بررسی خصوصیات فیلوژنی و مورفولوژیکی یک زیر گروه از خانواده بالانتیدیدا شناسایی شده در شامپانزه همراه با پاتوژنر و روند درمان

پیمان محمدزاده[۱*]، قاسم محمدی [۲]

چکیده

کیست‌ها و تروفوزوئیت‌های متعلق به تک‌یاخته‌های مژک‌دار زیر رده وستیبولیفرید نخستی ها در نمونه‌های مدفوع یک شامپانزه نر مسن اسیر (Pan troglodytes) در باغ وحش ارم تهران شناسایی شد. بعنوان رفرنس مقایسه ای، اطلاعات کامل مربوط به تک‌یاخته‌های مژک‌دار جدا شده از گوریل‌های اسیر در باغ‌وحش سانفرانسیسکو در ایالات متحده آمریکا و باغ جانورشناسی برلین در اروپا در این مطالعه مورد استفاده قرار گرفتند. تجزیه و تحلیل فیلوژنتیکی تک‌یاخته‌های مژک‌دار وستیبولیفرید شناسایی‌شده با استفاده از ITS1-5.8s-rRNAITS2 و ۱۸ اس-دی‌اکسی ریبونوکلئیک اسید ریبوزومی (rDNA) نشان داد که تک‌یاخته‌های مژک‌دار شامپانزه‌ها با تک‌یاخته‌های مژک‌دار شبیه Buxtonella از سایر نخستی‌ها در یک گروه یکسان خوشه‌بندی شده‌اند. بررسی مورفولوژیکی کیست‌ها و تروفوزوئیت‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری، تفاوت‌هایی را که برای شناسایی جنس تک‌یاخته‌های مژک‌دار به اندازه کافی قوی باشد، نشان نداد. از آنجایی که B. coli یک انگل مشترک بین انسان و دام است و قرار گیری حیوانات مبتلا در شرایط محیط های اسارت و نیمه اسارت ممکن است انتقال به انسان را تسهیل کند، اقدامات پیشگیرانه موثری جهت منترل بیماری و انتقال صورت گیرد.

واژگان کلیدی: شبه بوکستونلا ، پان تروگلودیت، فیلوژنی مولکولی، پاتوژنز، مژک داران وستیبولیفرید

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/٤/۲٤

مقدمه

تعداد قابل توجهی از انگل های گزارش شده دستگاه گوارش در نخستی سانان در هر دو جمعیت اسیر و آزاد به طور بالقوه جزو عوامل انگلی مشترک در بین انسان و حیوانات هستند(۱). رابطه فیلوژنتیکی نزدیک بین انسان و دیگر نخستی سانان، خطر انتقال بالقوه عوامل بیماری‌زا (از جمله انگل‌های دستگاه گوارش) را افزایش می‌دهد. چنین انتقالی به راحتی در شرایط تماس نزدیک انسان با سایر نخستی‌ها، به ویژه در اسارت اتفاق می‌افتد (۲). در طبیعت، خطر آلوده شدن پریماتهای وحشی توسط پاتوژن های با منشأ انسانی با افزایش مداخلات و حضورانسانها درمحدوده زندگی آنها افزایش می یابد(۳). نزدیکی پریماتها به سایر گونه‌های جانوری در باغ وحش ها و سایر محیط‌های اسارت، ممکن است انتقال انگل‌های عمومی با خاصیت چند میزبانی و عدم حساسیت به میزبان خاص را تسهیل کند و این حیوانات ممکن است به عنوان مخزن عفونت برای نخستی‌ها عمل کنند (٤). علاوه بر این، فضای محدود در محیط‌های اسارت که منجر به تماس نزدیک با حیوانات دیگر می‌شود، فرصت مناسبی را برای انتقال انگل ایجاد می‌کند (۵).گونه ای از تک یاخته های مژه دار که اصطلاحا بالانتیدیوم کولایی خوانده می شوند جزو انگل های بسیار شایع دستگاه گوارش در جمعیت پریماتهای غیر انسانی و بویژه در شرایط اسارت هستند(٦) تا همین اواخر، مژک داران زیر رده وستیبولیفرید نخستی ها که جزو زیر رده تریکوستوماتیا از رده لیتوستوماتئا مربوط به شاخه مژکداران ، به عنوان یک گونه واحد و تحت عنوان بالانتیدیوم کولایی خوانده می شدند(۷). اما اخیرا مجددا طبقه بندی شده و در جنس بالانتیوئیدس کولایی قرار گرفته اند (۸).با این حال، پوماجبیکووا و همکاران در

۱* .گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ازاد اسلامی واحد سنندج، ایران
peymanpathology@yahoo.com
۲. مدیریت باغ وحش ارم تهران

