

بررسی رابطه بین تعداد کرم بالغ و تعداد تخم در گرم مدفوع گوسفندان آلوده به دیکروسلیموم دندرتیکوم

اسلامی، ع.،^{۱*}، فیروزوند، ی.،^۲، بکایی، س.،^۳، رونقی، ه.،^۱

دریافت: ۱۳۸۸/۷/۲۰ پذیرش: ۱۳۸۸/۸/۲۴

خلاصه:

دیکروسلیموزیس یکی از آلودگی های انگلی بسیار شایع علف خواران ایران است که با خسارت اقتصادی مستقیم و غیر مستقیم بسیار زیادی همراه است. در حال حاضر مهم ترین راه تشخیص آلودگی در دام های زنده آزمایش مدفوع است. چهره تحت درمانگاهی آلودگی باعث شده تشخیص و کنترل آن مورد توجه جدی قرار نگیرد. در بررسی اخیر، در ۱۱۹ گوسفند آلوده به دیکروسلیموم دندرتیکوم که در بازرسی بهداشتی، آلودگی آنها تایید شده بود تعداد کل کرم های موجود شمارش گردید و با استفاده از روش شناور کردن تخم کرم ها، مدفوع جمع آوری شده از رکتوم هر حیوان، تعداد تخم کرم در گرم مدفوع هر دام تعیین گردید. گوسفندان متناسب با تعداد کرم بالغ در کبد، به سه گروه با آلودگی مختصر (تعداد کرم کمتر از ۵۰۰) با آلودگی متوسط (تعداد کرم مساوی ۵۰۰ - ۱۰۰۰) و آلودگی شدید (تعداد کرم بیشتر از ۱۰۰۰) تقسیم شدند و با استفاده از روش آماری محاسبه ضریب رابطه همبستگی پیرسون، رابطه بین تعداد کرم بالغ در کبد با تعداد تخم در گرم مدفوع ارزیابی شد. نتایج حاصله نشان داد که در کل نمونه ها و همچنین در گروه با آلودگی مختصر و متوسط بین دو متغیر مورد نظر رابطه مثبت $1 < r < 0$ وجود دارد یعنی با افزایش یک عامل، عامل دیگر هم افزایش پیدا می کند ولی در گروه با آلودگی شدید ضریب همبستگی بدست آمده معنی دار نمی باشد.

واژه های کلیدی: دیکروسلیموم دندرتیکوم، گوسفند، تخم کرم، ضریب همبستگی.

۱- گروه انگل شناسی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران.

۲- دانش آموخته گروه انگل شناسی دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات

۳- گروه کنترل و بهداشت مواد غذایی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران

*نویسنده مسئول: aislami@ut.ac.ir

مقدمه:

۱۰۰ چشمه در اینچ با آب جاری، تکه های بزرگ جدا و دور ریخته شد و از بقیه محتویات دیکروسلیوم ها جدا و شمارش گردید و در الکل ۷۰٪ محتوی ۵٪ گلیسرین نگهداری شد. در آزمایش مدفوع، ۳ گرم از مدفوع هر گوسفند متناسب با شماره کبد مربوطه به روش شناورسازی تخم کرم ها با استفاده از محلول کلرور روی و نمک اشباع (با وزن مخصوص ۱/۵۲) و سانتیفریژ کیتون لین آزمایش شد و تعداد تخم کرم ها در هر نمونه جداگانه یاد داشت شد. متناسب با تعداد کرم در کبد سه گروه با آلودگی مختصر (تعداد کرم > 500 عدد) با آلودگی متوسط (تعداد کرم بین ۵۰۰-۱۰۰۰) و با آلودگی شدید (تعداد کرم < 1000) تقسیم گردید و با استفاده از ضریب همبستگی پیرسون ضریب همبستگی، مقدار ضریب تعیین (R^2) برحسب درصد و P value برای دو فاکتور مور نظر تعیین گردید.

