

جداسازی توکسوپلازما گوندای از مغز پرندگان و پستانداران و ویرولانسی ایزوله‌ها برای موش‌های آزمایشگاهی

مهرداد سرایی* دکتر حسین کشاورز**

Isolation of *T. gondii* from the brain of mammalian and birds and its virulence on mice

M. Saraei H. Keshavarz

Abstract

Background : Recognition of the biological, antigenic and genetic characteristics of isolated *T. gondii* in our country demands more attention in the area of research.

Objective : To isolate *T. gondii* from the brain of mammalian and birds and to identify the virulence of isolated strains.

Methods : Isolation of *T. gondii* from the brain of the animals was performed by using direct smear and bioassay in mice.

Findings : No tissue cysts were detected in direct smear from the brain of 46 birds and mammalian. In bioassay performed in mice, *T. gondii* was isolated from 40% of fowls and 14% of sheep. In general none of the isolated strains were lethal for mice and the number of tissue cysts from the sheep isolate were more than fowl isolates.

Conclusion : The results indicated that all of isolates were avirulence strains. Among *T. gondii* isolates, different number of tissue cysts were observed.

Keywords : *Toxoplasma gondii*, Isolation, Mammalian, Birds, Iran

چکیده

زمینه : شناسایی خصوصیات بیولوژیک، آنتی ژنیک و ژنتیک توکسوپلازما گوندای جدا شده از کشور ما کمتر مورد توجه قرار گرفته است.

هدف : این مطالعه به منظور جداسازی توکسوپلازما از مغز پرندگان و پستانداران و بررسی ویرولانسی ایزوله‌ها برای موش‌های سوری انجام شد.

مواد و روش‌ها : جداسازی توکسوپلازما از مغز ۴۶ پرنده و پستاندار به روش مستقیم و روش زیست‌سنجی در موش انجام شد.

یافته‌ها : در آزمایش مستقیم مغز، کیست‌های نسجی توکسوپلازما مشاهده نشد. به روش زیست‌سنجی در موش، توکسوپلازما از مغز ۴۰٪ مرغ‌ها و خروس‌ها و ۱۴٪ گوسفندها جدا شد اما از مغز کبوتر، گنجشک و بز انگل جدا نشد. تمام ایزوله‌های توکسوپلازما از سویه‌های غیرکشنده برای موش بودند و حتی بعد از ۵ تا ۶ پاساژ سریال مغزی تغییری در پاتوژنیسیته ایزوله‌ها مشاهده نشد. تعداد کیست‌های مغزی در مورد ایزوله گوسفندی به مراتب بیشتر از ایزوله‌های مرغی و خروسی توکسوپلازما بود.

نتیجه‌گیری : تمام ایزوله‌های توکسوپلازما از سویه‌های غیر ویرولان بودند. این ایزوله‌ها از نظر تعداد کیست‌های نسجی مغزی در موش‌های سوری با هم‌دبگر اختلاف نشان دادند.

کلیدواژه‌ها : توکسوپلازما گوندای - جداسازی - پستانداران - پرندگان - ایران

□ مقدمه :

توکسوپلازما گوندای تک یاخته داخل سلولی اجباری است. گربه و گربه‌سانان میزبان نهایی و طیف وسیعی از مهره‌داران خونگرم میزبان واسط این تک یاخته هستند. در پزشکی، توکسوپلازما یکی از عوامل عمده عفونت‌های مادرزادی و مرگ و میر در بیماران ایدزی است و در دام پزشکی عامل مهم سقط، مرده‌زایی و مرگ و میر گوسفندان در بدو تولد است. (۲ و ۴) توکسوپلازما گوندای از میزبان‌ها و نسج‌های مختلف به روش زیست‌سنجی در موش و گربه جدا می‌شود. در بسیاری از بررسی‌ها ترجیحاً از مغز حیوانات برای جداسازی توکسوپلازما استفاده شده است، زیرا معمولاً دوام کیست‌های مغزی توکسوپلازما طولانی‌تر و تهیه سوسپانسیون مغزی سهل‌تر است. موارد متعدد جداسازی توکسوپلازما از انسان و حیوان به وسیلهٔ دویی و بی‌تی ذکر شده است. (۴)