سال۲۰۱۳ وجود یکی دیگر از گونه های مژک دار از زیر رده وستیبولیفرید و شبیه به باکستونلا را در نخستی سانان تایید کردند. (۹). با کمک مطالعات ملکولی تا کنون بالانتیدیوم کولایی در انواع مختلفی از نخستی سانان از جمله بابون مقدس (Papio hamadryas)، ماکاکهای اسیر (Macaca fascicularis)، نخستینیان آفریقایی اسیر (Gorilla Gorilla, Pan troglodytes, P. paniscus) و گوریل کوهی آزاد (Gorilla beringei beringei) شناسایی شده است(۹).مطالعات دیگر، از جمله گزارش‌ات مربوط به ابتلای اورانگوتان‌ها، تنها بر اساس نتایج حاصل از مطالعات میکروسکوپی، حضور بالانتیدیوم کولایی را نشان داده است ولذا تعیین طبقه بندی دقیق عامل بیماریزا در این موارد ممکن است نادرست باشد. (۱۰)در مقابل، ابتلا به مژکداران شبیه به باکستونلا در میمونها تا کنون هیچگاه با استفاده از آنالیزهای مولکولی بررسی نشده‌است، بلکه فقط در نخستی سانان خانواده میمونهای دنیای قدیم (Cercopithecidae) گزارش شده است.(۱۱)تجزیه و تحلیل مولکولی مژکداران زیر رده وستیبولیفرید بر اساس تقویت دی انای ریبوزومی ۱۸اس و عامل فاصله‌گذار رونویسی داخلی متکی بوده است(۱۲).در حالی که ژن دی انای ریبوزومی ۱۸اس معیارهای اساسی طبقه بندی و ارتباط گونه ها را در سطح بالایی نشان می دهد، عامل فاصله‌گذار رونویسی داخلی نشانگر پلی مورفیک مناسبی برای تعیین گونه و ارزیابی تنوع درون گونه ای این مژکداران می باشد.(۱۳)بالانتیدیوم کولایی به عنوان یک باکتری همسفره روده ای طبقه بندی می شود(۱٤) اما می تواند تحت شرایط خاصی بیماریزا باشد و باعث ایجاد علائم بالینی در انسان و نخستی های اسیر شود(۱۵)در نخستی ها ، عفونت ممکن است بدون علامت یا همراه با کم آبی، اسهال خونی یا مخاطی، کاهش وزن، بی اشتهایی، بی حالی، تنسموس و پرولاپس رکتوم باشد. برخی از موارد بالانتیدیوز می تواند حتی کشنده باشد(۱٦) شدت عفونت می تواند تحت تأثیر رژیمهای غذایی غنی از نشاسته(۱۵) و یا استرس تغییر کند که به طور کلی منجر به سرکوب سیستم ایمنی می شود.(۱۷)

بالانتیدیوزیس مستقیماً از طریق مدفوعی – دهان بین افراد منتقل می شود، اما یکی از منابع اصلی عفونت می تواند خوک های اهلی (Sus scrofa domestica) و گراز وحشی (Sus scrofa) باشد.(۱٦)علیرغم شناسایی مکانیسمهای اولیه بیماریزایی پالانتادیوم دربرخی از نخستی سانان ، هیچ اطلاعاتی در مورد اینکه آیا عفونت مژک داران شبه باکستونلا می‌تواند از نظر بالینی در نخستی سانان آشکار شود یا خیر، تاکنون در دسترس نبوده است.

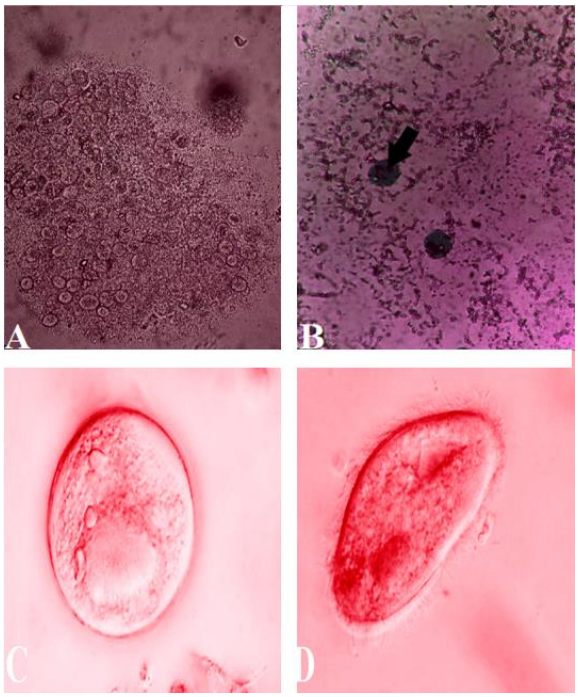
مواد و روش‌کار

گزارش درمانگاهی

پیرو گزارش مراقبین مبنی بر اسهال متناوب و شدید آبکی، بی اشتهایی،اتساع شکمی ، کم آبی، بی حالی وتنسموس در یک شامپانزه نر بالغ اسیر مسن (70 ساله) در باغ وحش ارم تهران، ضمن بیهوشی(ترکیب دارویی کتامین(mg/kg3) و مدتومیدین(mg/kg 0.03)آنتاگونیست داروی آتی پامزول(mg/kg0.5))وضعیت حیوان مورد بررسی قرار گرفت. ضمن بررسی تاریخچه مشخص شد که شامپانزه مذکور مبتلا به نارسایی مزمن و پیش رونده قلب و همچنین کاتاراکت دوطرفه و متعاقبا اندوفتالمیت همزمان دوطرفه می باشد (نگاره ۱).

