

بررسی فراوانی آلودگی بوقلمون‌های بومی شهرستان دزفول به انگل کریپتوسپوریديوم

مسعود سلطانی الوار؛ محمدحسین راضی جلالی^۱ و علیرضا شاهرکینی^۳
(تاریخ دریافت ۹/۵/۶؛ تاریخ پذیرش ۹۲/۶/۱۲)

چکیده:

کریپتوسپوریديوم بیماری انگلی مشترک بین انسان، دام و ماکیان می‌باشد و در افراد دارای سیستم ایمنی کامل آلودگی بدون علامت و یا توأم با اسهال محدود شونده می‌باشد ولی در افراد دارای نقص سیستم ایمنی علائم بسیار شدیدی می‌باشد و باعث اسهال مزمن و در نهایت مرگ می‌شود. [۱] برای انجام این تحقیق تعداد ۲۰۰ نمونه مدفوعی از جمعیت بوقلمون‌های بومی شهرستان دزفول اخذ شد و حضور انگل با استفاده از روش زنگ‌آمیزی زیل نلسون اصلاح شده مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تحقیق حاضر حضور انگل در جمعیت بوقلمون‌های بومی دزفول را نشان می‌دهد به طوری که ۴ نمونه از نمونه‌های اخذ شده مثبت بودند. به عبارت دیگر ۲٪ از نمونه‌ها آلوده می‌باشند، که این الودگی ارتباط مستقیمی با علایم اسهال و لاغری ندارد. و این پژوهش نشان دهنده این است که جنس نر بیشتر از جنس ماده آلوده می‌باشند.

کلمات کلیدی: انگل کریپتوسپوریديوم، بوقلمون، دزفول، زیل نلسون

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد دانشکده کشاورزی - گروه دامپزشکی

^۲ دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد دانشکده کشاورزی - گروه دامپزشکی

^۳ دانش آموخته رشته کارشناسی ارشد انگل شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

مقدمه

انگل کریپتوسپوریدیوم یکی از مهم‌ترین انگل‌های روده‌ای می‌باشد که در پستانداران به ویژه انسان (کودکان، بیماران ایمنی تحت مخاطره) [۲] و حیوانات اهلی یکی از عوامل بسیار مهم در ایجاد اسهال شدید و مداوم می‌باشد. انتقال این عفونت به صورت مدفوعی یا دهانی و یا از طریق تماس مستقیم یا غیرمستقیم و با مواد غذایی و نوشیدنی انجام می‌شود.

این تک یاخته انتشار جهانی داشته و در برخی از جوامع جزء مهم‌ترین عوامل اسهال در کودکان است. یکی از خصوصیات مهم کریپتوسپوریدیوم در کشور ایران اختصاصی بودن روش تشخیص آن است که اطلاعات زیادی در کشورمان وجود ندارد. احتمالاً یکی از مهم‌ترین راه‌های انتقال این انگل در مراکز نگهداری کودکان، معلولین و سالمندان از طریق مستقیم و فردبه‌فرد می‌باشد [۳]، در مناطق روستایی این انگل در افرادی که به طور مکرر با دام در تماس می‌باشند دیده می‌شود. [۴] در کشورهای صنعتی انتقال این انگل از طریق آب و مواد غذایی در همه‌گیری‌های این انگل گزارش داده‌اند. در میان گونه‌های کریپتوسپوریدیوم: کریپتوسپوریدیوم پاوروم و کریپتوسپوریدیوم هومینیس از شایع‌ترین گونه‌هایی هستند که انسان را آلوده می‌کنند. [۵] در افراد مبتلا به HIV کریپتوسپورید یوزیس یکی از مهم‌ترین و جدی‌ترین عفونت‌های فرصت طلب می‌باشد. [۶، ۷] اما بیماری‌زایی این انگل با توجه به گونه انگل، نوع، سن و وضعیت سیستم ایمنی میزبان متفاوت می‌باشد.

تا کنون ۱۹ گونه از در حیوانات اهلی شناسایی شده است از این تعداد، دو گونه عفونی در جوجه‌ها و بوقلمون‌ها وجود دارد که *C.meleagridis*، کریپتوسپوریدیوم بایله ای نام دارند. این دو گونه انتشار جهانی دارند و به دو صورت مستقیم (در اثر

تماس با انسان یا حیوان الوده) یا غیر مستقیم از محیط آلوده (اب اشامیدنی ...) و با خوردن مواد الوده به مدفوع انتقال می‌یابد (۱۲).

