JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دوره سوم، شماره سوم، پاییز ۱۳۹۱
صفحات ۱۶۳-۱۵۱

مطالعه میزان و تنوع آلودگی به تک یاخته آیمریا در خرگوش‌های منطقه شمال غرب ایران

سهراب رسولی[۱]، امین خدادادی[۲]*، موسی توسلی[۳]، شهرام سقائی[۴]، محمد صدقیانی[۵]

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

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 آیمریا بودند. در مطالعه حاضر وضعیت آلودگی خرگوش‌های وحشی، نابالغ و بالغ، فراوانی کوکسیدیوز و گونه‌های شایع و پراکندگی جغرافیایی، میزان پراکندگی جنسیتی در میزبان و میزان اووسیست‌های دفع شده و ارتباط آن با ایجاد آلودگی، تاثیر آن در سن و تعداد گونه آیمریا در ایجاد بیماری و غیره مورد بررسی قرار گرفت. درصد آلودگی نمونه‌های مثبت هر استان نسبت به نمونه‌های 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 خرگوش‌های مورد بررسی نابالغ ۹۱ راس آلوده به انواع آیمریاها بودند . میانگین دفع اووسیست در خرگوش‌های بالغ ۳۵/۵۳ عدد در هر گرم مدفوع بود ولی این مقدار در خرگوش‌های نابالغ ۳۰/۱۸ عدد در هر گرم مدفوع بود. آلودگی در خرگوش‌های نابالغ بیشتر از خرگوش‌های بالغ بود و این ارتباط معنی دار بود ($p = 0.0348$ و $p = 0.0490$).

واژه‌های کلیدی: آیمریا ، 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.[1] , Khodadadi, A.[2*] , Tavassoli, M.[3] , Sagaei, Sh.[4] , Sadagiyani, M.[5]

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@ymail.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 معمولا 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 معمولا 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 بی اشتهایی 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 تقسم 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، آیمریاها تمام بخش‌های یک سلول زنده از قبیل میتوکندری، شبکه آندوپلاسمی، هسته، غشاء و ریبوزوم را دارا می‌باشد(۸). اووسیست آیمریا حاوی چهار اسپوروسیست و هر اسپوروسیست دارای دو اسپوروزوآیت می‌باشد (۱۵). انگل آیمریا (*Eimeria*) در سلسله پروتوزوآ (*Protozoa*)، شاخه آپی کمپلکسا (*Apicomplexa*)، رده اسپوروزوآ (*Sporozoa*)، زیر رده کوکسیدیا (*coccidian*)، راسته ائوکوسیدیا (*Eucoccidia*)، زیر راسته آیمرینا (*Eimerrina*) و خانواده آیمریده (*Eimeriidae*) می‌باشد (۸و۱۵). انگل‌های مربوط به زیر راسته آیمرینا جزو انگلهای داخل سلولی بافت روده بوده و دو تکثیر غیر جنسی (شیزوگونی) و جنسی (گامتوگونی) را دارند که در مورد جنس آیمریا هر دو مرحله در بدن یک میزبان انجام می‌گیرد و به همین دلیل آیمریا، مونوگزنوس به حساب می‌آید ولی دیگر جنس‌های خانواده آیمریده که شامل ایزوسپورا می‌باشند هتروگزنوس 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 مخصوصا در فصل زمستان نماید. علاوه بر ضایعات اقتصادی، ظاهری، وزن و هزینه درمان و مرگ بیمارانی 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. آیمریا در سراسر جهان گستردگی 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 زا 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 properia) شده و تبدیل به تروفوزوئیت می‌شوند. به عبارت دیگر اسپوروزوئیت‌ها مستقیما 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 حدالامکان نمونه‌های جمع آوری شده همان روز آزمایش می‌گردید(۱و۳). از روش شناور سازی برای مدفوع در این تحقیق استفاده گردید. وزن مخصوص اووسیت آیمریاها، غالبا 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 سانتیریفیوژ 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 کاملا در سولفات روی حل شود. بعد لوله کاملا 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 می‌گرفت. هر ۱۲ ساعت یکبار محیط کشت به هم زده و با پیپت پاستور هوادهی می‌شد. در ضمن هر ۶ تا ۱۲ ساعت یکبار محیط از نظر اسپورله شدن اووسیست‌ها کنترل می‌شد، 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 اسپوریله شدن (تشکیل اسپوروسیست داخل اووسیست) بررسی و در صورت مثبت بودن زمان آن یادداشت می‌شد. زمانی که ۵۰% کل اووسیت‌های موجود اسپورله شدند به عنوان زمان اسپورزایی در نظر گرفته می‌شد. زمان اسپورزایی، اندازه، رنگ، شکل و چگونگی دیواره اووسیست، وجود یا عدم وجود دریچه، اندازه اسپوروسیست‌ها، باقیمانده اووسیستی، دانه قطبی و سایر معیارهای مورد استفاده در تشخیص گونه‌های مختلف آیمریا بودند (۶ و ۸ و ۱۵).