نگاره ۱: کاتاراکت دوطرفه ومتعاقبا اندوفتالمیت همزمان دوطرفه و کهولت سن شامپانزه

پس از انجام معاینات بالینی و اخذ نمونه های پاراکلینیکی لازم، بلافاصله درمان حمایتی با ترکیب دارویی (Ringer's lactate IV fluid+Duphalyte Solution for Injection(Duphalyte,Pfizer Animal Health; 100–300 ml) شروع شد. در طول معاینه فیزیکی، شامپانزه تب دار بود و علائم کم آبی داشت. سونوگرافی محوطه شکمی طبیعی بود اما همچنانکه انتظار می رفت داده های ECG شامل هیپرتروفی بطن چپ همراه با کسر جهشی بطن چپ ، فیبریلاسیون دهلیزی وعلایمی از سندرم کیو.تی بود نمونه های تازه از مدفوع (حداقل ۵ گرم)گرفته شده و در ظروف نمونه گیری استاندارد ۳۰ میلی لیتری ذخیره گردید. نمونه های مدفوع اخذ شده جهت انجام مطالعات بعدی بصورت جداگانه در الکل اتانول و نیز فرمالین ۱۰ درصد نگهداری شدند. بازه زمانی انتقال نمونه ها به آزمایشگاه ۳۰ تا ۶۰ دقیقه بود. در بررسی آزمایشگاهی نمونه های مدفوع، تعداد زیادی تروفوزوئیت به طول حدود ۵۰ میکرومتر و عرض ۳۵ میکرومتر دیده شد که به عنوان تروفوزوئیت مربوط به یکی از گونه های مژک دار از زیر رده وستیبولیفرید و شبیه به باکستونلا شناسایی شد (نگاره ۲).



نگاره ۲: (الف) کیست ها و تروفوزوئیت شبه باکستونلا تهیه شده به روش وت مانت و بزرگنمایی صدبرابر.(wet mount: بزرگنمایی اصلی ۱۰۰×). (ب) تروفوزوئیت که ماکرونوکلئوس و واکوئل را در مرکز و مژک ها را برروی دیواره سلولی خارجی نشان می دهند (رنگ آمیزی تری کروم بزرگنمایی اصلی ٤۰۰×).(ج) نمای بزرگتر کیست با واکوئل مشخص موجود در داخل آن(رنگ آمیزی تری کروم بزرگنمایی اصلی ۲۰۰۰× Apexel APL-MS002CBK).(.(د): تروفوزوئیت با بزرگنمایی بیشتر(رنگ آمیزی تری کروم بزرگنمایی اصلی ۲۰۰۰× لنز میکروسکوپی Apexel APL-MS002CBK).

جداسازی DNA، PCR، توالی یابی و شبیه سازی

جهت انجام این مرحله ، قبل از شروع پروسه جداسازی DNA ، نمونه های مدفوع اخذ شده و نگهداری شده در الکل اتانول به مدت ٢٤ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند تا اتانول تبخیر شود.سپس DNA کامل با استفاده از کیت Stool DNA isolation kit (شرکت کیاژن فناور)، طبق پروتکل شرکت سازنده استخراج شد. ژن Partial 18S rRNA (۱۲۷۰ جفت باز) مژه‌داران براساس پرایمرهای Eukaryotic 18S and Universal 16S/18S Ribosomal RNA

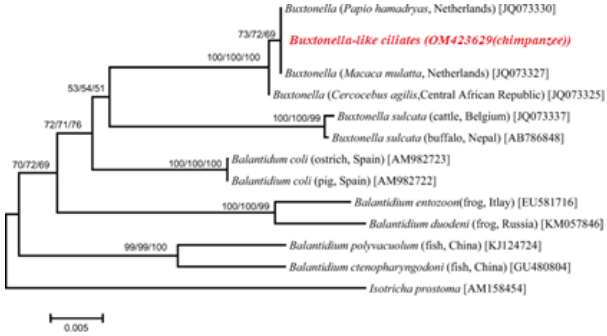
Primers با استفاده از EmeraldAmp GT PCR Master Mix TaKaRa 40t (TAKARA BIO INC.تاکارا،ژاپن، توسط شرکت امینسان) تکثیر شد، در حالی که ناحیه فاصله انداز رونویسی شونده داخلی ITS1-5.8s-rRNA-ITS2 region (دوناحیه فاصله انداز رونویسی شونده داخلی‌در یوکاریوت ها وجود دارد: ITS۱ بین ژن های S۱۸ و S rRNA۵.۸ قرار دارد، در حالی که ITS۲ بین S۵.۸ وS۲۸ است)به کمک آغازگرهای B5D/B5RC طراحی شده توسط پونس گوردو و همکاران (Ponce-Gordo و همکاران، ۲۰۱۱) با استفاده از 2X Pfu Master Mix (شرکت کیان ژن فن آور) تقویت شد(جدول۱). حجم کل مخلوط ۲۵ میکرولیتری PCR برای ژن Partial 18S rRNA حاوی ۱۲.۵ میکرولیتر پلیمراز بوده و اندازه ان برابر با ۱ میکرولیتر از اندازه ۱۰ میکرولیتری هر پرایمر بود. درضمن حجم DNA الگو ۲ میکرولیتر بود.

