

بررسی هیستوپاتولوژیک و انگل‌شناسی ضایعات چشمی در کانگوروهای باغ وحش تهران: یافته‌های تشخیصی و پیامدهای بالینی

شاداب مسیحیان^۱، پیمان محمدزاده^{۲*}، سیامک کاکه خانی^۲

مقدمه

چشم به عنوان یکی از پیچیده‌ترین ارگان‌های حسی در پستانداران نقش حیاتی در بقا و رفتارهای حیوانی ایفا می‌کند. در میان کیسه‌داران (Marsupials)، کانگوروها (Macropods) به دلیل ویژگی‌های آناتومیک و فیزیولوژیک منحصر به فرد سیستم بینایی مورد توجه ویژه قرار دارند. (۱) این جانوران دارای میدان دید محیطی وسیع و دید دوجسمی دقیق هستند (۲). اما در شرایط اسارت در برابر عوامل عفونی و انگلی بسیار آسیب‌پذیرند (۳) ساختار چشم کانگوروها دارای ویژگی‌های متمایزی شامل عنبیه ضخیم، مردمک دایره‌ای و فوندوس با رنگدانه‌ای شدید است. (۴) وجود عروق هیالوئیدی پایدار و میلینه شدن لایه فیبر عصبی در اطراف دیسک بیناییز دیگر ویژگی‌های بارز این گونه است (۵) این ساختارهای پیچیده، آنها را در معرض بیماری‌های چشمی متعددی قرار می‌دهد. ارزیابی آسیب‌شناسی چشم در کیسه‌داران با چالش‌های تشخیصی متعددی همراه است. تفاوت در تعاریف بالینی و هیستوپاتولوژیک بیماری‌هایی مانند یوونت می‌تواند منجر به تفسیرهای نادرست شود. (۶) ساختارهای حفاظتی مانند پلک سوم و غدد اشکی که نقش کلیدی در ایمنی موضعی دارند، خود می‌توانند محل عفونت‌های انگلی شوند. (۷) عفونت‌های انگلی ملتحمه و کیسه اشکی هم باعث ضایعات چشمی مستقیم می‌شوند و هم زمینه را برای عفونت‌های ثانویه فراهم می‌کنند (۸) گزارش‌های کوری اپیدمیک در کانگوروهای اسیر که با ضایعات کوروئیدیت و رتینیت همراه بوده، اهمیت بررسی عوامل انگلی را نشان می‌دهد. (۹) این مطالعه با هدف توصیف جامع الگوهای بالینی و هیستوپاتولوژیک ضایعات چشمی و تعیین شیوع آلودگی‌های انگلی در ملتحمه و کیسه

چکیده

این مطالعه به بررسی الگوهای بالینی و هیستوپاتولوژیک عفونت‌های انگلی ملتحمه و اشکی در کانگوروهای باغ وحش تهران می‌پردازد. با توجه به نگرانی فزاینده در مورد سلامت حیات وحش و تأثیر احتمالی عفونت‌های انگلی بر حیوانات باغ وحش، یک بررسی جامع از شرایط چشمی در کانگوروها برای شناسایی ضایعات رایج و علل زمینه‌ای آنها انجام شد. این تحقیق شامل بررسی چهار لاشه کانگورو از سردخانه باغ وحش و ۲۶ کانگورو قرمز زنده در باغ وحش ارم بود که بین ۲ تا ۱۰ سال سن داشتند و بر اساس جنسیت تفکیک شدند. تحت بیهوشی عمومی، ارزیابی‌های چشمی با استفاده از ابزارهای تشخیصی مانند افتالموسکوپ و ورتینوسکوپ انجام شد. ضایعات بیوپسی شدند و اسلایدهای سیتولوژی برای ارزیابی پاتولوژی تهیه شد. آزمایش‌های اضافی شامل تست اشک شیرمر، اندازه‌گیری فشار داخل چشم و ارزیابی فلور ملتحمه بود. ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک به طور خاص بر روی لاشه کانگورو نر انجام شد که تست توکسوپلازما گوندی مثبت بود. ارزیابی‌های سیتولوژیک سلول‌های التهابی، سلول‌های نکروزه و بقایایی را نشان داد که نشان‌دهنده التهاب شدید اپی‌تلیوم قرنیه است. شایع‌ترین ضایعات چشمی شناسایی شده شامل ضربه به پلک، ضربه جسم خارجی، تورم پلک ناشی از کمبود ویتامین A و زخم قرنیه. شایان ذکر است، تمام ۳۰ نمونه خون جمع‌آوری‌شده از نظر توکسوپلازما گوندی مثبت بودند که با روش‌های PCR تأیید شد. آنالیزهای آماری تفاوت معنی‌داری را در بار توکسوپلازما بین نمونه‌های خون و بافت نشان داد ($p < 0.01$)، با همبستگی قوی بین نتایج مثبت PCR در هموزنه‌های خون و بافت. این مطالعه شیوع ضایعات چشمی در کانگوروهای مرتبط با عفونت‌های انگلی، به ویژه توکسوپلازما گوندی را برجسته می‌کند. این یافته‌ها بر نیاز به مراقبت‌های دامپزشکی و نظارت بر حیوانات باغ وحش برای مدیریت و پیشگیری موثر بیماری‌های چشمی تأکید می‌کند.