نتایج:

نتایج مربوط به رابطه بین تعداد کرم بالغ در کبد و تخم کرم در مدفوع در جدول (۱) نشان داده شده است. براساس اطلاعات جدول (۱) در تعداد کل نمونه های بررسی شده (۱۱۹ نمونه)، گروه با آلودگی کم (۸۰ نمونه) و متوسط (۱۶ نمونه) با ضرایب همبستگی متفاوت، ضریب همبستگی پیرسون مستقیم و ناقص بوده و معنا دار می باشد اما با وجود معنی دار بودن ضریب همبستگی، مقدار ضریب تعیین مربوط به آن به ترتیب ۱۰٪، ۲۸٪ و ۱۳٪ می باشند که نشان دهنده رابطه ضعیفی بین تغییرات دومتغیر با یکدیگر می باشد. ولی در آلودگی شدید (تعداد کرم < 1000) ضریب همبستگی بدست آمده معنی دار نبوده یعنی با عدد صفر تفاوتی نداشته که حکایت از مستقل بودن دو متغیر از یکدیگر دارد.

بحث:

میزان شیوع بالا و خسارت اقتصادی زیاد ناشی از دیکروسلیازیس باعث شده آن را یکی از شش آلودگی کرمی مهم نشخوارکنندگان دنیا بدانند. (Hiepe, ۱۹۹۴) در ایران آلودگی نشخوارکنندگان از کلیه استان ها گزارش شده است. طبق

برای مبارزه با بیماری ها و کنترل آنها مهم ترین اقدام، تشخیص دقیق و به موقع آن هاست. دیکروسلیازیس یکی از شش بیماری انگلی نشخوارکنندگان محسوب می شود، (Hiepe, ۱۹۹۴) که در ایران نیز شیوع زیادی داشته و کلیه علف خواران اهلی و وحشی و انسان به آن مبتلا هستند و خسارت اقتصادی ناشی از آن بسیار زیاد است (فیروزوند، ۱۳۸۸). عملی ترین راه برای تشخیص آلودگی، آزمایش مدفوع با استفاده از روش های شناورسازی و یارسوب تخم کرم هاست. ولی برخلاف نمانتوهای لوله گوارش که متناسب با شدت آلودگی، تخم بطور یک نواخت با مدفوع خارج می شود، تخم دیکروسلیوم دندریتیکوم متناسب با فواصلی که کیسه صفا منقبض شده و مقداری صفا وارد دوازدهه می نماید در مدفوع قابل جستجو است. علاوه بر آن، عوامل زیادی از جمله ساعت نمونه گیری (Senlik و همکاران، ۲۰۰۶)، محلول های مورد استفاده (Cringoli و همکاران، ۲۰۰۲)، سن (Gonzales-Lanza و همکاران، ۱۹۹۳) و مدت زمان بعد از آلودگی (Kopp, ۱۹۷۵) در حضور تخم در مدفوع دخالت دارند. به همین جهت، بررسی های محققین مختلف برای تعیین رابطه میان تعداد کرم بالغ در کبد و تعداد تخم در گرم مدفوع با نتایج متفاوتی همراه بوده است. Campo و همکاران (۲۰۰۰) و Rehbein و همکاران (۲۰۰۲) معتقدند، رابطه مثبت اگر چه ضعیف، بین این دو پارامتر وجود دارد، در حالی که Rojo-Vasquez و همکاران (۱۹۸۱) معتقد به عدم وجود چنین همبستگی هستند. هدف این مطالعه، بررسی رابطه بین تعداد کرم بالغ دیکروسلیوم دندریتیکوم در کبد و تخم آن در گرم مدفوع گوسفندان در آلودگی طبیعی به این ترماتود کبیدی است.

