شیوع آلودگی توکسوپلاسما گوندی در پرندگان شهرکرمان با روشهای سرولوژی و پارازیتولوژی

دکترحسین کشاورز ولیان [۱] ، دکتراحمد ابراهیمی [۱]

واژه های کلیدی : *شیوع توکسوپلاسما، پرندگان ، ایران*

چکیده

تعداد ۳۳۲ پرنده از انواع گنجشک (۱۴۹)، قمری (۱۴۷) و کبوتر (۳۶ عدد) بطورتصادفی از نقاط مختلف شهرکرمان شکار شدند و با دو روش آگلوتیناسیون مستقیم برای جستجوی آنتی بادی های ضدانگل در سرم خون آنها و روش پارازیتولوژی بصورت بررسی مستقیم مغز پرندگان و جستجوی کیست ازنظرآلودگی به توکسوپلاسما بررسی شدند.

در مجموع ۲۷ مورد (۱۰/۵ درصد) از پرندگان آزمایش شده با تیتر آنتی بادی ۴۰ :۱ و یا بالاتر مثبت بودند و درصد موارد مثبت در گنجشکها ۱۷ ، در قمری ها ۵/۱ و درکبوتران ۲/۸ بود. اختلاف درصد موارد مثبت بین گنجشکها و قمری ها و همینطور گنجشک ها و کبوترها ازنظر آماری به ترتیب در $P<0/01$ و $P<0/005$ معنی دار می باشد.

درآزمایش پارازیتولوژی بصورت بررسی مستقیم مغز پرندگان و جستجوی کیست انگل مجموعاً ۴ مورد (۱/۲ درصد) از ۳۳۲ پرنده مورد مطالعه آلوده بودند که درصدموارد مثبت در گنجشکان ۲ ، در قمری ها ۰/۷ و درکبوتران صفر می باشد. درتمام موارد نتایج پارازیتولوژی با نتایج سرولوژی هماهنگی داشت باستثنای یک مورد که کیست توکسوپلاسما درمغز یکی از گنجشک های سرم منفی مشاهده گردید.

شیوع نسبتاً زیاد آلودگی در پرندگان تحت بررسی ازنظراینکه آنها می توانند بعنوان یکی از منابع مهم برای ابتلاء انسان و حیوانات به توکسوپلاسما و نیز ابقاء ارگانیسم درمحیط باشند قابل توجه می باشد.

۱- گروه میکروبشناسی و انگل شناسی ، دانشکده پزشکی ، دانشگاه علوم پزشکی کرمان ، صندوق پستی ۴۴۴ .

سرآغاز

توکسوپلاسموز یکی ازمهمترین بیماریهای مشترک انسان و حیوان است که عامل آن توکسوپلاسما گوندی (Toxoplasma gondii) است . در چرخه زندگی این ارگانیسم گربه بعنوان میزبان اصلی است که فرم مقاوم اووسیست را دفع می کند. اووسیست برای انسان و حیوانات ازجمله پستانداران و پرندگان آلوده کننده است . دربدن حیوانات (میزبان واسط) در فرم مزمن بیماری کیست نسجی (Tissue cyst) تشکیل می شود که حاوی برادی - زوئیت انگل است و می تواند درانسان وحیوانات هم باعث بیماری گردد. بنابراین انسان با خوردن مواد غذائی آلوده به اووسیست و همچنین مصرف گوشت خام یا نیم پز حیوانات آلوده (پستانداران و پرندگان) مبتلا می شود (۳).

آلودگی انسان وحیوانات به توکسوپلاسما درایران با روشهای مختلف سرولوژی و پارازیتولوژی تشخیص داده شده است و نتایج حاصله حاکی ازمیزان آلودگی بالا می باشد (۱,۶,۷,۸,۹,۱۶). مطالعات مختلفی درکشورهای دیگر نیز مؤید آلودگی بالا درانسان و حیوانات به توکسوپلاسمااست (۲,۱۰,۱۲,۱۳,۱۵,۱۷).