واژگان کلیدی: کانگورو، باغ وحش تهران، ضایعات چشمی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۶/۲۲

۱. فارغ‌التحصیل مقطع دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد سمنجان، سمنجان، ایران.
۲. گروه پاتوبیولوژی دامپزشکی، واحد سمنجان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، سمنجان، ایران. pathology@iau.ir

بررسی مردمک با افتالموسکوپ مستقیم انجام شد. اندازه‌گیری کمی پارامترها شامل سنجش تولید اشک با تست شیرمر نوع I (Schirmer tear test type I) بدون بی‌حسی موضعی، اندازه‌گیری فشار داخل چشمی با تونومتر پنتون (Tono-Pen) و ارزیابی یکپارچگی قرنیه با فلورسین سدیم ۱ صورت گرفت.

روش نمونه‌گیری و میکروبیولوژی: برای نمونه‌برداری از سواب ملتحمه از سواب استریل پلی‌استر استفاده شد و نمونه‌برداری از فورنیکس تحتانی (inferior fornix) با چرخش ۳۶۰ درجه انجام گردید. نمونه‌ها بلافاصله به محیط انتقالی آمیز منتقل شدند. اسپراسیون کیسه اشکی پس از بی‌حسی موضعی با پروپاراکائین ۰/۵ درصد و کانولاسیون مجرای اشکی با کانولا ۲۴ G انجام شد. در بخش آزمایشگاهی، کشت باکتریایی بر روی محیط‌های بلاد آگار حاوی ۵٪ گوسفند و مک‌کانکی آگار در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸-۷۲ ساعت انجام گردید. رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی شامل گرم، گیمسا و کالکوفلور سفید برای شناسایی عوامل عفونی به کار رفت.

بررسی هیستوپاتولوژیک: در بررسی هیستوپاتولوژیک، نمونه‌ها در فرمالین بافر خنثی ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت فیکس شدند. پس از آبگیری با گرادیان اتانول و شفاف‌سازی با زایلن، آغشته‌سازی با پارافین در دمای ۶۰ درجه سانتیگراد انجام شد. مقاطع بافتی به ضخامت ۴ میکرون با میکروتوم روتاری تهیه و با روش هماتوکسیلین-ئوزین و رنگ‌آمیزی اسید پرئودیک شیف رنگ‌آمیزی شدند.

آزمایش‌های مولکولی: در بخش مولکولی، استخراج DNA با کیت QIAamp DNA Mini Kit انجام شد و کیفیت DNA با اندازه‌گیری جذب نوری (spectrophotometry) ارزیابی گردید. واکنش PCR زمان واقعی (real-time PCR) با

پرایمرهای اختصاصی ژن B1 توکسوپلازما گوندی (*Toxoplasma gondii*) انجام شد. شرایط واکنش شامل مرحله اولیه دناتوراسیون در ۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه و ۴۰ سیکل تکثیر (۹۵ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ ثانیه و ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱ دقیقه) بود.

تحلیل آماری و ملاحظات اخلاقی: تحلیل آماری با استفاده از آزمون نرمالیتی شاپیرو-ویلک (Shapiro-Wilk test)، آزمون t

اشکی کانگوروهای باغ وحش تهران طراحی شده است. بررسی همزمان نمونه‌های زنده و لاشه‌ها، امکان مقایسه‌ای بی‌سابقه بین یافته‌های بالینی و آسیب‌شناسی را فراهم می‌آورد. با توجه به نبود داده‌های سیستماتیک در ایران (۱۰) این مطالعه می‌تواند مبنایی برای برنامه‌ریزی‌های بهداشتی در مراکز نگهداری حیات وحش باشد. شناسایی عوامل انگلی شایع و الگوهای آسیب‌شناسی مرتبط با آن‌ها، گامی اساسی در جهت پیشگیری و درمان هدفمند بیماری‌های چشمی در این گونه باارزش محسوب می‌شود.

مواد و روش کار

طراحی مطالعه و جامعه آماری: این مطالعه به صورت کوهورت آینده‌نگر بر روی ۳۰ نمونه کانگوروی قرمز (*Macropus rufus*) شامل ۲۶ نمونه زنده و ۴ نمونه لاشه انجام شد. **روش نمونه‌گیری:** نمونه‌ها به روش تصادفی سیستماتیک از جمعیت باغ وحش ارم تهران انتخاب شدند. بدین صورت که پس از تهیه فهرست کامل حیوانات، با استفاده از یک عدد شروع تصادفی، هر *n*امین کانگورو از لیست انتخاب شد. **محاسبه و توجیه حجم نمونه:** با توجه به ماهیت اکتشافی این مطالعه و نبود داده‌های پایه در مورد شیوع دقیق بیماری‌های چشمی یا توکسوپلاسموز در جمعیت کیسه‌داران ایران، **محاسبه حجم نمونه آماری به روش کلاسیک امکان‌پذیر نبود.** بنابراین، حجم نمونه بر اساس حداکثر تعداد در دسترس (Census-based sampling) از حیوانات واجد شرایط در بازه زمانی مطالعه و با هدف اولیه انجام آنالیزهای توصیفی و مقایسه‌ای پایه تعیین گردید. این روش در مطالعات اولیه بر روی جمعیت‌های محدود حیوانات باغ وحشی یک رویکرد متداول است.