نتایج

در این مطالعه از مجموع ۲۶۵ نمونه اخذ شده از خرگوش‌های وحشی تحت بررسی که از آنها نمونه مدفوع جمع آوری گردیده بود، ۱۱۷ راس (۴۴/۲ %) آنها آلوده به انواع انگل آیمریا بودند(تصویر۲). از میزان ۱۱۷ مورد آلودگی به انگل آیمریا، 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 آیمریا، ۸۵ مورد مربوط به جنس نر و ۳۲ مورد مربوط به جنس ماده بود. از ۱۱۷ مورد آلودگی ۲۶ مورد مربوط به خرگوش‌های بالغ و ۹۱ مورد مربوط به خرگوش‌های نابالغ بود 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. براساس نتایج تجزیه وتحلیل آماری نرم افزار Spss نسخه ۱۶ در هیچ کدام از موارد فوق ارتباط آماری معنی داری وجود نداشت. طبق بررسی به عمل آمده میانگین اووسیت‌های دفع شده در مدفوع حیوانات آلوده، در کل ۳۱/۳۷ عدد می‌باشد که این مقدار در خرگوش‌های نر ۳۱/۹۰ عدد و در خرگوش‌های ماده ۲۹/۹۶ عدد بود. براساس مشاهدات میکروسکوپیک در موارد نمونه‌های 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 اوسیست‌ها در مدفوع‌های موارد مثبت آلوده به انگل آیمریا بود و $p>0.05$ بود. براساس نتایج آزمون‌های آماری نرم افزار Spss دفع اووسیست در خرگوش‌های بالغ بیشتر از خرگوش‌های نابالغ می‌باشد. بر طبق نتایج عددی نرم افزار spss میانگین دفع اووسیست 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 براساس نتایج بدست آمده،آلودگی در خرگوش‌های نابالغ بیشتر از خرگوش‌های بالغ می‌باشد و این ارتباط معنی دار می‌باشد ($p = 0.0348$ و $p = 0.0490$). براساس مشاهدات میکروسکوپیک و نتایج آماری در ۹۰/۶ % (۱۰۶ نمونه آلوده) آلودگی به یک گونه آیمریا و در ۸/۵ % (۱۰ نمونه آلوده) آلودگی به دو نوع آیمریا و در ۰/۹ % (۱ نمونه آلوده) آلودگی به بیش از ۳ نوع گونه آیمریا مشاهده گردیده است که تفاوت معنی داری از نظر آماری مشاهده نگردید ($p> 0.05$). تنوع تعداد گونه‌های آیمریا (اووسیست‌های آنها) در یک حیوان سبب افزایش احتمال شیوع بیماری نمی‌شود ($p> 0.05$) بلکه هر چقدر تعداد گونه بیشتری در محیط باشد شیوع و وقوع بیماری کاسته می‌شود ($p =0.034584$ و $p = 0.029614$). همچنین تنوع گونه در جنس نر و ماده تاثیری در روند ایجاد بیماری نداشت ($p > ۰.۰۵$). 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.