با وجودی که توکسوپلازما گوندای تنها گونه شناخته شده توکسوپلازما در مهره‌داران خونگرم است ولی سویه‌های متفاوتی از آن شناسایی شده است. سویه‌های توکسوپلازما به طور معمول به سویه‌های ویرولان و غیر ویرولان برای موش تقسیم می‌شوند. (۵ و ۱۴) اکثر ایزوله‌های توکسوپلازما گوندای از سویه‌های غیرویرولان برای موش هستند. (۴) براساس بررسی‌های سرولوژی، توکسوپلازما گوندای تک یاخته شایعی در کشور ماست. (۷ و ۸ و ۱۲) علی‌رغم گزارش‌های متعدد در زمینه شیوع آنتی بادی علیه توکسوپلازما در انسان و حیوان در نقاط مختلف کشور، به ندرت نسبت به جداسازی انگل اقدام شده و در موارد جداسازی انگل نیز به بررسی خصوصیات بیولوژی و آنتی ژنی ایزوله‌های توکسوپلازما پرداخته

نشده است. در این مطالعه، توکسوپلازما گوندای از مغز مرغ، خروس و گوسفند به روش زیست‌سنجی در موش (۴) جدا و ویرولان آن برای موش‌های سوری طی پاساژهای سریال مغزی - صفاقی بررسی شد.

□ مواد و روش‌ها :

حیوان‌های تحت بررسی، ۷ رأس گوسفند، ۳ رأس بز، ۵ قطعه گنجشک، ۲۱ قطعه کبوتر از منطقه قزوین و ۵ قطعه مرغ و ۵ قطعه خروس بومی از منطقه رودسر بودند. حیوان‌های آزمایشگاهی، موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی (سوری) بودند.

جداسازی به روش مستقیم و به روش زیست‌سنجی در موش انجام شد. در روش مستقیم از مغز هر حیوان تا ۱۲ گسترش مستقیم تهیه و از نظر وجود کیست‌های نسجی توکسوپلازما جستجوی میکروسکوپی انجام شد. در روش زیست‌سنجی در موش، حدود ۲ گرم از مغز هر حیوان به طور جداگانه با استفاده از سرم فیزیولوژی استریل حاوی آنتی‌بیوتیک (۱۰۰۰ واحد پنی‌سیلین و ۱۰۰ میکروگرم استرپتومایسین به ازای هر میلی‌لیتر) سوسپانسیون یکنواختی در هاون چینی استریل تهیه گردید. سوسپانسیون مغزی هر حیوان به ۴ تا ۵ موش سوری و به هر موش حدود یکی میلی‌لیتر به طریق داخل صفاقی تلقیح شد. موش‌های تلقیح شده، روزهای بعد از تلقیح غاز نظر کاهش تحرک، کزکردگی و سیخ شدن موهای بدن تحت نظر بودند. ۵ تا ۸ هفته پس از تلقیح، متعاقب بیهوشی کامل مغز هر یک از موش‌ها به طور کامل خارج گردید و تا ۱۲ گسترش مستقیم از قسمت‌های مختلف مغز تهیه و از نظر کیست‌های

شد (جدول شماره ۱).

در موارد جداسازی توکسوپلازما از مغز موش‌های تلقیح شده با سوسپانسیون مغزی حیوان‌های تحت بررسی، در دو مورد جداسازی توکسوپلازما از مغز مرغ، در یکی از موارد در ۲ تا از ۴ موش تلقیح شده کیست‌های مغزی مشاهده شد و در مورد دوم نیز در ۳ تا از ۴ موش کیست‌های مغزی مشاهده شد.

در دو مورد جداسازی توکسوپلازما از مغز خروس، در یکی از موارد در ۱ موش از ۴ موش تلقیح شده کیست‌های مغزی مشاهده شد و در مورد دوم در ۲ تا از ۴ موش کیست‌های مغزی مشاهده شد. در تنها موردی که توکسوپلازما از گوسفند جدا شد، کیست‌های مغزی در ۴ تا از ۵ موش مشاهده شد و تنها در یکی از موش‌ها مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

مغزی توکسوپلازما جستجوی میکروسکوپی انجام شد. در صورت مشاهده کیست‌های مغزی، از بقیه مغز سوسپانسیون تهیه و به ۴ تا ۵ موش به طریق داخل صفاقی تلقیح گردید.

ایزوله توکسوپلازمای جدا شده از هر حیوان (گوسفند، مرغ و خروس) به فاصله‌های ۳ تا ۶ ماه و گاهی طولانی‌تر پاساژ مغزی داده شد.