معیارهای ورود و خروج: معیارهای ورود شامل وجود علائم چشمی بالینی (ترشحات موکوییدی یا پورولنت، اریتم ملتحمه (conjunctival erythema)، کدورت قرنیه (corneal opacity)، محدوده سنی ۲-۱۰ سال و عدم دریافت درمان دارویی در ۴ هفته اخیر بود.

معاینات چشمی بالینی: معاینات اولیه شامل ارزیابی بینایی با تست تهدید (menace response test)، تست پلک زدن و

جدول ۱: توزیع آناتومیک ضایعات چشمی در کیسه‌داران مورد

مطالعه			
جزئیات	درصد (±)	تعداد	محل
	انحراف معیار)	موارد	آناتومیک
زخم سطحی: ۹ مورد ۳۰±۲/۸٪			
زخم عمیق: ۴ مورد ۱۳/۳±۲/۱٪			
	۵۰±۳/۲٪	۱۵	قرنیه و صلبیه
-	±۳/۱٪ ۴۶/۷	۱۴	سیستم اشکی- ملتحمه
-	۲۰±۲/۵٪	۶	ضمایم چشمی
-	%۰	۶	عنبیه

بررسی سیتولوژیک (نگاره ۲) نشان داد میانگین تعداد سلول‌های التهابی در میدان میکروسکوپی (×۴۰۰) برای نوتروفیل‌ها ۳۵±۴ سلول (۲۸-۴۲)، لنفوسیت‌ها ۲۲±۳ سلول (۱۸-۲۶) و ماکروفاژها ۱۵±۲ سلول (۱۲-۱۸) بود. تست‌های عملکردی چشم نشان دادند آستانه لمس قرنیه در کانگوروی قرمز ±۰/۱۲ تا ۱/۳۳ سانتی متر و در والابی ۱/۶±۰/۱۵ سانتی متر است (نمودار ۱). نتایج تست شیرمر به ترتیب ۱۴/۲۲±۱/۳ و ۱۴/۲±۱/۲ میلی متر بر ۵ دقیقه ثبت شد.

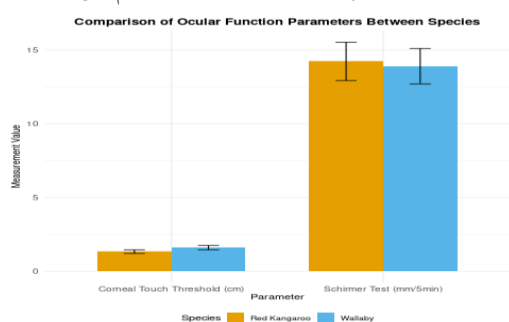
مستقل (independent t-test) برای مقایسه میانگین‌ها و تحلیل واریانس یکطرفه (one-way ANOVA) برای مقایسه گروه‌ها انجام شد. سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد و تحلیل داده‌ها با نرم‌افزار Prism 9.0 صورت پذیرفت. این مطالعه با تاییدیه کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد سنندج (IR.IAU.SDJ.REC.1403.141) و مطابق با اصول هلسینکی (Helsinki Declaration) انجام شد. تمام مراحل نمونه‌برداری با رعایت اصول رفاه حیوانات (animal welfare) و تحت نظارت دامپزشک باغ وحش (دکتر پیمان محمدزاده) انجام گردید.

کنترل‌های کیفی: کنترل‌های کیفی شامل استفاده از کنترل مثبت سویه استاندارد ATCC 50611، کنترل منفی (آب مقطر استریل) و انجام تمام آزمایشات به صورت سه تکرار بود. پارامترهای کمی مورد ارزیابی شامل شاخص التهاب چشمی، میزان ترشحات و شدت کدورت قرنیه بودند. داده‌های کیفی شامل الگوی توزیع ضایعات، خصوصیات ماکروسکوپی ضایعات و الگوی رنگ‌پذیری در رنگ‌آمیزی‌های اختصاصی مورد تحلیل قرار گرفتند.

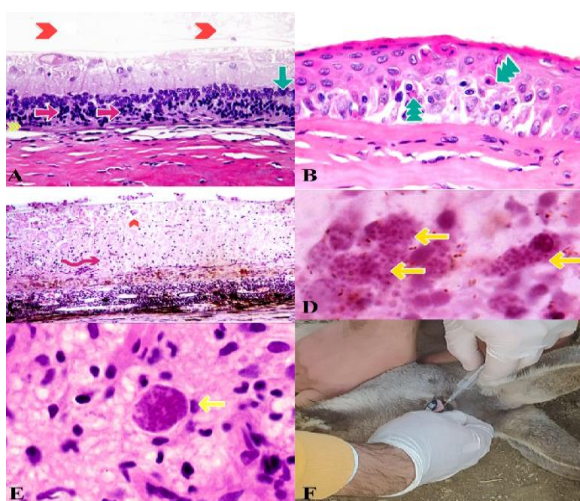
نتایج

نتایج این مطالعه جامع که طی یک دوره ۱۸ ماهه بر روی ۳۰ نمونه انجام شد، الگوی مشخصی از ضایعات چشمی را در کیسه‌داران نشان داد. توزیع آناتومیک ضایعات (جدول ۱) حاکی از آن بود که قرنیه و صلبیه با ۱۵ مورد (۵۰±۳/۲٪) شایع‌ترین محل درگیری بودند، شامل ۹ مورد (۳۰±۲/۸٪) زخم سطحی و ۴ مورد (۱۳/۳±۲/۱٪) زخم عمیق قرنیه (نگاره ۱). سیستم اشکی-ملتحمه با ۱۴ مورد (۴۶/۷±۳/۱٪) و ضمایم چشمی با ۶ مورد (۲۰±۲/۵٪) در رتبه‌های بعدی قرار داشتند.