آلودگی حیوانات (پستانداران و پرندگان) به توکسوپلاسما ازاهمیت بسزائی برخورداراست زیرا تعدادی ازاین حیوانات آلوده نقش مهمی در آلوده کردن انسان ایفاء می کنند و همینطور باتوجه به سیکل زندگی توکسوپلاسما، این حیوانات باعث ابقاء انگل درمحیط می شوند. نظربااینکه درکرمان وبعضی شهرهای دیگر ایران مرسوم است به زنان باردار گوشت پرندگان از قبیل گنجشک ، قمری و کبوتر بخورانند و همینطور ممکن است بعضی از افراد از گوشت این پرندگان بعنوان مواد غذایی استفاده نمایند برآن شدیم تااین پرندگان را ازلحاظ شیوع آلودگی به توکسوپلاسما بررسی نمائیم. بدیهی است درصورت آلوده بودن این حیوانات با تجویز دستور صحیح پخت یا عدم استفاده از آنها در زمان آبستنی یا سایرمواردی که خطرابتلاء به بیماری وجود دارد می توان گام مهمی درجهت پیشگیری ازاین بیماری برداشت.

نمونه گیری و روش بررسی

در مجموع ۱۵۰ گنجشک ، ۱۵۰ قمری و ۳۶ کبوتر بطور تصادفی از نقاط شهرکرمان شکارشدند و ازنظر آلودگی به توکسوپلاسما با دو روش سرولوژی برای جستجوی آنتی بادی ضد انگل در سرم خون آنها و روش پارازیتولوژی بصورت بررسی مستقیم مغز پرندگان و جستجوی کیست مورد آزمایش قرارگرفتند. از کل پرندگان شکار شده یک گنجشک و سه قمری به نحوی مورد اصابت قرار گرفته بودند که هیچ مقدار نمونه خون و مغز برای

انجام آزمایش سرولوژی و پارازیتولوژی بدست نیامد، در نتیجه پرندگان مورد آزمایش در مجموع ۳۳۲ عدد می باشد.

شکار پرندگان عمدتاً توسط تفنگ بادی ۴/۵ و بامجوز رسمی سازمان حفاظت محیط زیست کشور صورت گرفت . نمونه خون پرندگان فوق درصورت زنده بودن پرنده مورداصابت از محل ذبح که گردن پرنده می باشد جمع آوری شد و درصورتیکه پرنده مورد اصابت مرده و ساچمه به مواضع حساس آن خورده بود که معمولاً با پارگی عروق بزرگ و یاقلب توام بود با گذاردن سر لوله همولیز به محل برخورد یا خروج ساچمه و قدری فشار به بدن پرنده به اندازه کافی خون بدست می آمد. از ۳۳۲ پرنده مورد اصابت فقط از ۲۵۶ (۷۷ درصد) پرنده موفق به گرفتن خون شده و بقیه تنها آزمایش پارازیتولوژی شدند. سپس نمونه خون به آزمایشگاه منتقل و با سانتریفوژ کردن سرم آنها را تهیه نموده و تا انجام آزمایش در ۲۰ - درجه سانتی گراد نگهداری شد.

پس ازگرفتن خون سر پرنده را جدا و به آزمایشگاه منتقل نموده و پوست سر از محل ذبح طوری کشیده شد که تاآخرین حدممکن پشت و رو شده وروی نوک پرنده قرارگیرد. دراین حالت جمجمه کاملاً آشکارمی شد. سپس با یک سنجاق ته گرد به انتهای نوک و روی پوست پشت ورو شده فشار داده شد تا سرپرنده را روی صفحه چوب پنبه ثابت و برای برش استخوانی آماده می گردید. بعد بااستفاده ازتیغ اسکالپل دو پا چندشکاف روی استخوانهای جمجمه ایجاد گردید. بعد توسط همان اسکالپل استخوان را کنارزده مغزحیوان هویدا می شد. بایک اپلیکاتور کوچک مغز پرنده را حتی المقدور بهم زده و مقدارکمی ازمغزمخلوط شده بکنار یک لام منتقل و بافشار دادن لامل به روی آن تاحدی که به اندازه لام شفاف گردد نمونه آماده آزمایش میکروسکوپی شد.