۵ یافته‌ها:

در بررسی مستقیم میکروسکوپی گسترش‌های مغزی ۴۶ پرنده و پستاندار، در هیچ موردی کیست‌های نسجی توکسوپلازما مشاهده نشد. در جداسازی به روش زیست‌سنجی در موش تنها در ۲ خروس، ۲ مرغ و ۱ گوسفند توکسوپلازما جدا

جدول ۱:

فراوانی موارد جداسازی توکسوپلازما گوندای از مغز حیوان‌های تحت بررسی به روش زیست‌سنجی در موش

تعداد موارد جداسازی	تعداد موش تلقیح شده	پرنده / پستاندار
۲	۵	مرغ
۲	۵	خروس
۰	۵	گنجشک
۰	۲۱	کیوتر
۱	۷	گوسفند
۰	۳	بزر

جدول ۲:

فراوانی موارد جداسازی توکسوپلازما از مغز موش‌های تلقیح شده با سوسپانسیون مغزی حیوان‌های تحت بررسی

تعداد موارد جداسازی	تعداد موش تلقیح شده	پرنده / پستاندار
۲	۴	مرغ
۳	۴	مرغ
۱	۴	خروس
۲	۴	خروس
۴	۵	گوسفند

قابل آشکارسازی به روش مستقیم نیست و روش زیست سنجی در موش یا گربه بیشتر می‌تواند موفقیت آمیز باشد. (۳ و ۴)

بر اساس یافته‌های این بررسی تمام سویه‌های توکسوپلازما، سویه‌های غیر ویرولان برای موش بودند که مطابق یافته‌های قبلی است. (۴) در کشور ما توکسوپلازما از مغز گربه، سگ، گوسفند، گنجشک، مرغ، خروس، کبوتر و غده لنفاوی انسان جدا شده است. (۶ و ۹ و ۱۰ و ۱۳)

موارد جداسازی توکسوپلازما از مرغ و خروس‌های منطقه رودسر به مراتب بیشتر از حیوان‌های تحت بررسی منطقه قزوین بود. همچنین میزان جداسازی از مرغ و خروس‌ها در بررسی حاضر به مراتب بیشتر از میزان جداسازی توکسوپلازما از مغز پرندگان در بررسی قربانی و همکاران بود. (۱۰) اساساً توکسوپلازما در شمال ایران شایع‌تر است. (۱ و ۷ و ۹) البته در بررسی حاضر مرغ و خروس‌ها از یک روستا و از خانه‌های مجاور هم تهیه شده و احتمالاً منبع عفونت یکسان بوده است.

در این مطالعه تنها از مغز یکی از گوسفندها توکسوپلازما جدا شد و از مغز بزه انگل جدا نشد. در بررسی قربانی و همکاران توکسوپلازما از مغز ۵ مورد از ۶۶ گوسفند جدا شد و از مغز ۲۲ بز جدا نشد. (۹) اساساً تفاوت در میزان جداسازی توکسوپلازما در حیوان‌های مختلف می‌تواند به سویه توکسوپلازما گوندای و گونه میزبان مرتبط باشد. جایگزینی کیست‌ها در نسوج میزبان‌های مختلف و دوام کیست‌ها در نسوج مختلف یک میزبان متفاوت است. (۳ و ۴) طبق برخی گزارشات در حیوان‌هایی مانند گوسفند و بز کیست‌های

بر اساس مشاهده‌های میکروسکوپی، تعداد کیست‌های مغزی در گسترش‌های مربوط به ایزوله گوسفندی به مراتب بیشتر از ایزوله‌های خروسی و مرغی بود. به طوری که در اکثر گسترش‌های مغزی مربوط به ایزوله گوسفندی بالغ بر ۳۰ کیست نسجی مشاهده شد و در برخی از موش‌ها متجاوز از ۱۰۰ کیست در یک گسترش مغزی مشاهده شد. در مورد ایزوله‌های خروسی و مرغی توکسوپلازما، تعداد کیست‌های مغزی معمولاً کمتر از ۵ تا ۱۰ عدد کیست در هر گسترش بود و در هیچ موردی متجاوز از ۲۰ کیست در یک گسترش مغزی مشاهده نشد.

بنابر مشاهده‌های میکروسکوپی جایگزینی کیست‌های مغزی در قسمت قدامی مغز موش به طور قابل توجهی بیشتر از قسمت خلفی مغز بود.

بر اساس یافته‌های این بررسی تمامی ایزوله‌های توکسوپلازما گوندای از سویه‌های غیرکشنده برای موش بودند. حتی پس از ۵ تا ۶ پاساژ سریال مغزی تغییری در کشنده‌گی ایزوله‌ها مشاهده نشد و توکسوپلازما به صورت عفونت مزمن در موش‌ها دوام داشت. موش‌های آلوده شده فعالیت طبیعی داشتند و آثاری از کاهش تحرک، کزکردگی و سیخ شدن موهای بدن در آنها مشاهده نشد.