نمودار ۱: مقایسه پارامترهای عملکردی چشم بین گونه‌ها



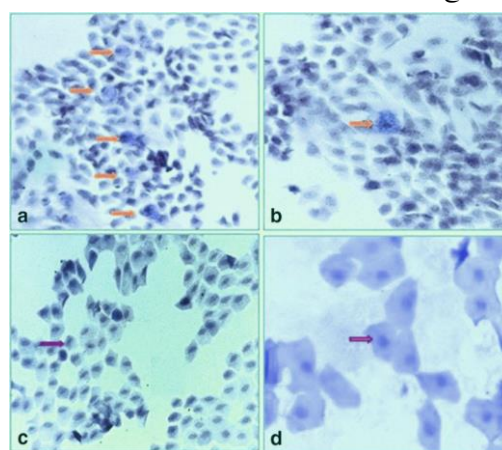
مقایسه میانگین ($\pm$ انحراف معیار) آستانه لمس قرنیه (سانتی‌متر) و نتایج تست شیرمر (۵ میلی‌متر/دقیقه) بین دو گونه یافته‌های هیستوپاتولوژیک (نگاره ۳) کاهش معنی‌دار ضخامت اپیتلیوم قرنیه ($42 \pm 5 \mu\text{m}$ در مقابل $55 \pm 6 \mu\text{m}$ در نمونه‌های سالم) و تراکم کلاژن استرومایی (85 ± 7 سلول/میدان) را نشان داد.



نگاره ۳: یافته‌های هیستوپاتولوژیک چشم. الف: انحطاط خفیف شبکیه، از جمله از دست دادن فرآیندهای گیرنده نوری مخروطی و میله‌ای، (سر پیکان‌های زرد)، نکروز تک سلولی در قسمت بیرونی سلول‌های گیرنده نوری لایه هسته‌ای، (پیکان‌های صورتی)، به هم ریختگی و کم سلولی بیرونی و قسمت‌های داخلی لایه‌های هسته‌ای (پیکان سبز) و باریک شدن و عدم وجود لایه‌های پلکسی شکل (فلش قرمز) (H & E, x800). ب: قرنیه، نکروز. سلول‌های نکروزه هایپرئوزینوفیل و منقبض شده، (پیکان سبز) (H & E, x800). ج: نکروز پوشاننده شبکیه، (پیکان صورتی) و وجود بافت کاذب و توکسوپلازما گوندی بزرگ در سطح (پیکان مو قرمز) (H & E, x600). د و ه: برادیزوئیت‌های گسسته از نوع گرانول حاوی کیست توکسوپلازما گوندی (فلش‌های زرد) (H & E, x800). و: مراحل درمان تزریق داخل چشمی در کانگورو بیمار.

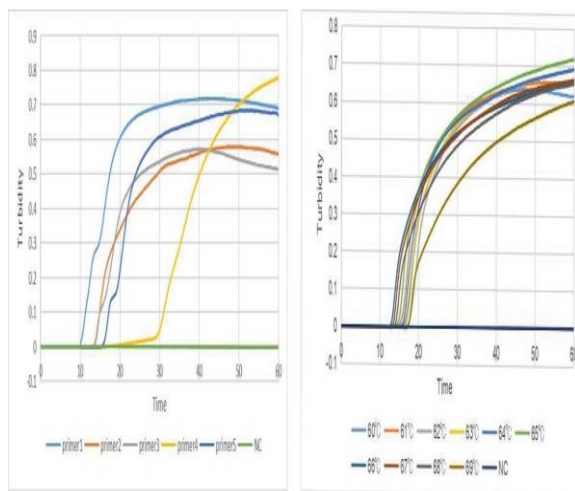


نگاره ۱: نمای ماکروسکوپی زخم قرنیه الف) زخم سطحی قرنیه با از دست رفتن اپیتلیوم ب) زخم سطحی، قرنیه و عفونت شدید در والابی نر بالغ



نگاره ۲: الف) تعداد زیادی سلول‌های نکروزه (فلش‌های نارنجی). ب) از بین رفتن زودرس سلول‌های سطحی (فلش‌های نارنجی) همراه با کاهش سلول‌های سطحی، (فلش قرمز). ج) سلول‌های اپیتلیال سنگفرشی بزرگ با هسته پیکنوتیک (فلش بنفش) در رنگ آمیزی PAS.

نگاره ۴: شناسایی اووسیت‌های توکسوپلازما گوندی. (الف) خصوصیات مورفولوژیکی اووسیت‌ها در زیر میکروسکوپ نوری بزرگنمایی $\times 400$. (ب) الکتروفورز ژل برای تقویت اووسیت با PCR (فلش اووسیت را نشان می‌دهد).