برای تشخیص آنتی بادی ضدانگل توکسوپلاسما درسرمهای جمع آوری شده آزمایش سرولوژی آگلوتیناسیون مستقیم انجام گرفت (۵و۴).دراین آزمایش از کیت Toxo-Screen-DA که محصول کارخانه BioMerieux فرانسه می باشد استفاده گردید. این کیت مخصوص جستجوی IgG اختصاصی ضد توکسوپلاسما درسرم می باشد. دراین آزمون آنتی ژنهای فرمالینه شده توکسوپلاسما درحضور IgG اختصاصی آگلوتینه می شوند. دراین آزمایش آنتی بادیهای غیراختصاصی که درسرم افراد یا حیوانات غیرآلوده وجود داردو اکثراً از نوع IgM می باشند بوسیله ۲ - مرکاپتواتانول ازبین می روند. درنتیجه بااین روش آزمون افراد وحیوانات غیرآلوده به توکسوپلاسما کاملاً منفی می شود و هیچگونه آگلوتیناسیونی مشاهده نمی شود. باتوجه به رقت های سرمی که درلوله اول برای انجام این آزمایش استفاده می شود تیتر آنتی بادی بدست آمده از ۴۰ :۱ تا ۱۶۲۰۰۰ :۱ می باشد. تیترهای بدست آمده ازاین آزمایش مطابق با تیترهای بدست آمده از آزمون رنگی است (۵و۴).

ازآنجائیکه هدف ازانجام این مطالعه تعیین میزان آلودگی توکسوپلاسما درپرندگان است فقط تیتراولیه یعنی تیتر ۱:۴۰ برای سرم تمام پرندگان بدست آمد. بنابراین شیوع گزارش شده دراین مطالعه وجود آنتی بادی با تیترهای ۱:۴۰ یا بالاتر می باشد که نشانگر یک عفونت قدیمی و یا یک عفونت فعلی حاد یامزمن می باشد.

جهت مشخص نمودن اختلاف آماری بین درصد موارد مثبت دربین پرندگان از آزمون آماری X^2 استفاده شد.

یافته ها

تعداد کل پرندگان مورد آزمایش ، تعداد آزمایشهای سرولوژی ، پارازیتولوژی و موارد مثبت با هرکدام از روشهای فوق در شترنگه ۱ نشان داده شده است . باتوجه به این شترنگه مشخص است که ۳۳۲ پرنده از انواع گنجشک ، قمری و کبوتر مورد آزمایش پارازیتولوژی و ۲۵۶ عدد آنان امتحان سرولوژی شده اند و درصد موارد مثبت هرکدام نیز مشخص گردیده است. علت کاهش تعداد نمونه های سرولوژی این بود که بعضی از پرندگان فقط نمونه پارازیتولوژی داشته و از آنها خونی بدست نیامد زیرا بعضاً بنحوی مورد اصابت گلوله قرار گرفته بودند که منجر به خروج خون از آنها نمی گردید.

همانطور که درشترنگه مشاهده می شود در مجموع ۲۷ مورد (۱۰/۵ درصد) از ۲۵۶ پرنده از نظر آنتی بادی ضد توکسوپلاسما با تیترهای ۱:۴۰ و یا بالاتر مثبت بودند. درصد موارد مثبت سرولوژی شاخص خوبی از شیوع آلودگی بین پرندگان است درگنجشکان بیشتراز سایر پرندگان و این درصد با تیترهای ۱:۴۰ و یا بالاتر درگنجشکها ۱۷ ، درقمری ها ۵/۱ و درکبوتران ۲/۸ می باشد. اختلاف درصد موارد مثبت بین گنجشکها و قمری ها و همینطور بین گنجشک ها و کبوترها ازنظر آماری به ترتیب در $P< ۰/۰۱$ و $P< ۰/۰۰۵$ معنی دار می باشد.