روش ها و وسایل:

برای این مطالعه در بازرسی بهداشتی گوسفندان در کشتارگاه با انتخاب تصادفی، ۱۱۹ کبد آلوده به دیکروسلیوم دندریتیکوم، تعداد کرم های موجود در آن ها شمارش گردید. هر کبد با شماره ای مشخص و سپس به قطعات ۳×۱×۳ تقسیم و در آب ولرم، کاملاً له شد، تا کرم های موجود در مجاری صفاوی کوچک نیز خارج شوند. پس از شستشوی مخلوط در الک

تعداد نمونه مورد بررسی	۸۰	۱۶	۲۳	۱۱۹
تعداد کرم در کبد	<۵۰۰	۱۰۰۰-۵۰۰	>۱۰۰۰	۴۸۲۰ - ۱۰
(۲) مقدار ضریب همبستگی پیرسون با EPG	+۰/۳۱۸	+۰/۵۲۹	-۰/۲۹۳	+۰/۳۵۷
P value مربوط به آزمون ضریب همبستگی پیرسون با عدد صفر	P=۰/۰۰۴	P=۰/۰۳۵	P=۰/۱۷۵	P=۰/۰۰۱
مقدار ضریب تعیین (R ^۲) بر حسب درصد	٪۱۰	٪۲۸	-	٪۱۳

جدول شماره ۱: توزیع ضرایب همبستگی پیرسون، نتیجه آزمون معنی دار بودن آن و ضرایب تعیین بین دو متغیر تعداد کرم دیکروسلیوم دندریتییکوم در کبد و تعداد تخم در گرم مدفوع بر حسب تعداد نمونه بررسی شده

وظیفه آزمایشگاه های دامپزشکی به ویژه انگل شناسی، تشخیص بیماری ها از جمله آلودگی های کرمی است تا دکتران دامپزشک بر اساس یافته های آن ها و تفسیر نتایج آزمایش بتوانند در مورد درمان و یا عدم درمان دام های مبتلا اقدامات لازم را به عمل آورند. تاکنون روش های بکار برده شده برای کنترل آلودگی موفق نبوده لذا تشخیص اولیه دقیق اهمیت زیادی دارد (Gonzalez و همکاران، ۲۰۰۰). در حال حاضر در تمام دنیا آزمایش مدفوع با استفاده از روش های شناور سازی و یا رسوب تخم کرم ها متداول ترین راه تشخیص دیکروسلیا زیس در حیوانات زنده است. ولی تخم دیکروسلیوم دندریتییکوم بر خلاف تخم نماتود های لوله گوارش که به طور مستمر با مدفوع خارج می شود تابع انقباض کیسه صفرها و تخلیه صفرها بوده که تعدادی تخم در روده دوازدهه حیوانات مبتلا تخلیه می شود. موارد منفی کاذب در آزمایش مدفوع یکی از مشکلات تشخیص دیکروسلیا زیس است، اگر چه نشان دادن تخم در مدفوع اهمیت چندانی نداشته و تعیین شدت نسبی آلودگی برای کنترل و مبارزه با این انگل ضروری است. نتایج بررسی های انجام گرفته برای تعیین رابطه بین تعداد کرم بالغ در کبد و تعداد تخم در مدفوع با نتایج نسبتا متفا وتی همراه بوده اند. به عقیده Kopp (۱۹۷۵) رابطه ای بین تعداد تخم در گرم مدفوع، و تعداد کرم در گرم مدفوع وجود ندارد. در صورتی

بررسی های انجام شده در کشور، آلودگی گوسفند بین ۲۲٪ تا ۴۰٪ (رادفر و سخا ۱۳۸۲، Ghazae ۲۰۰۷)، بز بین ۸٪ تا ۱۵٪ (اسلامی و همکاران، ۱۳۵۵؛ مالکی ۱۳۷۳)، گاو بین ۲۲/۲٪ تا ۴۶/۳٪ (اسلامی و همکاران ۱۳۵۵؛ صفری ۱۳۶۶)، گاو میش ۳/۱٪ (اسلامی و زمانی ۱۳۶۸)، گزارش شده است. ضمنا آلودگی به این ترماتود از شتر، گراز، خرگوش وحشی، الاغ، گوسفند وحشی (اسلامی ۱۳۸۷)، و انسان (Zali و همکاران ۲۰۰۴)، نیز گزارش شده است. این گزارش ها حاکی از آلودگی شدید علف خواران به ویژه نشخوارکنندگان کوچک و بزرگ است. ابتلای زیاد حیوانات به این ترماتود به دلیل میزبان های اصلی و واسط متعدد، عدم ایجاد ایمنی حفاظت کننده در برابر آلودگی، مقاومت بسیار زیاد تخم در برابر شرایط نامناسب محیطی، عدم وجود داروی مناسب برای درمان و عدم امکان تشخیص دقیق شیوع و شدت آلودگی در حیوانات زنده با توسل به روش های انگل شناسی است. آلودگی حتی شدید، فاقد نشانه های درمانگاهی است و در صورت شدت آلودگی فرم تحت درمانگاهی ایجاد شده موجب ضبط کبد در بازرسی کشتارگاهی، و کاهش فراورده ها در دام های مبتلا می شود. Broglia و ۲۰۰۶ Geburtsort عقیده دارند که چهره تحت درمانگاهی دیکروسلیا زیس باعث عدم توجه به تشخیص دقیق و به موقع آن شده است.