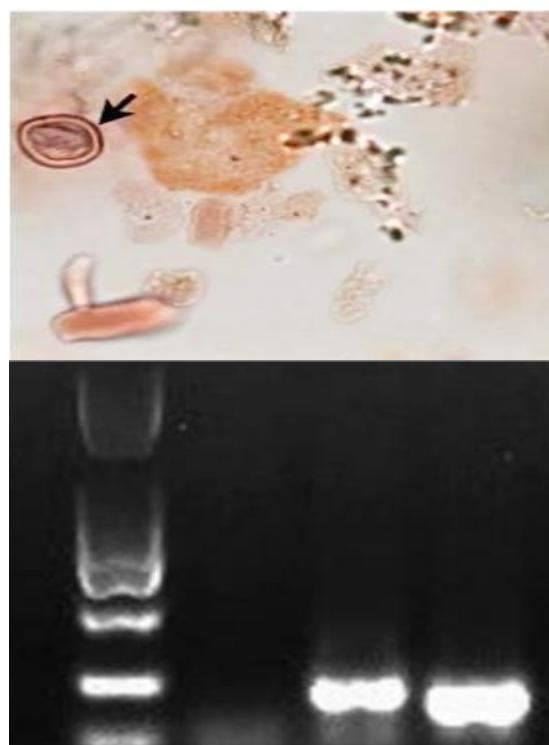


نگاره ۵: غربالگری پرایمر ژن B1 توکسوپلازما گوندی. (الف) منحنی‌های کدورت سنجی پنج جفت آغازگر توسط یک کدورت سنج بیدرنگ Loopamp در 400 نانومتر بررسی شدند. (ب) منحنی‌های کدورت سنجی گرادیان دما ($60-69^{\circ}\text{C}$) توسط یک کدورت سنج بلادرنگ Loopamp در 400 نانومتر بررسی شدند. زمان عکس العمل بر حسب دقیقه است و مختصات کدورت زمان واقعی است. NC به معنای کنترل منفی (ddH_2O) است.

همبستگی قابل توجهی بین نتایج PCR نمونه‌های خون و هموژنات بافتی مشاهده شد (ضریب کاپا = 0.85). آنالیز هموژنات بافتی نشان داد کمترین مقدار Ct (بالاترین بار انگلی) مربوط به بافت کبد با 19.7 ± 0.5 بود، در حالی که ریه 20.5 ± 0.6 و مغز 20.3 ± 0.7 مقادیر بالاتری داشتند (نمودار ۲). این نتایج حاکی از تمایل ویژه انگل به بافت کبدی است.

در این مطالعه، بررسی انگل‌شناسی تنها بر روی توکسوپلازما گوندی متمرکز بود. این تمرکز بر اساس گزارش‌های قبلی از اهمیت این انگل در ایجاد بیماری‌های چشمی و سیستمیک در کیسه‌داران و همچنین مشاهده اولیه ضایعاتی که از نظر هیستوپاتولوژیک تایید کننده توکسوپلاسموز بودند، انتخاب شد. سایر انگل‌های احتمالی به دلیل محدودیت در حجم نمونه و منابع آزمایشگاهی مورد بررسی قرار نگرفتند.

در این مطالعه در مجموع ۳۰ نمونه خون از کانگوروهای باغ وحش ارم تهران جمع آوری شد. نتایج انگل‌شناسی تایید کننده حضور انگل بود (نگاره ۴)، حضور توکسوپلازما گوندی ای با استفاده از تکنیک‌های واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) با هدف قرار دادن ژن B1 و عنصر تکرار ۵۲۹ جفت باز (REP) ژنوم انگل ارزیابی شد. نتایج PCR (نگاره ۵) تایید کننده آلودگی ۱۰۰٪ نمونه‌ها به توکسوپلازما گوندی بود، با میانگین Ct ژن B1 برابر 22.5 ± 0.8 و توالی REP برابر 21.8 ± 0.7 .



پلاسمید + اووسیت DDH2 مارکر

جدول ۲: نتایج پیامدهای بالینی درمان

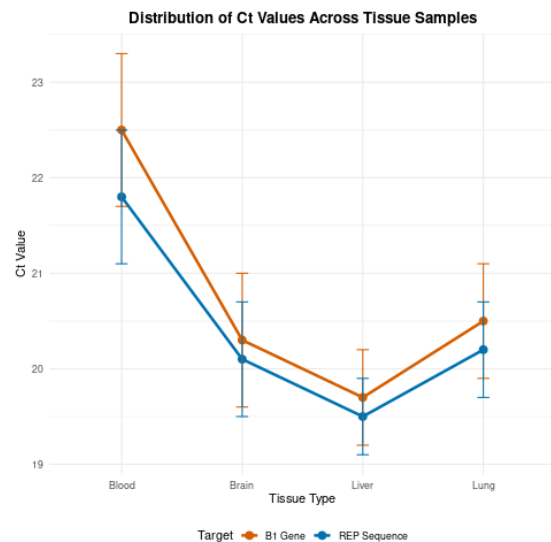
نتیجه درمان	تعداد موارد	درصد	مدت زمان بهبودی (روز)
بهبود کامل	۷	٪۲۴	-
بهبود نسبی	۱۶	٪۵۲	۳±۱۴ زخم سطحی ۵±۲۸ زخم عمیق
عدم پاسخ	۷	٪۲۴	-