علی‌رغم اینکه در طول دهه اخیر گزارشاتی در مورد شیوع گونه‌های مختلف کریپتوسپوریدیوم در میزبان‌های همانند انسان، دام و طیور ارائه شده است (۷، ۹، ۱۱، ۱۵) اطلاعات جامعی در مورد آلودگی کریپتوسپوریدیای در ماکیان بومی شهرستان دزفول گزارش نشده است این در حالی است که این پرندگان جمعیت وسیعی را در جوامع روستایی این منطقه به خود اختصاص داده‌اند و بدلیل تماس مستقیم از منابع مهم آلودگی انسان به شمار می‌روند در این تحقیق ما به دنبال آن هستیم تا موارد آلودگی کریپتوسپوریدیای ماکیان را در شهرستان دزفول مورد بررسی قراردهیم و در حقیقت محقق به دنبال سوال اصلی این تحقیق بوده است که:

"میزان آلودگی کریپتوسپوریدیای در ماکیان بومی شهرستان دزفول چقدر است؟
روش کار:

برای انجام دادن این تحقیق یا طرح تعداد ۲۰۰ نمونه از جمعیت بوقلمون‌های بومی شهرستان دزفول به طور تصادفی اخذ و جمع‌آوری گردید. در ابتدا روستاهای اطراف را به چهار قسمت تقسیم کردید (شمال - جنوب - شرق و غرب) و سپس به طور کاملاً تصادفی ۲m نمونه اخذ گردید.

(الف) اخذ نمونه‌های مدفوعی:

برای اخذ نمونه، مدفوع بوقلمون‌ها را که قبلاً کارتن به زیر آن‌ها انداخته شد قرار داده شد و به محض افتادن مدفوع بر روی کارتون به اندازه ۲ تا ۳ گرم از مدفوع را برداشته و داخل لوله‌های فالکنی که حاوی ۱۰ سی‌سی دی کرومات پتاسیم (فرمالین) بودند ریخته شد و هم زده شد به طور آرام که به خوبی حل شوند و سپس بوقلمون‌ها را

کنیم و بعد حل می‌کنیم و به ۲ شکل عمل می‌کنیم:

الف) تهیه گسترش نازک بر روی لام و رنگ‌آمیزی زیل نلسون

ب) حداقل سه قطره از رسوبی را که داریم بین لام و لامل قرار می‌دهیم، برای یافتن اجسام انگلی احتمالی بر زیر میکروسکوپ.

روش رنگ‌آمیزی زیل نلسون اصلاح شده:

۱- گسترش را از نمونه تازه و یا فیکس شده با فرمالین تهیه کرده.

۲- گسترش را با متانول و یا حرارت به مدت ۲-۵ دقیقه فیکس کرده.

۳- گسترش را با کربول فوشین به مدت ۲۰-۳۰ min رنگ‌آمیزی کرده.

۴- گسترش را با آب معمولی شسته.

۵- گسترش را با کمک اسید سولفوریک ۵٪ به مدت ۲۰-۶۰ Sec رنگ‌زدایی کرده.

۶- گسترش را با آب معمولی شسته.

۷- سپس به وسیله مالاشیت گرین و یا متیلن بلو ۵٪ به مدت ۴-۵ min گسترش را رنگ کرده.

۸- گسترش رنگ شده را شسته و در هوای آزمایشگاه خشک کرده.

در آخر اووسیست کریپتوسپوریدیوم به رنگ قرمز در زمینه سبز یا آبی دیده می‌شود و در اووسیته‌ها گرانول تیره رنگ مشاهده می‌شود.

نتایج

نتایج بدست آمده از طریق روش رنگ‌آمیزی زیل نلسون اصلاح شده بدین صورت می‌باشد: در بررسی انجام شده که از ۲۰۰ نمونه ی مدفوع بوقلمون‌ها، نمونه گیری شد، تنها ۲٪ مثبت بودند شکل ۱.

از سمت محلول نمونه‌گیری دور کردیم تا خطایی در نمونه‌گیری ایجاد نشود. بعد از انجام نمونه‌گیری قوام مدفوع را یادداشت کردیم و بر روی لوله‌های مورد نظر هر کدام با یک اتیکت چسبانده، که سپس نمونه‌ها با هم اشتباه نشوند. در آخر نمونه‌ها را در جا لوله‌ای قرار داده و در داخل یک کُلمن گذاشته و به آزمایشگاه ارسال کرده.