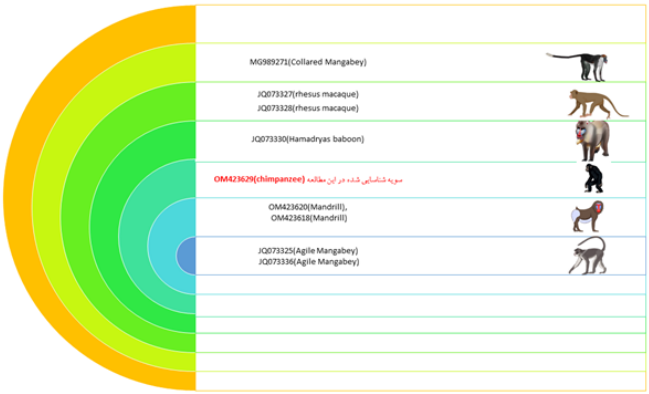
جدول۱: پرایمرهای طراحی شده و شرایط واکنش آنها

پرایمر	توالی ۵'→۳'	شرایط واکنش	ناحیه
EukA SSUrBB	AACCTGGTTGATCCTGCCAGT AAATACATAGTCCCTCTAAGAAGTC	۱۰ دقیقه در دمای ۹۴°سانتیگراد،۳۵ سیکل یک دقیقه ای در دمای ۹۴°سانتیگراد،۴۰ ثانیه در دمای ۵۴.۹°سانتیگراد،۹۰ ثانیه در دمای ۷۲°سانتیگراد و ۵ دقیقه در دمای ۷۲°سانتیگراد	rDNA
B5D B5RC	GCTCCTACCGATACCGGGT GCGGGTCATCTTACTTGATTTC	۱۰ دقیقه در دمای ۹۴°سانتیگراد، ۳۰ سیکل یک دقیقه ای در دمای ۹۴°سانتیگراد، ۶۰ ثانیه در دمای ۶۱°سانتیگراد، ۶۰ ثانیه در دمای ۷۲°سانتیگراد و ۵ دقیقه در دمای ۷۲°سانتیگراد	srRNA-ITS2

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک

تمام توالی‌های به‌دست‌آمده از این مطالعه با توالی‌های موجود در GenBank با استفاده از نرم افزار Geneious 2023.x همسو شدند.بطوریکه هفت توالی به‌دست‌آمده برای 18S rDNA در طول پروژه حاضر شامل ۱۶۲۹ جفت باز بود که با ۸۲ توالی از Genbank همتراز شد. در بانک ژنی از مشخصات مربوط به اپیسپاتیدیوم پاپیلیفروم (Epispathidium papilliferum (DQ411857))به عنوان داده های برون گروهی استفاده شد.تراز نهایی توالی‌های ناحیه ITS (۵۳٤ جفت باز) شامل ۱۱ توالی جدید و ۹٤ توالی تکراری از داده های موجود در پایگاه Genbank بود که شباهت نسبی به جنس‌های Balantioides، Buxtonella،و Balantidium را نشان داد.و لذا روابط فیلوژنتیکی به شیوه استنباط بیزی و با استفاده از نرم افزار MrBayes 3.2.6 و از طریق مدل جایگزینی GTR + G بازسازی شد(نگاره۳).





نگاره ۳: آنالیز فیلوژنیکی و میزان همسانی سویه جدا شده. (A) آنالیز فیلوژنیک و همسانی سویه جدا شده درخت فیلوژنتیکی بر اساس ژنوم کامل سویه جدا شده ترسیم گردیده است (۱۲۷۰ جفت باز). ناحیه قرمز نشان دهنده سویه شناسایی شده در این مطالعه است که با استفاده از روش اتصال به همسایگی با ۱۰۰۰ بوت استرپ با استفاده ازنرم افزار MEGA11: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 11 ترسیم شده است. نوارهای مقیاس متناسب با فاصله ژنتیکی هستند. مقادیر Bootstrap > 70% در هر گره نشان داده شده است.

نتایج

نتایج مورفولوژی

کیست ها به شکل کروی تا بیضی و همراه با وجود واکوئل واضح و قابل مشاهده دیده شدند ودارای یک دیواره شفاف ضخیم بودند که تروفوزوئیت قابل مشاهده داخل آن را محکم در بر می گرفت (نگاره۱a). در مجموع، ۲۱ کیست با میانگین طول ۵۰ میکرومتر (محدوده ۵۹.٦-۳۳.۷.۰) و عرض ٤٨.۳ میکرومتر (محدوده ۷۰.۳ -۳۵.۱) اندازه گیری شدند.

در بررسی تمام نمونه ها در مجموع سه تروفوزوئیت سالم با میانگین طول ۵۱.۳ میکرومتر (محدوده ۵٦.۹-٤۵.۱) و میانگین عرض ٤۲ میکرومتر (محدوده ٦۳.٤-۳۷.۲) اندازه گیری شد. تروفوزوئیت ها تخم مرغی شکل با مژک های سوماتیکی قابل مشاهده و در حقیقت برجستگی‌هایی روی سطح تروفوزوئیت‌ها در ردیف‌های موازی، شبیه اثر انگشت قرار داشتند وهمچنین تروفوزوئیتها دارای سیتوستوم واضح در انتهای قدامی بدن و حاوی واکوئل های غذایی بودند (نگاره c۱).

