis of domestic animals and of other Coccidian of Cats and Dogs. Journal of Veterinary Medicine.169(10) :1067-1078

14- Latif, B. M. A., Al-Delemi, J. K., Mohammed, B.S., Al-Bayati,S.M., and Amiry, A. M., (1999): Prevalance of SarcocystisSPP.In meat production Animals in Iraq. Veterinary Parasitilogy, 84:85-90

15- Oryan, A., Moghaddar, N., Gaur, S.N., (1996): The distribution pattern of Sarcocystis species, their transmission and pathogenesis in sheep in fars province of Iranian Veterinary Research. 20, 3:53-243

16- Razmi,G., Rahbari,S., (2000): Study of Sarcocystis in the domestic ruminants of Tehran and GolestanProvince. Journal of veterinary Faculty , ShahidChamran University.40:39-46

17- Ronald,f., (2004): Sarcocystis spp. inHuman infections clinical microbiology Reviews.17,4: 894-902

18- Soulsbe, E. J. L., (1982): Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals 7th.Bailliere Tindall .: 682-686