نتایج درمان و مدت زمان بهبودی بر اساس نوع ضایعه

بحث

نتایج این مطالعه نگاره بالینی و پاتولوژیک پیچیده‌ای از سلامت چشمی و سیستمیک در کانگوروها و والابی‌های باغ‌وحش تهران ارائه می‌کند. یافته‌های بالینی حاکی از شیوع بالای ضایعات چشمی بود که تورم پلک ناشی از کمبود ویتامین A (Vitamin A deficiency-induced blepharedema) (۸ مورد) و زخم قرنیه (Corneal ulceration) (۱۳ مورد) به‌عنوان شایع‌ترین ناهنجاری‌ها شناسایی شدند. (۱۰) این مشاهدات، همراه با موارد بلفارودرمی (Blepharoderma) و پرخونی ملتحمه (Conjunctival hyperemia)، به‌طور قوی نشان‌دهنده تأثیرات مهم کمبودهای تغذیه‌ای، به‌ویژه نقص ویتامین A، بر سلامت اپیتلیوم چشمی در این جمعیت هستند. (۱۱) ویتامین A برای حفظ یکپارچگی بافت‌های اپیتلیال ملتحمه و قرنیه ضروری است و کمبود آن می‌تواند منجر به کراتومالاسی (Keratomalacia)، گزروفتالمی (Xerophthalmia)، و افزایش حساسیت به عفونت‌های ثانویه و تروما شود. (۱۲) هم‌زمان، تنوع ضایعات تروماتیک (مانند پارگی زائده‌های چشمی و ضربه جسم خارجی) نیاز مبرم به ارزیابی و بهبود شرایط محیطی و مدیریتی جهت به حداقل رساندن این آسیب‌ها را برجسته می‌کند. (۱۳) از جنبه انگلی، داده‌های مولکولی و هیستوپاتولوژیک به‌طور قاطعانه شیوع بسیار

نمودار ۲: توزیع مقادیر Ct در نمونه‌های بافتی



مقایسه میانگین مقادیر Ct ($\pm$ انحراف معیار) در نمونه‌های بافتی مختلف

تحلیل آماری تکمیلی: علاوه بر یافته‌های فوق، مقایسه بار انگلی مقادیر Ct بین گروه‌های جنسیتی (نر و ماده) با استفاده از آزمون t مستقل انجام شد که تفاوت آماری معناداری را نشان نداد. ($p > 0.05$) همچنین، آنالیز واریانس یکطرفه (ANOVA) برای مقایسه میانگین شدت ضایعات قرنیه در گروه‌های سنی مختلف (۲-۴ سال، ۵-۷ سال، ۸-۱۰ سال) انجام گرفت. اگرچه شدت ضایعات در گروه سنی بالاتر (۸-۱۰ سال) به‌طور عددی بیشتر بود، اما این تفاوت از نظر آماری به سطح معناداری نرسید ($p = 0.067$).

پیامدهای بالینی (جدول ۲) نشان داد ٪۲۴ موارد (۷ مورد) بهبود کامل، ٪۵۲ (۱۶ مورد) بهبود نسبی و ٪۲۴ (۷ مورد) پاسخ درمانی نداشتند. مدت زمان بهبودی برای زخم‌های سطحی 3 ± 14 روز و برای زخم‌های عمیق 5 ± 28 روز بود. تحلیل آماری با آزمون t-test تفاوت معنی‌داری در پارامترهای التهابی بین گروه‌های سنی مختلف نشان داد ($p = 0.012$). همچنین همبستگی مثبت معنی‌داری بین شدت ضایعات قرنیه و بار انگلی توکسوپلاسما مشاهده شد ($r = 0.65, p < 0.001$).

توکسوپلازما گوندی متمرکز بود و سایر پاتوژن‌های انگلی یا باکتریایی که می‌توانند در ایجاد ضایعات چشمی نقش داشته باشند، بررسی نشدند. سوم، این مطالعه عمدتاً بر تشخیص مولکولی و هیستوپاتولوژیک متمرکز بود و ارزیابی‌های سرولوژیک برای تعیین زمان وقوع عفونت (عفونت حاد در مقابل مزمن) یا بررسی سطح آنتی‌بادی را شامل نشد. (۲۳) علاوه بر این، پیامدهای عملکردی عفونت سیستمیک توکسوپلازما گوندی، به‌ویژه تأثیرات درازمدت آن بر رفتار، تولیدمثل و بقا، به‌طور کامل بررسی نشد. (۲۴).

این مطالعه خواهد غیرقابل‌انکاری از شیوع بسیار بالای عفونت سیستمیک توکسوپلازما گوندی همراه با طیف گسترده‌ای از ضایعات چشمی و پاتولوژیک در کانگوروها و والابی‌های باغ‌وحش تهران ارائه می‌دهد. هم‌زمانی قابل توجه کمبود ویتامین A با ضایعات چشمی شایع، نیاز فوری به بازنگری و بهبود برنامه‌های تغذیه‌ای را آشکار می‌سازد. ماهیت زئونوز توکسوپلازما گوندی و توزیع گسترده آن در بافت‌های مختلف، ضرورت پیاده‌سازی فوری پروتکل‌های نظارتی، تشخیصی و کنترلی را ایجاد می‌کند. پیشنهادات کلیدی شامل بهبود تغذیه از طریق مکمل‌سازی رژیم غذایی با ویتامین A و نظارت منظم بر وضعیت تغذیه‌ای (۲۵)، اجرای برنامه‌های غربالگری منظم با