بحث و نتیجه‌گیری :

در این مطالعه در بررسی مستقیم گسترش‌های مغز حیوانات، کیست‌های نسجی مشاهده نشد ولی به روش زیست سنجی در موش توکسوپلازما از مغز مرغ، خروس و گوسفند جداسازی شد. اصولاً تعداد کیست‌ها در مغز حیوانات معمولاً به حدی کم است که

▣ مراجع :

۱- دریانی احمد. سرواپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در مراجعین به مراکز بهداشتی رودسر و تعیین میزان بروز آن در زنان باردار سرم منفی. پایان نامه جهت دریافت درجه کارشناسی ارشد انگل شناسی، دانشگاه تربیت مدرس. ۱۳۷۳

2. Dubey J P. *Experimental toxoplasmosis in sheep fed Toxoplasma gondii oocysts. International Goat and Sheep Research*, 1984, 2 : 93-104

3. Dubey J P. *Tissue cyst tropism in Toxoplasma gondii : a comparison of tissue cyst formation in organs of cats and rodents fed oocyst. Parasitology* 1997 ; 115 : 15-20

4. Dubey J P. Beattie C P. *Toxoplasmosis of animals and man*, Boca Raton Florida, CRC press, 1988, PP 220

5. Ferguson D J P, Hutchinson W M. *Comparison of the development of avirulent and virulent strains of Toxoplasma gondii in the peritoneal exudate of mice. Ann Trop Med Parasitol* 1981 ; 75 : 539-46

6. Ghorbani M, Samii A H. *Toxoplasmic lymphadenitis in Iran. J Trop Med Hyg* 1973 ; 76 : 156-60

7. Ghorbani M et al. *Serological survey of toxoplasmosis in the northern part of Iran, using indirect fluorescent technique. Trans Roy Soc Trop Med Hyg* 1978 ; 72 : 369-71

بافتی در بافت های عضلانی بیشتر از مغز است. (۴) در جوندگان کیست های نسجی صرف نظر از سوبه توکسوپلازما گوندای اکثراً در مغز یافت می شوند. (۳) مقایسه نتایج جداسازی به روش زیست نسجی در موش نشان داد که میزان جداسازی توکسوپلازما از موش های تلقیح شده از ۲۵ تا ۸۰ درصد متفاوت است. مطابق بررسی های قبلی در برخی موارد تنها از یکی از چند موش تلقیح شده با سوسپانسیون همسان انگل جدا شده است. (۳ و ۴) بالاتر بودن میزان جداسازی از موش های تلقیح شده با سوسپانسیون مغز گوسفند ممکن است به فراوانی کیست های نسجی در مغز گوسفند مرتبط باشد و یا این که ایزوله گوسفندی توکسوپلازما قابلیت کیست سازی بیشتری داشته باشد و یا تروپسم کیست ها به مغز در ایزوله گوسفندی بیشتر باشد. در یک بررسی جداگانه می توان با تلقیح تعداد مساوی از کیست های مغزی یا تاکی زوئیت های ایزوله های فوق به موش های سوری این نکته را روشن نمود.

کیست های مغزی در قسمت های قدامی موش ها بیشتر از قسمت های خلفی مغز بود که احتمالاً به سیستم خون رسانی مغز مربوط می شود.

▣ سپاسگزاران :

از راهنمایی های استاد فقید زنده یاد دکتر مهدی قربانی و همکاری دانشکده بهداشت دانشگاه علوم پزشکی تهران، دانشکده پزشکی دانشگاه علوم پزشکی قزوین و کشتارگاه زیاران قزوین تشکر و قدردانی می نماید.

8. Ghorbani M et al. Seriological survey of human toxoplasmosis in mountainous regions of the north-west and south-West parts of Iran 1976-77. *Trans R Soc Trop Med Hyg* 1981 ; 74: 38-40
9. Ghorbani M et al. Animal toxoplasmosis in Iran. *J Trop Med Hyg* 1983 ; 86 : 73-6
10. Ghorbani M et al. Serological and parastological investigations on *Toxoplasma* infection in domestic fowls in Iran. *Iranian J Publ Health* 1990 ; 19 : 10-7
11. Hoghooghi-Rad N , Afrra N. Prevalence of toxoplasmosis in human and domestic animals in Ahwaz , Khozestan , south west Iran. *J Trop Med Hyg* 1993 ; 96 : 163-8
12. Hashemi Fesharki R. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle , sheep and goats in Iran. *Vet parasitol* 1996 ; 61 : 1-3
13. Keshavarz-Valian H , Ebrahimi. A prevalence of *Toxoplasma gondii* in birds of Kerman city by serological and parasitological methods. *Iranian J Pub Health* 1994 ; 23 : 25-33
14. Suzuki Y et al. Differences in virulence and development of encephalitis during chronic infection vary with the strain of *Toxoplasma gondii*. *J Infect Dis* 1989 ; 159 1989 : 790-4.