درآزمایش پارازیتولوژی بصورت بررسی مستقیم پرندگان و جستجوی کیست انگل مجموعاً ۴ مورد (۱/۲ درصد) از ۳۳۲ پرنده مورد مطالعه آلوده بوده اند که درصد موارد مثبت درگنجشکان ۲ ،، درقمری ها ۰/۷ و درکبوتران صفر می باشد.

درتمام موارد نتایج پارازیتولوژی با نتایج سرولوژی هماهنگی داشت باستثنای یک مورد که کیست توکسوپلاسما در مغز یکی ازگنجشکهای سرم منفی مشاهده گردید.

گفتگو و بهره گیری پایانی

توکسوپلاسموز بیماری است که ازطریق حیوانات به انسان منتقل می شود وبه دلیل چند میزبانه بودن ارگانیسم مولد این بیماری و ازطرف دیگر چندشکل بودن آن (تاکی زوئیت، بـــرادی زوئیت و اووسیست) حیوانات زیادی می تواند ناقل انگل مزبور باشند. بدین لحاظ آگاهی کافی از مکانیسم انتقال بیماری از حیوانات به انسان حائز اهمیت است . اگرچه مطالعات زیادی درمورد میزان شیوع آلودگی به توکسوپلاسما درپستانداران (حیوانات و انسان) ایران انجام گرفته است (۱,۶,۷,۸,۱۶) فقط یک مطالعه بطور عمیق درمورد آلودگی توکسوپلاسما در پرندگان خانگی ایران شامل مرغ ، خروس ، بوقلمون ، کبوتر، غاز و اردک انجام شده است (۹). شیوع متفاوت آلودگی توکسوپلاسما درانواع مختلف پرندگان با روشـهای پـارازیتـولـوژی و ســرولوژی از مناطـق مـختلف دنیا گزارش شده است (۱۲,۱۴,۱۵,۱۷).

دراین مطالعه همانطور که در شترنگه مشاهده می شود ۱۰/۵ درصد از کل پرندگان مورد آزمایش با روش آگلوتیناسیون مستقیم آلودگی نشان می دهند. همانطوری که قبلاً ذکرشد دراین بررسی فقط تیترآنتی بادی IgG اختصاصی ضد توکسوپلاسما اندازه گیری شده و آنتی بادی های IgM غیراختصاصی که درسرم پرندگان یاحیوانات دیگر غیرآلوده می تواند وجود داشته باشد بوسیله ۲- مرکاپتواتانول ازبین رفته اند در نتیجه سرم افراد یاحیوانات غیرآلوده معمولاً کاملاً منفی می باشد بنابراین هر تیتربدست آمده بااستفاده ازاین روش نشانگر لودگی قدیمی و یا یک عفونت فعلی حاد یا مزمن به توکسوپلاسمااست . باتوجه باینکه اولین رقت بدست آمده بااین روش دراین مطالعه ۱:۴۰ می باشد لذا چنانچه تیترهای کمتراز ۱:۴۰ نیز درنظر گرفته شود موارد مثبت خیلی بیشتر از ۱۰/۵ درصد خواهد شد.

دریک مورد کیست توکسوپلاسما درمغز یکی ازگنجشکهای سرم منفی دیده شد که می تواند به دلایل مختلف ازجمله نقص ایمنی هومورال پرنده و یاکاهش سریع تیتر آنتی بادی ضد توکسوپلاسما درفرمهای مزمن بیماری باشد. این یافته دریکی ازکبوتران مورد مطالعه Jacobs و همکاران (۱۱) و در یکی از مرغهای مورد آزمایش قربانی و همکاران (۹) نیزمشاهده گردیده است .

شیوع آلودگی در بین گنجشکان بیشتر از سایر پرندگان است . بامقایسه درصد موارد مثبت دربین پرندگان مشخص است که هرچه جثه پرنده بزرگتر می شود میزان شیوع موارد مثبت کمتر می گردد. یعنی کبوتر که از انواع دیگر بزرگتر است رقم کوچکتر و گنجشک که ازهمه کوچکتراست رقم بزرگتری را حائزگردیده است . شاید بتوان این یافته را چنین تحلیل کرد که چون گنجشک پرنده کوچک و فعالی است و فعالیتش درساعات روز برای پیداکردن غذااز قمری و کبوتر بیشتراست شانس بیشتری برای برخورد با اووسیست خواهد داشت و دلیل

دیـگر آن ممـکن است این باشد که معمولاً کبوتران بوسیله انسان تغذیه می شوند ولی گنجشک ها مجبورند ازبین کثافات دانه پیدا کنند.