PCR بر اساس نمونه‌های خون و مدفوع برای توکسوپلازما گوندی و سایر پاتوژن‌های مرتبط (۲۶)، و بررسی امکان درمان ضد انگلی هدفمند در موارد علامت‌دار یا دارای بار انگلی بالا، با در نظر گرفتن داروهایی مانند ترکیب پیریمتامین-سولفادایازین (۲۷) می‌باشد. گزارش‌های اولیه از تجربه بالینی در این مجموعه، استفاده از گوانابنز آگونیست α ۲-آدرنرژیک (را در کنترل التهاب مرتبط با توکسوپلازما سموز نشان داده‌است (۲۸)، اما ارزیابی اثربخشی و ایمنی این عامل و سایر عوامل) مانند سالوبرینال (۲۹) (در کیسه‌داران نیازمند مطالعات کنترل‌شده‌تر است. همچنین بهبود شرایط محیطی و ایمنی زیستی از طریق اصلاح محوطه‌ها برای کاهش خطر آسیب‌های تروماتیک، اجرای غنی‌سازی محیطی و تقویت شدید اقدامات ایمنی زیستی و

بالا و سیستمیک توکسوپلازما گوندی را در این جمعیت تأیید می‌کنند. نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بر روی تمامی ۳۰ نمونه خون و هموژن‌های بافتی (از ریه، کبد، قلب و مغز) مثبت بودند (۱۴) مقادیر چرخه آستانه (Cycle threshold - Ct) پایین، به‌ویژه برای ژن B1 میانگین $22/5 \pm 2$ و Ct = ۲۲/۵ و توالی REP529 میانگین $22/8 \pm 3$ ، نشان‌دهنده بار انگلی قابل توجه در خون و بافت‌هاست (۱۵) تأیید هیستوپاتولوژیک حضور اوو سیست‌ها و تاکی‌زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی در بافت‌های چشمی، مغز، زبان، کلیه، ماهیچه، طحال، ریه، قلب و کبد، نه تنها عفونت فعال، بلکه پتانسیل ایجاد ضایعات مستقیم بافتی و درگیری چندعضوی را نشان می‌دهد (۱۶) جالب توجه، کبد پایین‌ترین میانگین Ct را نشان داد که مؤید نقش بالقوه آن به‌عنوان یک مخزن بافتی اولیه برای انگل در این گونه است (۱۷) این توزیع گسترده، به‌خصوص درگیری سیستم عصبی مرکزی و چشم، پیامدهای بالینی بالقوه‌ای از جمله اختلالات عصبی، چشمی و سرکوب سیستم ایمنی را مطرح می‌کند (۱۸) پیامدهای زئونوز یافته‌ها نگران‌کننده است. توکسوپلازما گوندی یک پاتوژن مشترک مهم است که عمدتاً از طریق بلع اوو سیست‌های دفع‌شده از گربه‌سانان یا مصرف بافت‌های آلوده منتقل می‌شود. (۱۹) آلودگی گسترده در این جمعیت کیسه‌داران، خطر بالقوه انتقال به پرسنل باغ‌وحش و بازدیدکنندگان، به‌ویژه در هنگام تماس مستقیم با حیوانات، بافت‌ها یا محیط آلوده به اوو سیست‌ها را افزایش می‌دهد. (۲۰) اگرچه این مطالعه موارد انسانی را مستقیماً ارزیابی نکرد، ولی این یافته‌ها بر ضرورت اجرای سخت‌گیرانه‌ترین اقدامات ایمنی زیستی شامل استفاده از تجهیزات حفاظت فردی مناسب (دستکش، ماسک)، رعایت دقیق بهداشت و پروتکل‌های ضد عفونی محیطی، و آموزش کارکنان و بازدیدکنندگان تأکید دارد (۲۱)

این مطالعه با چندین محدودیت همراه بود. نخست، حجم نمونه نسبتاً محدود (۲۳ کانگورو و ۳ والابی) تعمیم‌پذیری یافته‌ها به جمعیت‌های بزرگتر کیسه‌داران یا باغ‌وحش‌های دیگر را با احتیاط مواجه می‌کند. (۲۲). دوم، این مطالعه تنها بر روی