(ب) آماده‌سازی نمونه‌ها، تیمار کردن و تهیه

لام میکروسکوپی

همانطور که قبلاً ذکر گردید جهت اخذ نمونه‌ها از محلول دی کرومات پتاسیم استفاده کرده شد. این محلول یک محلول اکسید کننده و مانع رشد باکتری‌ها و قارچ‌ها در نمونه‌ها می‌باشد. جهت تهیه گسترش در اول باید نمونه‌ها تیمار گردند و محلول‌های همگنی از آن‌ها تهیه گردد. سپس از الک ۶۰ عبور داده و سپس با دور ۱۸۰۰ به مدت ۳ min سانتریفیوژ می‌گردد. سپس مایع رویی را دور ریخته و رسوب باقی مانده را به آن ۵ سی‌سی فرمالین ۱۰٪ و ۲/۵ سی‌سی اتر اضافه کرده، بعد از آن درب لوله‌ها را بسته و در دستگاه شیک قرار داده، سپس به مدت ۵ min با دور ۱۸۰۰ سانتریفیوژ کرده که از بالا به پایین ۴ لایه تشکیل می‌شود.

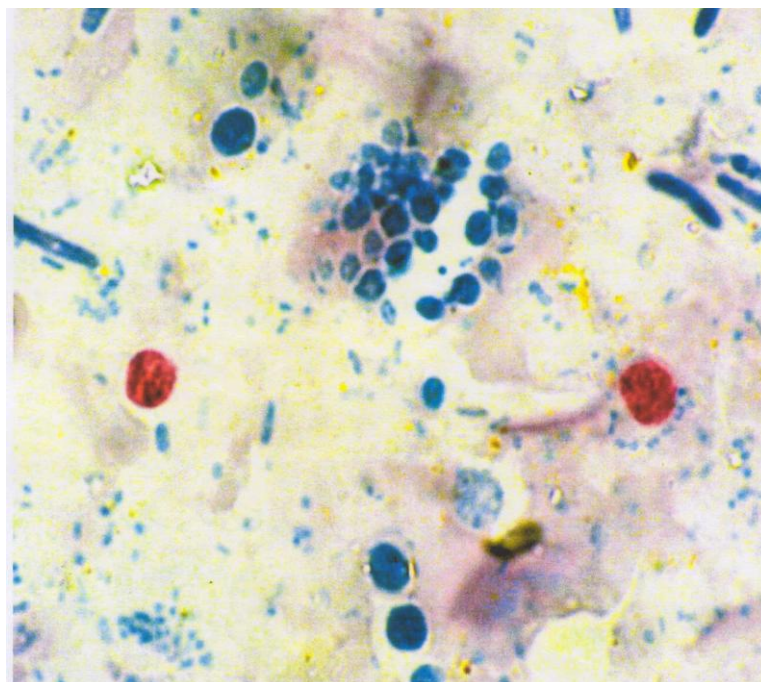
۱- اتر که یک ماده شفاف است.

۲- لایه چربی (اجسامی هستند که بین اتر و فرمالین شناور می‌باشند).

۳- فرمالین

۴- رسوب ته لوله

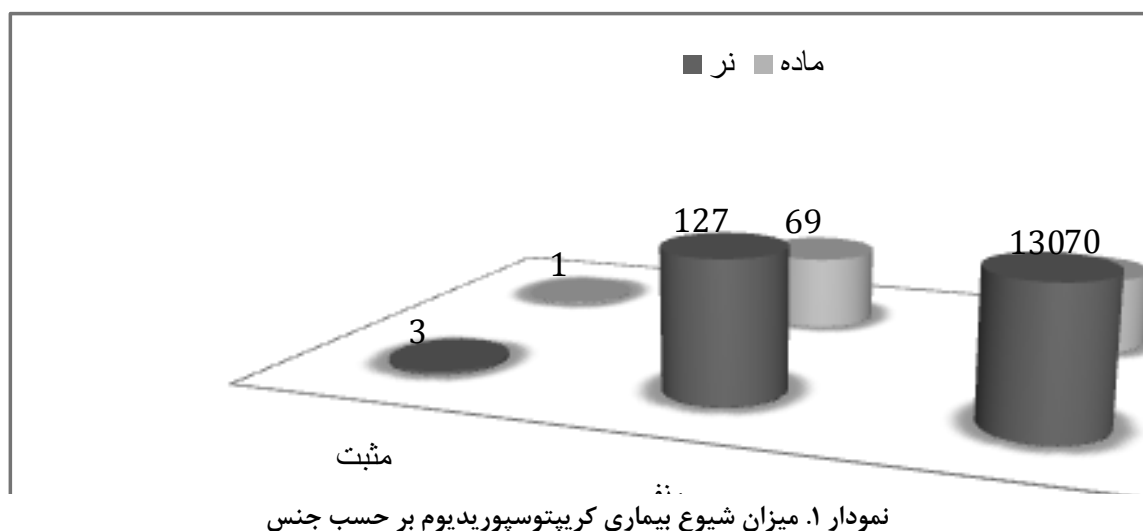
مرحله بعد ۳ لایه رویی را دور ریخته و به رسوب ته لوله ۱ الی ۲ قطره آب مقطر اضافه می‌-