تجزیه و تحلیل فیلوژنتیک مژک داران زیر رده وستیبولیفرید

هفت توالی به‌دست‌آمده برای18S rDNA در طول پروژه حاضر یکسان بودند. نتایج به دست امده از درخت فیلوژنتیکی نشان داد که همه هفت توالی یکسان متعلق به یک زیر گروه از کلاس بالانتیوئیدس که شامل جدایه‌هایی از سایر نخستی‌ها از جمله مانگابی آگیلی (Agile mangabey ,Cercocebus agilis)، مانگابی طوقی (Collared mangabey ,Cercocebus torquatus) میمون رزوس (Rhesus macaque ,Macaca mulatta)، شاه بابون (مندریل)(Mandrill Mandrillus sphinx,)و بابون مقدس(Papio hamadryas) بوده و علاوه بر آن دارای قرابت بالایی با چند توالی مربوط به خوک (pig ,Sus scrofa domestica)، شترمرغ (Struthio camelus, ostrich,)، شترمرغ آمریکایی بزرگ (common rhea Rhea americana) و خوکچه هندی (Guinea pig Cavia porcellus,) می باشد. (نگاره۳). سایر زیر خوشه های بالانتیوئیدس در این قسمت شامل توالی هایی بودند که عمدتا مربوط به خوک ، فیل آسیایی (Asian elephant ,Elephas maximus indicus)، و مورچه خوار غول پیکر (giant anteater ,Myrmecophaga tridactyla) بودند، اما هم تراز سازی توالی زوجی در کلاد Balantioides به بیش از ۲.۱٪ نمی رسید. بطور کلی تمام توالی‌های به‌دست‌آمده در این مطالعه به GenBank با شماره‌های الحاقی -OM423618 OM423624 (18S rDNA) معرفی و پیوست شدند.

بحث

پایش منظم انگل‌ها در نخستی‌های اسیر از جمله شناسایی مولکولی و ژنوتیپ آن‌ها باید بخش مهمی از برنامه های مدیریت سلامت در باغ وحش ها و سایر مراکز حفاظت و نگهداری از گونه های حیات وحش باشد چرا که می‌تواند منجر به کاهش خطر انتقال عوامل انگلی بین انسان و سایر نخستی‌ها شود. با این حال، متاسفانه اکثرا تجزیه و تحلیل ژنتیکی به طور معمول انجام نمی شود، و بررسی های متمرکز بر عفونتهای انگلی در نخستی های اسیر به ندرت منتشر شده و بصورت گسترده با جوامع علمی به اشتراک گذاشته می شود. در اینجا، ما نتایج مطالعه‌ای را ارائه می‌کنیم که بر بررسی یکی از عومال انگلی مهم و کمتر مورد بررسی قرار گرفته دستگاه گوارش با پتانسیل مشترک بودن بین انسان و دام در شامپانزه های مستقر در باغ‌وحش ارم تهران متمرکز است و داده‌های مهم مبتنی بر تجزیه و تحلیل DNA را برای تحقیقات آینده ارائه می‌کنیم.

عوامل انگلی در شامپانزه ها بـه طـور کلـی کمتـر از سـایر میمـون هـای بـزرگ آفریقـایی مـورد مطالعـه قـرار گرفتـه اند(۱۸). شامپانزه های اسیر، نیمه اسـیر و وحشـی معمـولاً دچـــار آلـــودگی بـــا انـــواع مختلفـــی از پروتوزوئرهـــا(Protozoa(Protist) و کـــرم هـــای انگلی(helminths) با میزان پایین اختصاصی بودن میزبان می گردند(۱۸).

در بین عوامل انگلی شناسایی شده در این مطالعه می تـوان بـه Giardia intestinalis اشـاره نمـود کـه یـک انگـل معمولی با ویژگی میزبان اختصاصی کم اسـت. عفونـت بـه این انگل در نخستی ها می تواند بدون علامت یا بـا علائـم بالینی مانند اسهال یا استفراغ رخ دهد (۱۹) که ایـن علایـم در طول مطالعه ما مشاهده نشد. در این مطالعه همچنین E. coli و Chilomastix sp شناسـایی گردیـد کـه جـزو عوامل انگلی هستند که معمولاً در میمون‌های بـزرگ دیـده می‌شوند. هر دوی این عوامل به طور طبیعی در نخستی هـا وجود دارند و برای میزبان بیماری زا نیسـتند (۲۰ و۲۱). بـا این حال، رایج‌ترین انگل‌های دستگاه گوارش شناسایی‌شـده در شامپانزه های اسیر و آزاد، مـژک‌داران (۲۲و۲۳)، کـه در مطالعه ما، نیـز اصـلی تـرین عامـل انگلـی شناسـایی شـده بود.تشخیص رایج ترین عوامل آلودگی انگلی در نخستی ها در بیشتر مطالعات مبتنی بر مطالعات میکروسـکوپیک بـوده است (۲٤و۲۵و۲٦و۲۷). در مطالعاتی که بـرروی مهمتـرین عوامـل آلـودگی انگلـی در منـدریلها[1](Mandrillus sphinx) انجام گرفته است نتـایج مشـابهی حاصـل شـده است (۲۸و۲۹). بطور کلـی، مطالعـات اخیـر (۸و۱۳و۲۰) و همچنین نتایج حاصل از مطالعه ما نشان می‌دهد که حداقل دو گونـه از مـژک داران زیـر رده وسـتیبولیفرید ، بـه طـور خاص کلی فورمها و مژک داران شبه باکستونلا در نخسـتی ها وجود دارند. به دلیل عدم وجـود سـاختارهای شناسـایی واضح و اختصاصی بر روی کیست های این مژک داران، به سختی می توان این دو گونه را از طریق مورفولوژی از هـم متمایز نمود بنابراین سوابق گزارش شده در مطالعات قبلـی در ارتبـاط بـا وجـود مژکـداران زیـر رده وسـتیبولیفرید در نخستی ها ممکن است نشان دهنده وجـود گـروه دومـی از وستیبولیفریدها (مژک دارهای شبیه بوکستونلا) باشد.