که Vasquez-Rojo و همکاران (۱۹۸۱) نشان دادند که در آلودگی با بیش از ۱۰۰۰ عدد دیکروسلیوم در کبد چنین رابطه ای برقرار است. در مقایسه بین تعداد تخم در کیسه صفرا، تعداد تخم در گرم مدفوع و تعداد کرم بالغ در کبد، همبستگی مستقیمی مشاهده نگردید، اگر چه با ترسیم معادله خطی، همبستگی ضعیفی بین آنها وجود داشت Rojo-Vasquez و همکاران، (۱۹۸۱). در بررسی دیگری در ترکیه Senlik و همکاران (۲۰۰۶)، اگر چه ارتباط مستقیمی بین تعداد تخم در گرم مدفوع و کرم بالغ موجود در کبد وجود داشت، ولی معادله خطی قابل اعتمادی برای آن قابل ترسیم نبود. در آلوده کردن تجربی دو گروه بره با ۳۰۰۰ و ۱۰۰۰ متاسرکر اگر چه در گروه اول میانگین تعداد کرم (۴۲/۴ - / + ۳۷۴) بیش از گروه دوم (۱۴/۴ - / + ۱۹۴/۸) بود ولی این اختلاف از نظر آماری و تست تی استو دنت معنا دار نبود (Campo و Manga-Gonzalez0، ۲۰۰۰). در بررسی حاضر براساس اطلاعات جدول (۱) در تعداد کل نمونه های بررسی شده، گروه با آلودگی کم و متوسط با ضرایب همبستگی متفاوت، ضریب همبستگی پیرسون مستقیم و ناقص ولی معنا دار بود، و مقدار ضریب تعیین (R^2) بر حسب در صد به ترتیب ۱۰٪، ۲۸٪ و ۱۳٪ تغییرات متغیر EPG به وسیله متغیر تعداد کرم در کبد را نشان می دهد و در ۹۰٪، ۷۲٪ و ۸۷٪ باقی مانده به وسیله ارتباط دو متغیر بیان نشده است که نشان دهنده ارتباط ضعیفی است. ولی آلودگی شدید (تعداد کرم < ۱۰۰۰) ضریب