میزان آلودگی نسبتاً بالای توکسوپلاسما در پرندگان مورد مطالعه ازنظر اینکه پرندگان می توانند منبع مهمی برای انتقال بیماری و نیزابقاء ارگانیسم درمحیط باشند بسیار قابل توجه می باشد. همچنانکه در کرمان و بعضی ازشهرهای دیگرایران مرسوم است که درزمان آبستنی بمنظور تقویت زنان باردار گوشت چنین پرندگانی را خصوصاً بصورت کبابی به آنها بخورانند دراین صورت بسیارمحتمل است که چنین زنانی دچار توکسوپلاسموز شده و درصورتیکه این خانمها سرم منفی باشند می توانند توکسوپلاسموز را به جنین منتقل نمایند و باعث توکسوپلاسموز مادرزادی درفرزند شود. از سوی دیگر اگر پرندگان فوق الذکر توسط میزان نهـایی یعنی گربه خورده شود چنین گربه هایی معمولاً پس ازحدود یک هفته شروع به دفع اووسیست های توکسوپلاسما می کند که این اووسیست ها درشرایط مساعد ازنظرهوا و رطوبت بمدت یکسال زنده مانده و می تواند انسان یا سایر پرندگان و حیوانات را متبلا نماید وچرخه انتقال تداوم یابد.(۲). اهمیت گنجشکان از قمری ها و کبوترها بیشتراست زیرا، اولاً موارد مثبت دربین آنها بیشترازانواع دیگر می باشد. ثانیاً ازنظر اکولوژیکی وبطورطبیعی گنجشک بهترازکبوتر و قمری مورد شکار گربه قرار می گیرد چراکه ازنظر جثه کوچکترمی باشد واحتمالاً پرندگان آلوده و مبتلا به توکسوپلاسموز قدری رنجور و بیمار بوده و درنتیجه آسانترگرفتار گربه می شوند.

قربانی و همکاران (۹) درمطالعه خود مشخص نمودند که ۲۹ درصد ازمجموع ۱۶۲ پرنده خانگی آزمایش شده با روش هماگلوتیناسیون غیرمستقیم باتیترهای ۱:۲۰ یا بالاتر مثبت بودند. درآزمایش پارازیتولوژی مستقیم هیچگونه انگلی مشاهده نشده درحالیکه دراثر تلقیح مغز پرندگان فوق به موش ۷/۴ درصد موارد مثبت شد. مطالعه حاضر و مطالعه فوق نشان می دهد که آلودگی پرندگان به توکسوپلاسما نسبتاً بالااست و این می تواند بعنوان یکی از منابع انتقال آلودگی انسان و حیوانات به توکسوپلاسما درنظرگرفته شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از آقای دکتر مهدی قربانی استاد بخش انگل شناسی دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران و آقای دکتر محسن جانقربانی استادیار دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمان به خاطر همکاری صمیمانه و ارائـه نظـرات اصـلاحی آنان قدردانی می گردد.

شترنگه ۱- تعداد پرندگان و درصد موارد مثبت با روش سرولوژی* و پارازیتولوژی برحسب نوع پرنده .

نام پرنده	تعداد آزمایشهای انجام شده		موارد مثبت پارازیتولوژی		موارد مثبت سرولوژی	
	پارازیتولوژی	سرولوژی	تعداد	درصد	تعداد	درصد
گنجشک	۱۴۹	۱۲۳	۳	۲	۲۱	۱۷
قمری	۱۴۷	۹۷	۱	۰/۷	۵	۵/۱
کبوتر	۳۶	۳۶	۰	۰	۱	۲/۸
جمع	۳۳۲	۲۵۶	۴	۱/۲	۲۷	۱۰/۵

* روش آگلوتیناسیون مستقیم و مواردمثبت دارای تیتر آنتی بادی ۱:۴۰ یا بالاتر می باشد.