- in Spain. *Veterinary parasitology*. 2009;160(1-2):155-8.
8. Canfield P. A survey of urinary tract disease in New South Wales koalas. *Australian Veterinary Journal*. 1989;66(4):103-6.
 9. Canfield P, Hartley W, Dubey J. Lesions of toxoplasmosis in Australian marsupials. *Journal of Comparative Pathology*. 1990;103(2):159-67.
 10. Connolly J, Krockenberger M, Malik R, Canfield P, Wigney D, Muir D. Asymptomatic carriage of *Cryptococcus neoformans* in the nasal cavity of the koala (*Phascolarctos cinereus*). *Medical Mycology*. 1999;37(5):331-8.
 11. Dubey J, Ott-Joslin J, Torgerson R, Topper M, Sundberg J. Toxoplasmosis in black-faced kangaroos *Macropus fuliginosus melanops*. *Veterinary Parasitology*. 1988;30(2):97-105.
 12. Funnell O, Johnson L, Woolford L, Boardman W, Polkinghorne A, McLelland D. Conjunctivitis associated with *Chlamydia pecorum* in three koalas (*Phascolarctos cinereus*) in the Mount Lofty Ranges, South Australia. *Journal of Wildlife Diseases*. 2013;49(4):1066-9.
 13. Govendir M. Review of some pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of anti-infective medicines administered to the koala (*Phascolarctos cinereus*). *Journal of veterinary pharmacology and therapeutics*. 2018;41(1):1-10.
 14. Hanger J, Loader J, Wan C, Beagley KW, Timms P, Polkinghorne A. Comparison of antigen detection and quantitative PCR in the detection of chlamydial infection in koalas (*Phascolarctos cinereus*). *The Veterinary Journal*. 2013;195(3):391-3.
 15. Hirst LW, Brown AS, Kempster R, Hall J, Woolcock JB. Keratitis in free-ranging koalas (*Phascolarctos cinereus*) on Magnetic Island, Townsville. *Journal of Wildlife Diseases*. 1992;28(3):424-7.
- بهداشتی برای کاهش خطر انتقال زئونوز ضروری به نظر می‌رسد. در نهایت، انجام تحقیقات آینده در قالب مطالعات طولی مدت با حجم نمونه بزرگ‌تر بر روی تأثیرات درازمدت عفونت توکسوپلازما گوندی بر سلامت، رفتار و تولیدمثل کیسه‌داران، بررسی ارتباط بین عفونت توکسوپلازما گوندی و آسیب تروماتیک مغزی تعیین دقیق محل استقرار کیست‌های بافتی به‌ویژه در CNS، و ارزیابی اثربخشی رژیم‌های درمانی مختلف ضروری است.
- ### فهرست منابع
1. Akula JD, Esdaille TM, Caffè AR, Naarendorp F. The scotopic electroretinogram of the sugar glider related to histological features of its retina. *Journal of Comparative Physiology A*. 2011;197:1043-54.
 2. Arrese C, Dunlop S, Harman A, Braekevelt C, Ross W, Shand J, et al. Retinal structure and visual acuity in a polyprotodont marsupial, the fat-tailed dunnart (*Sminthopsis crassicaudata*). *Brain behavior and evolution*. 1999;53(3):111-26.
 3. Arrese CA, Hart NS, Thomas N, Beazley LD, Shand J. Trichromacy in Australian marsupials. *Current Biology*. 2002;12(8):657-60.
 4. Ashton N. Ocular toxoplasmosis in wallabies (*Macropus rufogriseus*). 1979.
 5. Attwood H, Woolley P, Rickard M. Toxoplasmosis in dasyurid marsupials. *Journal of Wildlife Diseases*. 1975;11(4):543-51.
 6. Bakal-Weiss M, Steinberg D, Friedman M, Gati I, Avni-Magen N, Kaufman E, et al. Use of a sustained release chlorhexidine varnish as treatment of oral necrobacillosis in *Macropus* spp. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2010;41(2):371-3.
 7. Bermúdez R, Faílde LD, Losada AP, Nieto JM, Quiroga MI. Toxoplasmosis in Bennett's wallabies (*Macropus rufogriseus*)

16. Hooper P, Lunt R, Gould A, Hyatt A, Russell G, Kattenbelt J, et al. Epidemic of blindness in kangaroos-evidence of a viral aetiology. *Australian Veterinary Journal*. 1999;77(8):529-36.
17. Johnson A, Roberts H, Munday B. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibody in wild macropods. *Australian veterinary journal*. 1988;65(7):199-201.
18. Kern T, Colitz C. Exotic animal ophthalmology. 2012.
19. Krockenberger M, Canfield P, Malik R. *Cryptococcus neoformans* var. *gattii* in the koala (*Phascolarctos cinereus*): a review of 43 cases of cryptococcosis. *Medical Mycology*. 2003;41(3):225-34.
20. Labelle AL, Low M, Hamor RE, Breau CB, Langan JN, Zarfoss MK, et al. Ophthalmic examination findings in a captive colony of western gray kangaroos (*Macropus fuliginosus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2010;41(3):461-7.
21. Liddle VL. Electroretinography in the normal koala (*P hascolarctos cinereus*). *Veterinary Ophthalmology*. 2015;18:74-80.
22. Miller DS, Faulkner C, Patton S. Detection of *Toxoplasma gondii* IgG antibodies in juvenile great grey kangaroos, *Macropus giganteus giganteus*. *Journal of Zoo and Wildlife medicine*. 2003;34(2):189-93.
23. Miller MA, Ehlers K, Dubey J, Van Steenbergh K. Outbreak of toxoplasmosis in wallabies on an exotic animal farm. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*. 1992;4(4):480-3.
24. Oria AP, Raposo AC, Araujo NL, Romano JV, Martins-Filho EF, Gomes D, et al. Evaluation of tear production in juvenile opossum using three different methods. *Pesquisa Veterinária Brasileira*. 2019;39(01):61-5.
25. Parameswaran N, O'HANDLEY R, Grigg M, Wayne A, Thompson R. Vertical transmission of *Toxoplasma gondii* in Australian marsupials. *Parasitology*. 2009;136(9):939-44.
26. Portas TJ. Toxoplasmosis in macropodids: a review. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2010;41(1):1-6.
27. Speight KN, Polkinghorne A, Penn R, Boardman W, Timms P, Fraser T, et al. Prevalence and pathologic features of *Chlamydia pecorum* infections in South Australian koalas (*Phascolarctos cinereus*). *Journal of wildlife diseases*. 2016;52(2):301-6.
28. Stanley RG. Marsupial ophthalmology. *Veterinary Clinics: Exotic Animal Practice*. 2002;5(2):371-90.
29. Suedmeyer WK, Pearce J, Persky M, Houck ML. Peters anomaly in a red kangaroo (*Macropus rufus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*. 2014;45(3):715-8.