جدول۱- 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 کل۴۴.۲

* 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

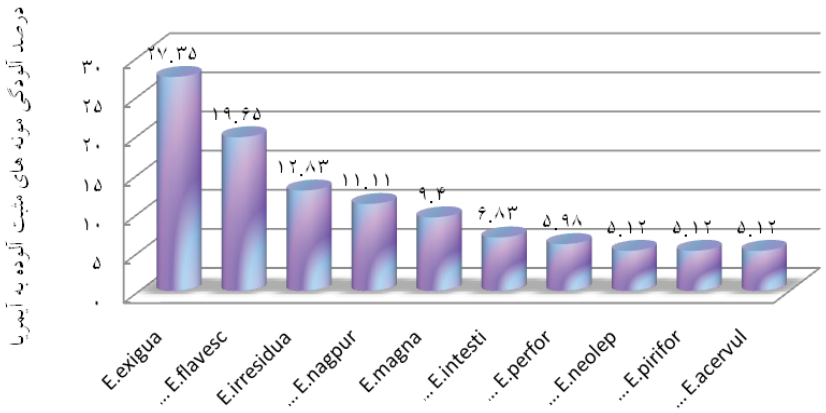
جنسیت حیوان	نمونه های مثبت آلوده به انگل آیمریا		تعداد کل نمونه
	تعداد نمونه	درصد فراوانی	
ماده	۳۲	۶۵.۳۰	۴۹
نر	۸۵	۳۹.۳۵	۲۱۶

جدول ۳- میزان شیوع آلودگی برحسب محل نمونه گیری

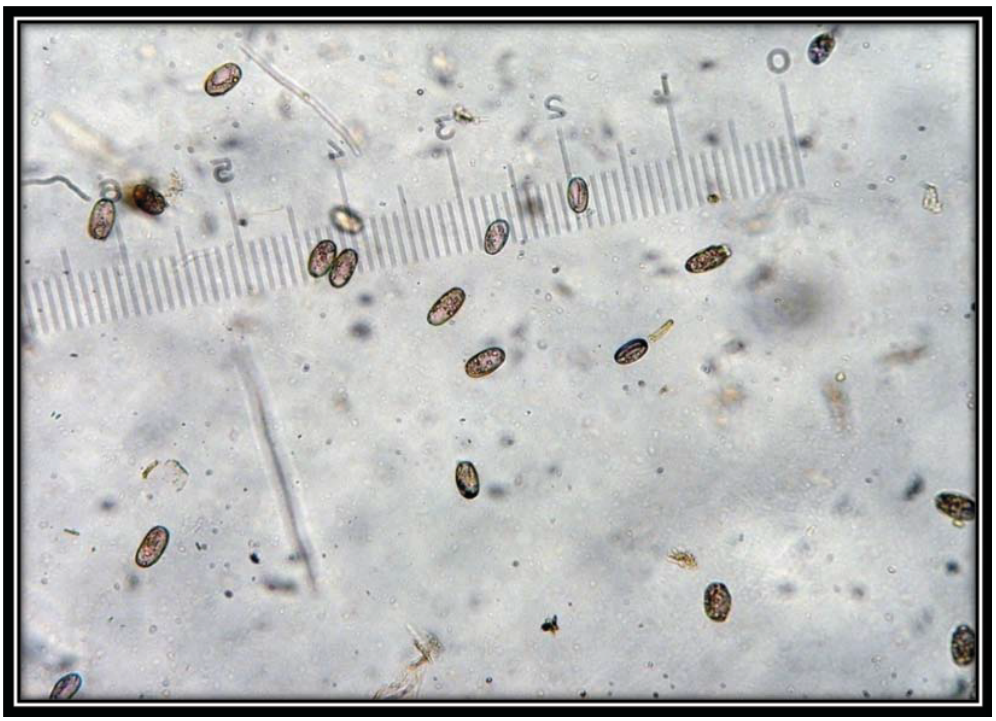
استان نمونه گیری	تعداد نمونه استان	موارد مثبت آلوده به انگل آیمریا		درصد فراوانی نسبی نمونه های مثبت آلوده هر استان نسبت به کل نمونه ها جمع آوری شده
		تعداد	درصد فراوانی	
آذربایجان غربی	۴۷	۴۱	۸۷.۲	۱۷.۷
آذربایجان شرقی	۴۲	۳۲	۷۶.۲	۱۵.۸
اردبیل	۳۴	۲۲	۶۴.۷	۱۲.۸
دشت مغان	۱۴۲	۲۲	۱۵.۵	۵۳.۶