کتابنامه

۱- نظری، غلامرضا و رواندوست ، پریوش (۱۳۶۱): توکسوپلاسموز انسانی درایران . مجله نظام پزشکی شماره ششم صفحات ۴۲۰ - ۴۱۳ .

2- Ahmed, H.J., Mohammed, H.H., Yusuf, N.W., Ahmed, S.F., and Huldt, G. (1988): Human toxoplasmosis in Somalia. Prevalence of *Toxoplasma* antibodies in a village in the lower Scebelli region and in Mogadishu. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 82:330-332.

3- Brown, H.W. and Neva, F.A. (1983): Basic clinical parasitology. Fifth Edition. East Norwalk, Connecticut, Appleton-century-crofts.

4- Desmonts.G. and Remington, J.S.(1980): Direct agglutination test for diagnosis of *Toxoplasma* infection; method for increasing sensitivity and specificity. J. Clin. Microbiol. 11:562-568.

5- Desmonts, G. and Thulliez, ph.(1985): The *Toxoplasma* agglutination antigen as a tool for routine screeing and diagnosis of *Toxoplasma* infection in the mother and infant. Develop. biol. Standard. 62:31-35.

6- Ghorbani, M., Edrissian, Gh.H. and Assad, N.(1978): Serological survey of toxoplasmosis in the northern part of Iran, using indirect fluorescent technique. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72:369-371.

7- Ghorbani, M., Edrissian, Gh.H. and Afshar, A.(1981): Serological survey of human toxoplasmosis in mountainous regions of the north-west and south-west parts of Iran 1976-77. Trans. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 75:38-40.

8- Ghorbani, M., Hafizi, A., Shegerfcar, M.T., Rezaian, M., Nadim, A., Anwar, M. and Afshar, A.(1983): Animal Toxoplasmosis in Iran. J. Trop. Med. Hyg. 86: 73-76.

9- Ghorbani, M., Gharavi, M.J. and Kahnamoui, A. (1990): Serological and parasitological investigations on *Toxoplasma* infection in domestic fowls in Iran. Iranian J. Publ.Health, 19: 10-17.

10- Huldt, g., Lagercrantz, R., and Sheehe, P.R. (1979): On the epidemiology of human toxoplasmosis in Scandinavia especially in children. Acta. ped. Scan. 68:745-749.

11- Jacobs, L., Melton, M.L. and Cook, M.K. (1953): Experimental toxoplasmosis in pigeons. Exper. Parasit. 2:403-416.

12- Jacobs, L. and Melton, M.L. (1966): Toxoplasmosis in chickens. J. Parasit. 52:1158-1162.

13- Jeannel, D., Niel, G., Costagliola, D., Danis, M., Traore, B.M., and Genetilini, M. (1988): Epidemiology of toxoplasmosis among pregnant woment in the Paris area. Int. J. Edpidmiol. 17:565-602.

14- Kirkpatrick, C.E., Colvin, B.A., and Dubey, J.P. (1990): *Toxoplasma gondii* antibodies in common barn owls *(tyto alba)* and pigeons *(columba livia)* in New Jersey. Veterinary parasit. 36:177-180.

15- Peach, W., Fowler, J. and Hay, J. (1989): Incidence of *Toxoplasma* infection in a population of European starlings *(Stumus vulgaris)* from central England. Annals. Trop. Med. Parasit. 83:173-177.

16- Sedaghat, A., Ardehali, S.M., Sedigh, M. and Buxton, M. (1978): The prevalence of *Toxoplasma* infection in southern Iran. J.Trop. Med. Hyg. 81: 204-207.

17- Wallace, G.D. (1973). Intermediate and transport hosts in the natural history of *Toxoplasma gondii.* Am. J. Trop. Med. Hyb. 22: 456-464.