شکل ۱. اوسیت های کریبتوسپورییدیوم به رنگ قرمز در زمینه آبی دیده می شوند.

قطعه گزارش شده است. درصدهای بدست آمده در جنس نر ۲/۳٪ و جنس ماده ۱/۴٪ می باشد نمودار شماره ۱ و جدول ۱.

از نمونه تحت بررسی ۱۳۰ نمونه از بوقلمون ها جنس نر و ۷۰ نمونه ماده می باشند. تعداد موارد مثبت در جنس نر ۳ قطعه و در ماده ها ۱

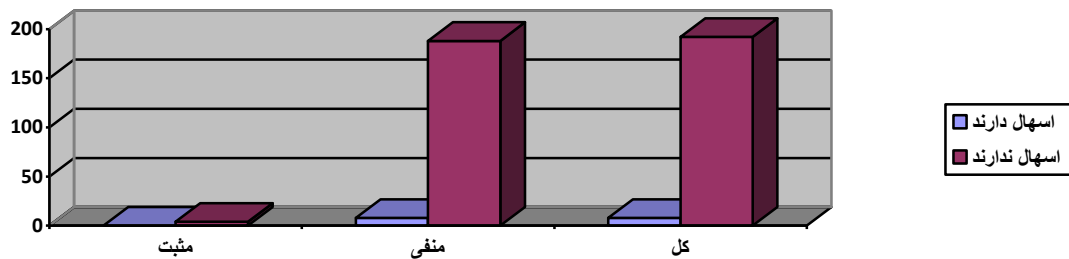


جدول ۱. میزان شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوم بر حسب جنس

جمع		ماده				نر				بر حسب جنس		
درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	موارد
۲٪	۲۰۰	۱۹۶	۴	۱/۴٪	۷۰	۶۹	۱	۲/۳٪	۱۳۰	۱۲۷	۳	تعداد

تحت بررسی، ۸ نمونه علایم اسهال را داشته اند و تعداد ۱۹۲ اسهال نداشته اند. لذا از بین ۸ مورد هیچ نمونه مثبتی دیده نشده است.

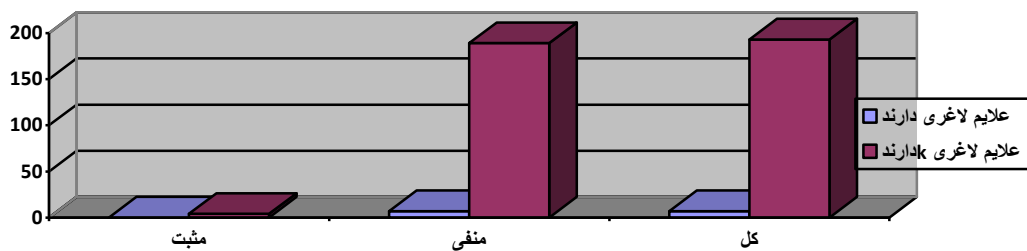
جدول ۲ میزان شیوع بیماری انگلی کریپتوسپورییدیویس را بر حسب علایم اسهال نشان می دهد و بیان می کند که از ۲۰۰ نمونه



نمودار ۲. میزان شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوم بر حسب علایم اسهال

جدول ۲ شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوم بر حسب علایم اسهال

جمع				اسهال ندارند				اسهال دارند				بر حسب علایم اسهال
درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	موارد
۲٪	۲۰۰	۱۹۶	۴	۲/۰۸٪	۱۹۲	۱۸۸	۴	۰٪	۸	۸	۰	تعداد



نمودار ۳. میزان شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوم بر حسب علایم لاغری

از ۲۰۰ نمونه مورد مطالعه قرار گرفته ، ۷ مورد علایم لاغری را نشان داده اند که هیچ کدام جز موارد مثبت نبوده به عبارت دیگر تمام موارد مثبت (۴ نمونه) از بین ۱۹۳ نمونه ای که علایم لاغری را نشان نداده اند جدا گردیدند جدول ۳.