جدول ۴- نام و تعداد گونه‌های آیمریا یافت شده از مدفوع خرگوش‌های شمال غرب ایران

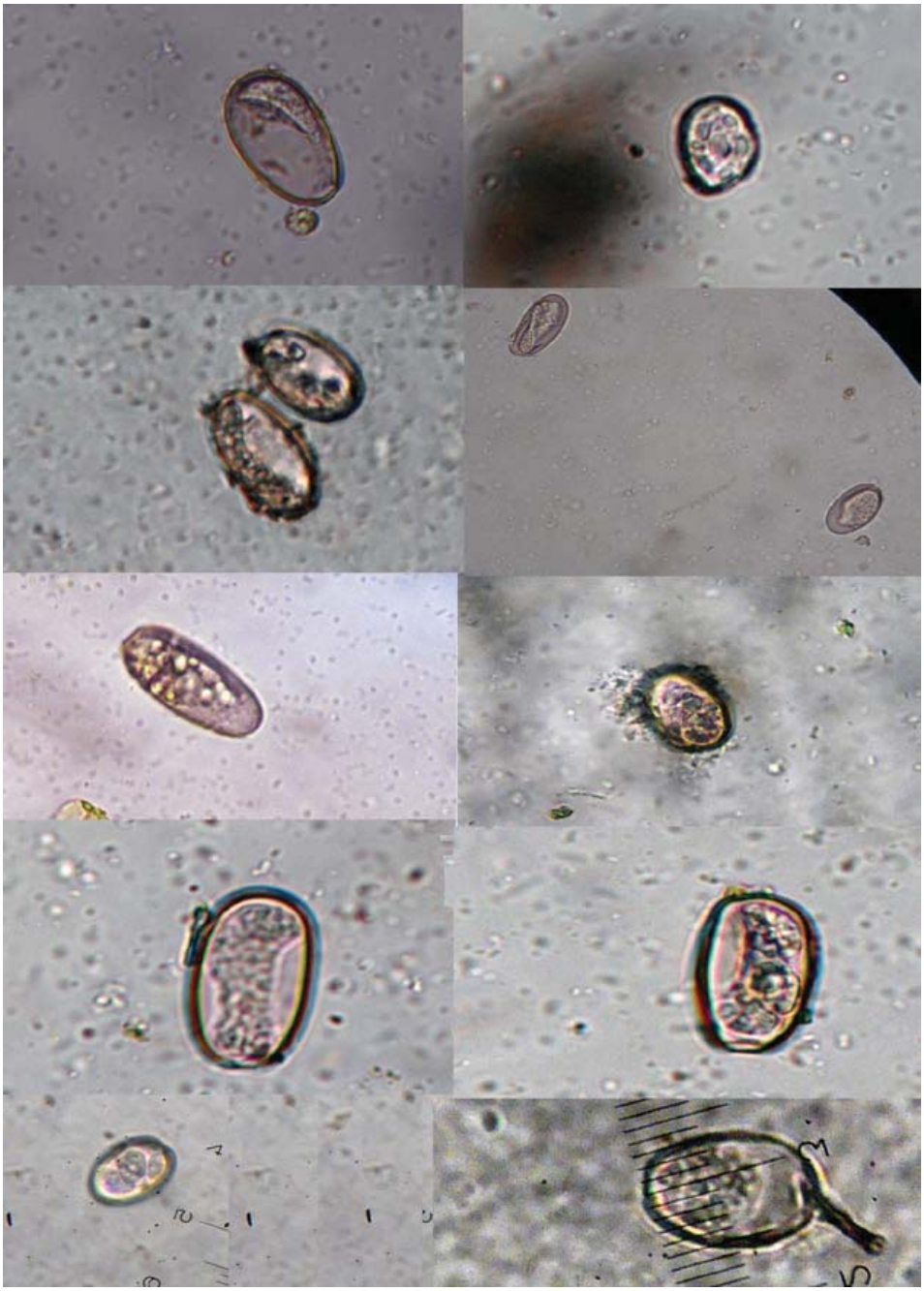
ردیف	نام گونه	تعداد حیوان آلوده به این گونه	درصد حیوانات آلوده به این گونه
۱	*E.intestinalis*	۸	٪ ۶/۸۳
۲	*E.perforans*	۷	٪ ۵/۹۸
۳	*E.nagpurensis*	۱۳	٪ ۱۱/۱۱
۴	*E.flavescens*	۲۳	٪ ۱۹/۶۵
۵	*E.magna*	۱۱	٪ ۹/۴۰
۶	*E.irresidua*	۱۵	٪ ۱۲/۸۳
۷	*E.exigua*	۳۲	٪ ۲۷/۳۵
۸	*E.neoleporis*	۶	٪ ۵/۱۲
۹	*E.piriformis*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