همبستگی بدست آمده معنی دار نبوده یعنی با عدد صفر تفاوتی نداشته و حاکی از مستقل بودن دو متغیر از یکدیگر است. نتایج بدست آمده در بررسی حاضر با نتایج کلیه مطالعات انجام شده در دنیا جز بررسی Vasquez-Rojo و همکاران (۱۹۸۱)، همخوانی دارد. نتیجه کلیه مطالعات با استفاده از روش های انگل شناسی حاکی از عدم دقت آزمایش مدفوع در تشخیص دیکروسلیازیس و از آن مهم تر شدت آلودگی است. با توجه به در صد آلودگی دام ها در ایران و دنیا و تخمین خسارت اقتصادی مستقیم ناشی از ضبط کبد در سطح یک استان (آذربایجان شرقی) و ذبح سالیانه ۴۰۸،۱۰۴ راس گوسفند و بز ۲،۷۸۳،۳۰۰،۰۰۰ ریال تخمین زده شد (فیروزوند، ۱۳۸۸) البته خسارت ناشی از کاهش کیفی و کمی فرآورده های دامی را باید به این رقم اضافه نمود. بنابراین باید کنترل این آلودگی کرمی را جدی تلقی نمود و برای تشخیص آلودگی به ویژه غربالگری در سطح گله اقدامات جدی به عمل آورد و درمان های راهبردی و تاکتیکی را به مرحله اجرا گذارد. برای این منظور استفاده از روش هایی از قبیل الایزا و دات الایزا استفاده شده است. مقایسه آزمایش مدفوع با روش رسوب تخم کرم ها و الایزا در گوسفند نشان داد که در صد تشخیص به ترتیب ۶/۷٪ و ۸۶/۲٪ بود Sanchez-Andrade و همکاران، (۲۰۰۲). روش الایزای نقطه ای روش ساده تر و عملی تر می باشد. می توان با آلودگی تجربی میزان دقت این روش ها را در تعیین در صد و شدت آلودگی دیکروسلیازیس تعیین نمود.



Journal of Veterinary Medicine & Laboratory 1 (2009) 9 -16



Study on the relationship between adult burden and egg per gram of feces in naturally infected sheep with *Dicrocoelium dendriticum*

Eslami, A. ^{*1}, Firoozvand, Y. ², Bokaie, S. ³, Ronaghi, H. ¹

Received: 12.10.2009; Accepted: 15.11.2009

Abstract:

Dicrocoeliasis, one of the very prevalent parasitic infections of herbivores, cause significant direct and indirect economic losses. At present, fecal examination is the most common method to diagnose the disease in alive animals, although no serious attention is paid to it due to its common subclinical form.

In the present study total numbers of adult worms in the livers of

1-Department of Parasitology, Faculty of Specialized Veterinary Science, Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

2-Post graduate student, Department of Faculty of Specialized Veterinary Science, Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran.

3-Epidemiology division, Department of Control and Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Tehran University, Tehran, Iran.

*Corresponding author: aislami@ut.ac.ir

119 sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum* were counted. Meanwhile fecal egg count from the fecal sample of each sheep was also performed using flotation method. According to the mean number of adult worms in the livers 3 groups with minor infection (mean number of worm < 500) mild infection (mean number of worm 500-1000) and heavy infection (mean number of worms >1000) were performed. Evaluation of the linear relationship between the number of adult worms and egg per gram of feces were carried out using Pearson correlation coefficient. Correlation coefficient revealed that a positive association existed between two groups with light and mild infection ($0 < r < 1$), whereas in heavily infected group the correlation coefficient was not significant.

Key words: *Dicrocoelium dendriticum*, Sheep, Eggs, Correlation coefficient.

منابع:

- اسلامی، ع؛ نیبری-راد، م؛ صالحی، م.ر؛ فیضی، ع. ۱۳۵۵. بررسی ترماتودهای کبدی نشخوارکنندگان در کشتارگاه تهران. نامه دانشکده دامپزشکی. ۲۳(۴،۳،۲،۱) ۲۱-۲۷.
- اسلامی، ع؛ مانی-هرگلانی، ی. ۱۳۶۸. بررسی آلودگی های کرمی گاومیش در ایران. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران. ۳۴(۳) ۲۵-۳۴.
- اسلامی، ع. ۱۳۸۷. کرم شناسی دامپزشکی، جلد اول، ترماتودا. چاپ سوم. انتشارات دانشگاه تهران
- رادفر، م. ج. ۱۳۷۹. بررسی شیوع ترماتودهای کبدی در گوسفندان ذبح شده در کشتارگاه کرمان. سومین گنجره ملی انگل شناسی پزشکی، ساری، ایران.
- صفری، خسرو. ۱۳۶۶. بررسی در مورد شیوع و عوامل بیولوژیکی انگل دیکروسلیوم دندریتیوکوم در منطقه کرج و قزوین و زبان های حاصله از ضبط کبدهای آلوده. { پایان نامه } MsC دانشکده بهداشت دانشگاه تهران.
- فیروزوند، یعقوب. ۱۳۸۸. بررسی میزان شیوع، تغییرات فصلی و اهمیت اقتصادی دیکروسلیوم دندریتیوکوم گوسفند و بز در آذربایجان شرقی و ارزیابی مقایسه ای روش آزمایش مدفوع و الایزا برای تشخیص آلودگی. { پایان نامه PhD } دانشکده تخصصی علوم دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات. دانشگاه آزاد اسلامی.
- ملکی، ح. ۱۳۷۳. بررسی آلودگی های انگلی کبد بز در اهواز. { پایان نامه DVM } دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز.
- Brogli**, A., Geburtsort, M. 2006. Development of an indirect ELISA for the diagnosis of ovine microcoeliosis [Ph D dissertation]. Free Universitat Berlin.
- Campo**, R., Manga-Gonzalez, M. Y. 2000. Relationship between egg output and in lambs experimentally infected with different doses of *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea). *Veterinary Parasitology*. 87, 139-149.
- Cringoli**, G., Rinaldi, L., Veneziano, V., Capelli, G., Molone, JB. 2002. A cross sectional coprological survey of liver flukes in cattle and sheep from an area of the southern Italian Alppennines. *Veterinary Parasitology*. 108 (2), 137-143.
- Ghazae**, C. 2007. An abattoir survey of hydatid and liver fluke disease in sheep and cattle in Ardabil abattoir, Ardabil state, Iran. *Journal of Animal and Veterinary Advance*. 595-596.
- Gonzalez-Lanza, C., Manga-Gonzalez, M. Y., Pozo-Carnero, Del, P. 1993. Coprological study of the *Dicrocoelium dendriticum* (Digenea) egg elimination by cattle in high-land areas in Leon province (NW Spain). *Parasitology Research*. 79, 488-491.
- Gonzalez-Lanza**, C., Manga-Gonzalez, M. Y., Campo, R., Del-Pozo, P., Sandavol, H., Oleaga, A., Ramajo, V. 2000. IgG antibody response to ES or somatic antigens of *Dicrocoelium dendriticum* (Trematoda) in experimentally infected sheep. *Parasitology Research*. 86, 472-479.
- Hiepe**, T. 1994. Helminth control in sheep and goat flocks. *Tierazh. Prax.* 22, 29-34.
- Kopp**, H. 1975. Studies on the egg excretion of *Fasciola hepatica* and *Dicrocoelium dendriticum*

in sheep and cattle in the course of a year.[PhD dissertation] Munich University, Munch.

Rehbein, S., Lindner, T., Kokott, S. 2002. *Dicrocoelium dendriticum* infection in sheep faecal egg count, gall bladder egg count, gall bladder fluke count, total fluke count. *Helmithologia*. 2, 71-75.

Rojo-Vasquez, F., Cordero del Campillo, M., Diez-Banos, P., Chaton-Schaffner, M. 1981. Relation existant entre le nombre d'oeufs dans les Feces et la charge parasitaire lors des infestations naturelles a *Dicrocoelium dendriticum* chez les ovins. *Revue de Médecine Vétérinaire*. 132, 601-607.

Sanchez-Andrade, R., Paz-Silva, A., Suarez, J.L., Arias, M., Lopez, C., Morrondo-Scala, A. 2003. Serum antibodies to *Dicrocoelium dendriticum* in sheep from Saradina (Italy). *Preventive Veterinary Medicine*. 57, 1-5.

Senlik, B.G., Vel, k., Muz, M., Tinar, R. 2006. Changes in faecal egg counts at different hours of the day and relationship between faecal egg count and parasite burden in sheep naturally infected with *Dicrocoelium dendriticum*. *Turkish Journal of Veterinary Animal Science*. 30, 107-111.

Zali, M.R.J., Mehr, A., Rezaian, M., Meamar, A.R., Vaziri, S., Mohraz, M. 2004. Prevalence of Intestinal parasitic pathogens among HIV-positive Individuals in IRAN. *Japanese Journal of Infectious Disease*. 57, 268-270