جدول ۳. میزان شیوع بیماری کریپتوسپورییدیوم بر حسب علایم لاغری

جمع				علایم لاغری ندارند				علایم لاغری دارند				بر حسب علایم لاغری
درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	درصد	کل	منفی	مثبت	موارد
۲٪	۲۰۰	۱۹۶	۴	۲/۰۷٪	۱۹۳	۱۸۹	۴	۰٪	۷	۷	۰	تعداد

بحث

گونه های کریپتوسپورییدیوم انگل های سلول های پوششی دستگاه گوارشی و تنفسی در طیف وسیعی از مهره داران از جمله انسان هستند. نتایج مطالعه حاضر که برای اولین بار به بررسی وضعیت آلودگی به انگل کریپتوسپورییدیوم در جمعیت بوقلمون های بومی شهرستان دزفول می پردازد حاکی از آلودگی ریز پرندگان می باشد. مطالعات دیگری در سایر نقاط دنیا و ایران به بررسی وضعیت این انگل پرداخته که در بسیاری از موارد با نتایج مطالعه حاضر هم خوانی دارد. در همین رابطه سلطانی و همکاران به بررسی وضعیت کریپتوسپورییدیوم در ماکیان بومی شهرستان اراک پرداختند. و میزان آلودگی را ۰٫۵ درصد گزارش کردند. (سلطانی و همکاران) فراوانی آلودگی طیور بومی در ایران ۲ درصد گزارش شد. به نظر می رسد که آلودگی به تک یاخته های (کریپتوسپورییدیوم) تحت تاثیر عوامل متعددی از جمله سن، تغذیه، جنس و ... می باشد. حیوانات جوان حساسیت بیشتری را از خود نشان می دهند. در مطالعه حاضر با توجه به اینکه امکان محاسبه سن دقیق پرنده برای ما وجود نداشت بررسی تاثیر این فاکتور برای ما میسر نبود.

در مطالعه حاضر میزان آلودگی بوقلمون های بومی حومه دزفول ۲ درصد محاسبه گردیدند. به نظر می رسد که علت پایین بودن میزان آلودگی در بوقلمون های بومی دزفول به دلیل پایین بودن تراکم پرندگان در واحد سطح در مناطق روستایی و یا حجم کم نمونه گیری می باشد.

لذا پیشنهاد می شود که در مطالعات بعد از حجم نمونه گیری بالاتری نسبت به مطالعه حاضر استفاده گردد. مطالعات جدید حاکی از آن است که کریپتوسپورییدیوم مله اگریدیس یک انگل بیماری زا و خطرناک برای انسان به حساب می آید.

از آنجایی که بوقلمون ها مهم ترین میزبان کریپتوسپورییدیوم مله اگریدیس می باشد. و با توجه به زئونوز بودن این گونه، لازم است که اقدامات بهداشتی لازم برای جلوگیری از انتقال آلودگی از پرندگان به جوامع انسانی صورت گیرد.

برخی از مطالعات قبلی آلودگی به کریپتوسپورییدیوم مله اگریدیس از انسان های بدون علائم اسهال گزارش گردیده است. این موضوع اهمیت نقش پرندگان (به خصوص بوقلمون) را به عنوان یک منبع مهم آلودگی برای جوامع انسانی در ایران مطرح می کند. با توجه به علاقمندی روستائیان به نگهداری و پرورش بومی بوقلمون و وجود مزارع پرورش بوقلمون در استان خوزستان و همچنین روند رو به رشد و توسعه پرورش صنعتی بوقلمون لازم است تحقیقات گسترده تری را سطح با آلودگی بوقلمون های این منطقه انجام شود. در مطالعه حاضر در هیچ کدام از پرندگان مورد آزمایش، اسهال که بهترین نشانه این بیماری است مشاهده نگردد و به نظر می رسد حیوانات دارای سیستم ایمنی سالم کمتر به شکل بالینی کریپتوسپورییدیوم مبتلا می شوند و در این دام ها شکل تحت بالینی بیماری مشاهده می شود. همچنین این نکته بر این موضوع دلالت دارد

که میزان حضور انگل برای ایجاد ضایعه در سطوح روده و بروز اسهال کافی نبوده است. علی رغم اینکه این آلودگی به بروز نشانه های بالینی (از قبیل اسهال یا وضعیت بدنی نامناسب) منجر نگشته است. اما می شود به عنوان یک خطر بالقوه برای پرندگان منطقه به حساب آمده و در شرایط مناسب به بروز علائم درمانگاهی منجر شود.