نمودار شماره ۱- میزان فراوانی گونه‌های مختلف آیمریا



تصویر ۱- اووسیست گونه‌های مختلف انگل آیمریا در شکل و اندازه‌های مختلف X = 400



تصویر ۲- اوسیست‌های گونه‌های مختلف آیمریا 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 اووسیست‌های 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 میلادی۲۹%، 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 می‌نمایید 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 اووسیست 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 اووسیست 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 خرگوش هایی را که در رده‌های سنی متفاوت هستند را به صورت جداگانه نگه داری و پرورش داد و تقریبا از روش All in – All out صنعت طیور جهت جلوگیری از شیوع انواع کوکسیدیوز و گونه‌های مختلف آیمریا اجرا نمود.

چنین می‌توان استنباط نمود که مدفوع خرگوش‌های بالغ بسیار آلوده تر از مدفوع خرگوش‌های نابالغ می‌باشد (۱۲) و چون خرگوش‌ها دارای عادتی به نام مدفوع خواری شبانه می‌باشند و از طرفی می‌توان به رفتار ذاتی خرگوش‌ها، که فقط در یک منطقه خاص در اطراف قلمرو خود و در یک محل خاص هر روز اقدام به مدفوع می‌نمایند احتمال مخلوط شدن انواع مدفوع‌های حیوانات، در رده‌های سنی مختلف وجود دارد و به همین دلیل احتمال شیوع گونه‌های از قبیل *E. flarescens*. که این گونه بسیار پاتوژن برای خرگوش‌های جوان می‌باشد و حتی دوز کم آن می‌تواند سبب بیماری با موربیدیتی و مورتالیتی زیاد شود (۵) و یا *E. intestinals*. که این گونه برای خرگوش بالغ پاتوژن نمی‌باشد، حتی دوزهای بالا سبب بیماری نمی‌شود ولی برای خرگوش‌های چند ماهه مشکلات گوارش شدیدی از قبیل اسهال، نزله و زکام و دهیدراتاسیون شدید را به وجود می‌آورد و حتی در برخی از موارد سبب مرگ حیوانات جوان می‌گردد (۵)و *E. irresidua*، که این گونه از آیمریاهای خرگوش یکی از گونه‌های شدیدا پاتوژن می‌باشد و یکی از عوامل اصلی ایجاد کننده کوکسیدیوز در خرگوش‌ها می‌باشد (۴) و همچنین *E. magna*، که این گونه در برخی از موارد خیلی شدید پاتوژن می‌باشد و از جمله علایم آن کاهش وزن سریع و دهیدراتاسیون و بی اشتهایی همراه با مدفوع موکوسی می‌باشد و یا سطح روده‌ها در این گونه شدیدا پر خون و ملتهب می‌شوند و سلولهای اپیتلیوم روده ممکن است نابود شوند و حیوان مبتلا به ندرتا به اندازه وزنی سابق خود برگردد(۵). *E. media* نیز گونه‌ای از آیمریاهای خرگوش‌های وحشی سراسر جهان می‌باشد که مکان اصلی و اولیه آن در روده باریک می‌باشد ولی در موارد درگیری روده بزرگ سبب آلودگی‌های شدید می‌شود و در خرگوش‌های اهلی نیز مشاهده می‌گردد که برای خرگوش‌های نابالغ بسیار خطرناک می‌باشد(۵و۱۰) همچنین *E. piriformis*، که این گونه از آیمریا بسیار پاتوژن می‌باشد و حیوانات مبتلا در برخی از موارد حتی تلافات تا مر۱۰۰% را نیز تجربه نموده اند(۱۰و۱۴).