ارزیابی فیلوژنیک مطالعه حاضر در ارتباط بـا منـاطق 18S rDNA و ITS نتایج تقریباً یکسانی را نشـان دادنـد و بـه وضوح تعلق این مژکداران شناسایی شده را بـه مـژک داران زیر رده وستیبولیفرید در زیرشاخهA از گونـه بالانتوئیـدس کولایی نشان دادند.

در مطالعات قبلی وجـود ایـن مـژک دار در نخسـتی هـای مختلف، از جمله میمون‌های بـزرگ آفریقـایی در اسـارت ، چندین گونه مختلف از ماکـاک هـا در اسـارت(۳۰و۳۱)، و گوریـل کـوهی وحشـی(Gorilla beringei beringei) (۳۲)، گزارش شده بود و نتایج ایـن مطالعـه طیـف میزبـان های فرعی این مژکدار را به شامپانزه ها نیز گسترش داد.

در این مطالعه، ما بـرای اولـین بـار، آنالیزهـای مولکـولی- فیلوژنتیکی را انجام داده و وقوع بالانتوئیدس کـولایی را در شامپانزه های اسیر موجود در بـاغ وحـش ارم تهـران تاییـد کردیم. در گذشته تشخیص اینکه شامپانزه ها (شـامل اسـیر، نیمـه اسـیر و وحشـی) بـه یکـی از مـژک داران زیـر رده وستیبولیفرید شامل انواع شـبه بوکسـتونلا یـا بالانتوئیـدس کولایی آلوده هستند غیـرممکن بـود. بالانتوئیـدس کـولایی اغلب سبب آلودگی در نخستی های اسیر، از جملـه میمـون های بزرگ می شود (۳۳). در مقابل، به نظر می‌رسـد مـژک داران شبه باکستونلا به نخستی‌های خانواده میمونهای دنیای قـدیم (Old World monkey,Cercopithecidae) هم در اسارت و هم در طبیعت محدود می‌شـوند (۳٤و۳۵)، که توسط نتایج حاصل از مطالعه ما نیز حداقل برای شرایط اسارت تایید می‌شود.

به نظر می رسد که بالانتوئیدس کولایی کمتر وابسته به میزبان اختصاصی بوده و ممکن است در نخستی های مختلف و همچنین در انسان رخ دهد، در حالی که مژه داران شبه باکستونلا عمدتاً نخستیانی غیر از میمون های بزرگ را آلوده می کند. لذا طراحی و اجرای یک برنامه مطالعاتی مبتنی بر شناسایی فیلوژنی مولکولی جهت روشن شدن نحوه توزیع و ویژگی های اختصاصی میزبان دو مژک دار وستیبولیفرید در جمعیت نخستی های وحشی، نیمه اسیر و اسیر ضروری است.

وجود عوامل انگلی بالقوه بیماری زا و مشترک بین انسان و دام در نخستی های اسیر در باغ وحش ها و گاهی اوقات در سایر مراکز نگهداری از حیات وحش قابل توجه و در خور توجه بیشتر است. به نظر می‌رسد که این انگل به ندرت در میمون‌های بزرگ آزاد ایجاد آلودگی نماید(۳۶)، در حالی که در اسارت، ممکن است عواملی وجود داشته باشد که حساسیت نخستی ها را به این عفونت افزایش دهند. در مورد بالانتوئیدس کولایی ، همبستگی مثبتی بین تعداد این مژکداران در نمونه‌های مدفوع نخستی های اسیر و میزان محتوای مواد غذایی بر پایه نشاسته در جیره غذایی وجود دارد (۳۷). تغذیه بهینه میمون‌های بزرگ در محیط‌های (نیمه) اسیر برای جلوگیری از بیماری‌های متابولیک، مشکلات دندانی یا الگوهای رفتاری غیرعادی از اهمیت بالایی برخوردار است (۳۸و۳۹و۴۰). بنابراین، نقش رژیم غذایی در شامپانزه های آلوده به بالانتوئیدس کولایی باید در مطالعات آینده بررسی شود.

توالی یابی وجود مژک دار بالانتوئیدس کولایی را در مطالعه ما تایید کرد. با این حال، سوال در مورد شناسایی این عامل بیماریزا بر اساس ویژگی های مورفولوژیکی که در زیر میکروسکوپ مشاهده می شود، مطرح می شود. به طور کلی، کیست‌های تشکیل‌شده توسط مژک داران زیر رده وستیبولیفرید از نظر اندازه و شکل حتی در یک گونه متفاوت است که این امر شناسایی دقیق آنها را بسیار پیچیده می‌کند (۳۵و۳۹و۴۰و۴۱). اگرچه کیست‌ها در زیر میکروسکوپ کمی متفاوت به نظر می‌رسند (برای مثال وجود واکوئل بزرگ در کیست‌های بالانتوئیدس کولایی)، ما ویژگی‌های اختصاصی محکم و قابل اعتمادی که بین بالانتوئیدس کولایی و مژک داران شبه Buxtonella در نمونه‌های مدفوع نخستی ها با استفاده از آنالیزهای میکروسکوپی تمایز قائل شود، پیدا نکردیم.

فهرست منابع

1. Islam S, Rahman MK, Uddin MH, Rahman MM, Chowdhury MN, Hassan MM, Magalhaes RS, Islam A. Prevalence and diversity of gastrointestinal parasites in free-ranging rhesus macaques (Macaca mulatta) in different land gradients of Bangladesh. American Journal of Primatology. 2022 Jan;84(1):e23345.
2. Keita MB, Hamad I, Bittar F. Looking in apes as a source of human pathogens. Microbial pathogenesis. 2014 Dec 1;77:149-54.
3. Dunay E, Apakupakul K, Leard S, Palmer JL, Deem SL. Pathogen transmission from humans to great apes is a growing threat to primate conservation. EcoHealth. 2018 Mar;15:148-62.
4. Modrý D., & Escalante, A. 2018. Parasites of orangutans.
5. Sanchez, C. R., & Pich, A. (2018). Manegament of parasitoses of apes under human care settings. In D. Modrý, B. Pafčo, J. K. Petrželková & H. Hasegawa (Eds.), Parasites of Apes. An atlas of coproscopic diagnostics (pp. 87–91). Edition Chimaira.

6. Nurcahyo W, Konstanzová V, Foitová I. Parasites of orangutans (primates: ponginae): an overview. American Journal of Primatology. 2017 Jun;79(6):e22650.
7. Malmsten PH. Infusorien als intestinal-thiere beim menschen. Archiv für pathologische Anatomie und Physiologie und für klinische Medicin. 1857 Aug;12(2):302-9.
8. Chistyakova LV, Kostygov AY, Kornilova OA, Yurchenko V. Reisolation and redescription of Balantidium duodeni Stein, 1867 (Litostomatea, Trichostomatia). Parasitology Research. 2014 Nov;113:4207-15.
9. da Silva Barbosa A, Ponce-Gordo F, Dib LV, Uchôa CM, Bastos OM, Pissinatti A, Amendoeira MR. First molecular characterization of Balantioides coli (Malmsten, 1857) isolates maintained in vitro culture and from feces of captive animals, Rio de Janeiro, Brazil. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. 2017 Dec 1;10:102-13.
10. Supriadi W, Fitria RW, Nurcahyo RW. Balantidium sp. infection in faeces samples of orangutan (Pongo pygmaeus) from Care center and Tanjung putting national park area, central Borneo. Biology, Medicine & Natural Product Chemistry. 2012;1(1):47-52.
11. Yan W, He K, Qian W, Wang T, Zong YA, Zhang M, Wei Z, Han L. First molecular identification of Buxtonella ciliates from captive-bred mangabeys (Cercocebus torquatus) from China. Parasitology research. 2018 Dec;117:3753-9.
12. Grim JN, Jirků-Pomajbíková K, Ponce-Gordo F. Light microscopic morphometrics, ultrastructure, and molecular phylogeny of the putative pycnotrichid ciliate, Buxtonella sulcata. European journal of protistology. 2015 Oct 1;51(5):425-36.
13. Pomajbíková K, Obornik M, Horák A, Petrželková KJ, Grim JN, Levecke B, Todd A, Mulama M, Kiyang J, Modrý D. Novel insights into the genetic diversity of Balantidium and Balantidium-like cyst-forming ciliates. PLoS neglected tropical diseases. 2013 Mar 28;7(3):e2140.
14. Schuster FL, Ramirez-Avila L. Current world status of Balantidium coli. Clinical microbiology reviews. 2008 Oct;21(4):626-38
15. Schovancová K, Pomajbíková K, Procházka P, Modrý D, Bolechová P, Petrželková KJ. Preliminary insights into the impact of dietary starch on the ciliate, Neobalantidium coli, in captive chimpanzees. Plos one. 2013 Nov 25;8(11):81374.
16. Strait K, Else JG, Eberhard ML. Parasitic diseases of nonhuman primates. Nonhuman primates in biomedical research. 2012;297:197
17. de Oliveira AS, Gómez-Hernández C, Rezende-Oliveira K. Balantidium coli infection, immune status and comorbidities: literature review. Revista de Patologia Tropical/Journal of Tropical Pathology. 2021;50(4):265-84.

18 .HODEČEK S. Přenos infekčních onemocnění mezi člověkem a lidoopy.

19. Strait K, Else JG, Eberhard ML. Parasitic diseases of nonhuman primates. Nonhuman primates in biomedical research. 2013;297:197

20. Jirků-Pomajbíková K, Vlčková K. Intestinal amoebas. Parasites of Apes. An atlas of coproscopic diagnostics. 2016:104.

21. Kváč, M., & McEvoy, J. (2018). Chilomastix mesnili. In D. Modrý, B. Pafčo, J. K. Petrželková & H. Hasegawa (Eds.), Parasites of Apes. An atlas of coproscopic diagnostics (pp. 100–101).

22. Foitová I, Huffman MA, Wisnu N, Olsansky M. Parasites and their impacts on orangutan health. Orangutans–Geographic Variation in Behavioral Ecology and Conservation. 2009:157.

23. Nurcahyo W, Konstanzová V, Foitová I. Parasites of orangutans (primates: ponginae): an overview. American Journal of Primatology. 2017 Jun;79(6):22650.

24. Kilbourn AM, Karesh WB, Wolfe ND, Bosi EJ, Cook RA, Andau M. Health evaluation of free-ranging and semi-captive orangutans (Pongo pygmaeus pygmaeus) in Sabah, Malaysia. Journal of Wildlife Diseases. 2003 Jan 1;39(1):73-83.