براساس مشاهدات میکروسکوپیک و نتایج آماری در ۹۰/۶% (۱۰۶ نمونه آلوده) آلودگی به یک گونه آیمریا و در ۸/۵% (۱۰ نمونه آلوده) آلودگی به دو نوع آیمریا و در ۰/۹% (۱ نمونه آلوده) آلودگی به بیش از ۳ نوع گونه آیمریا 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 گونه‌های آیمریا (اووسیست‌های آنها) در یک حیوان سبب افزایش احتمال شیوع بیماری نمی‌شود ($p > 0.05$) بلکه هر چقدر تعداد گونه بیشتری در محیط باشد شیوع و وقوع بیماری کاسته می‌شود ($p = 0.034584$ 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 گونه‌های انگل و تعداد گونه‌های مختلف در یک 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 ($p < 0.05$).

براساس بررسی به عمل آمده میانگین اووسیت‌های دفع شده در مدفوع حیوانات آلوده، در کل ۳۱/۳۷ عدد می‌باشد که این مقدار در خرگوش‌های نر ۳۱/۹۰ عدد و در خرگوش‌های ماده ۲۹/۹۶ عدد می‌باشد که براساس مطالعات تجربی در برخی از گونه‌های حساس خرگوش و همچنین برخی از جنس‌های آیمریا با حداقل تعداد، حدود ۳۰ عدد اوسیست بلعیده شده، می‌توانند سبب ایجاد بیماری در حیوان شود.

نتایج حاصل از مشاهدات میکروسکوپیک در نمونه‌های مدفوع مثبت آلوده، کمترین مقدار اووسیست دفع شده ۴ عدد و بیشترین مقدار اووسیست دفع شده ۱۹۳ عدد مشاهده

گردید.

همچنین براساس آزمون‌های آماری نرم افزار Spss ارتباط معنی داری در میان تعداد اوسیست‌ها در مدفوع‌های موارد مثبت آلوده به انگل آیمریا وجود نداشت و $p > 0.05$ بود.

در مورد بررسی انواع گونه‌های آیمریا در خرگوش‌های وحشی ایران قبلا مطالعات بسیار ناچیزی صورت گرفته است که می‌توان به مطالعه گونه‌های آیمریا 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 آیمریاهای 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 آیمریا استیدی تلف گردیده بودند و کل خرگوش‌های تلف شده ۱۰۰ %) به انواع آیمریاها و مخصوصا آیمریا 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 و سایر حیوانات وحشی، انجام تحقیق و مطالعه بیشتر در مورد آیمریا استیدی در کشور، همکاری بیشتر سازمان محیط زیست با اداره دامپزشکی و حمایت و پشتیبانی از محققان کشور در زمینه تحقیقات دامپزشکی پیشنهاد می گردد.

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 می گردد.

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. 7th Ed. Merck Co. Ine. 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 porotozoalogy , 2th 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. 2nd 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 , 7th 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 , 2th 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.