25Kuze N, Kanamori T, Malim TP, Bernard H, Zamma K, Kooriyama T, Morimoto A, Hasegawa H. Parasites found from the feces of Bornean orangutans in Danum Valley, Sabah, Malaysia, with a redescription of Pongobius hugoti and the description of a new species of Pongobius (Nematoda: Oxyuridae). Journal of Parasitology. ۲۰۱۰ Oct 1;96(5):954-60.

26. Labes EM, Wijayanti N, Deplazes P, Mathis A. Genetic characterization of Strongyloides spp. from captive, semi-captive and wild Bornean orangutans (Pongo pygmaeus) in Central and East Kalimantan, Borneo, Indonesia. Parasitology. 2011 Sep;138(11):1471-22.

27Mul IF, Paembonan W, Singleton I, Wich SA, van Bolhuis HG. Intestinal parasites of free-ranging, semicaptive, and captive Pongo abelii in Sumatra, Indonesia. International Journal of Primatology. 2007 Apr;407:20-28.

28. Poirotte C, Basset D, Willaume E, Makaba F, Kappeler PM, Charpentier MJ. Environmental and individual determinants of parasite richness across seasons in a free-ranging population of M andrills (M andrillus sphinx). American Journal of Physical Anthropology. 2016 Mar;159(3):442-54.

29Setchell JM, Bedjabaga IB, Goossens B, Reed P, Wickings EJ, Knapp LA. Parasite prevalence, abundance, and diversity in a semi-free-ranging colony of Mandrillus sphinx. International Journal of Primatology. 2007 Dec;134:28.

۳۰. Burnside RJ, Collar NJ, Dolman PM. Dataset on the numbers and proportion of mortality attributable to hunting, trapping, and powerlines in wild and captive-bred migratory Asian houbara Chlamydotis macqueenii. Data in brief. 2018 Dec 1;21:1848-52.

31. da Silva Barbosa A, Ponce-Gordo F, Dib LV, Uchôa CM, Bastos OM, Pissinatti A, Amendoeira MR. First molecular characterization of Balantioides coli (Malmsten, 1857) isolates maintained in vitro culture and from feces of captive animals, Rio de Janeiro, Brazil. Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports. 2017 Dec 1;10:102-13.
32 .Pomajbíková K, Obornik M, Horák A, Petrželková KJ, Grim JN, Levecke B, Todd A, Mulama M, Kiyang J, Modrý D. Novel insights into the genetic diversity of Balantidium and Balantidium-like cyst-forming ciliates. PLoS neglected tropical diseases. 2013 Mar 28;7(3):2140.
33. Hassell JM, Blake DP, Cranfield MR, Ramer J, Hogan JN, Noheli JB, Waters M, Hermosilla C. Occurrence and molecular analysis of Balantidium coli in mountain gorilla (Gorilla beringei beringei) in the Volcanoes National Park, Rwanda. Journal of Wildlife Diseases. 2013 Oct 1;49(4):1063-5.
34. Nurcahyo W, Konstanzová V, Foitová I. Parasites of orangutans (primates: ponginae): an overview. American Journal of Primatology. 2017 Jun;79(6):e22650.
35. Pomajbíková K, Petrželková KJ, Profousová I, Petrášová J, Modrý D. Discrepancies in the occurrence of Balantidium coli between wild and captive African great apes. Journal of Parasitology. 2010 Dec 1;96(6):1139-44.
36. Yan W, He K, Qian W, Wang T, Zong YA, Zhang M, Wei Z, Han L. First molecular identification of Buxtonella ciliates from captive-bred mangabeys (Cercocebus torquatus) from China. Parasitology research. 2018 Dec;117:3753-9.
37. Edwards MS, Ullrey DE. Effect of dietary fiber concentration on apparent digestibility and digesta passage in non-human primates. II. Hindgut-and foregut-fermenting folivores. Zoo Biology: Published in Affiliation with the American Zoo and Aquarium Association. 1999;18(6):537-49.
38. Kuhar CW, Fuller GA, Dennis PM. A survey of diabetes prevalence in zoo-housed primates. Zoo Biology. 2013 Jan;32(1):63-9.
39. Plowman A. Diet review and change for monkeys at Paignton Zoo Environmental Park. Journal of Zoo and Aquarium Research. 2013 Oct 31;1(2):73-7.
40. Kuze N, Kanamori T, Malim TP, Bernard H, Zamma K, Kooriyama T, Morimoto A, Hasegawa H. Parasites found from the feces of Bornean orangutans in Danum Valley, Sabah, Malaysia, with a redescription of Pongobius hugoti and the description of a new species of Pongobius (Nematoda: Oxyuridae). Journal of Parasitology. 2010 Oct 1;96(5):954-60.
41. Mul IF, Paembonan W, Singleton I, Wich SA, van Bolhuis HG. Intestinal parasites of free-ranging, semicaptive, and captive Pongo abelii in Sumatra, Indonesia. International Journal of Primatology. 2007 Apr;28:407-20.
42. Pafčo B, Tehlárová Z, Jirků Pomajbíková K, Todd A, Hasegawa H, Petrželková KJ, Modrý D. Gastrointestinal protists and

helminths of habituated agile mangabeys (Cercocebus agilis) at Bai Hokou, Central African Republic. American Journal of Primatology. 2018 Feb;80(2):e22736.