

# مطالعه ریخت‌شناسی و فراریزینی کیست سارکوسیستیس جدا شده از گاومیشهای خوزستان

● عبدالحسین دلیمی اصل، دانشیار گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس  
● محمد خداشناس، استادیار مؤسسه تحقیقات واکسن و سرمسازی رازی  
● عباس نوری، مربی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرمسازی رازی  
● محمد مروتی، مربی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرمسازی رازی (اهواز)  
تاریخ دریافت: فروردین ماه ۱۳۷۸

سابقاً گونه‌های سارکوسیستیس را براساس خصوصیات مورفولوژی کیست‌ها (شکل، اندازه و ضخامت دیواره) و میزبان واسط اختصاصی طبقه‌بندی می‌کردند در سال ۱۹۷۲ نیز طبقه‌بندی جدیدی براساس اختصاصی بودن میزبان نهائی انگل ارائه گردید (۱۱). ولی بعدها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی ثابت شد که موضوع اختصاصی بودن برخی از گونه‌ها به میزبانان خاص فاقد جامعیت لازم است (۳، ۷، ۹ و ۱۴).

گرچه امروزه استفاده از تکنیک‌های ایزوآنزیم و روش‌های مولکولی برای تشخیص گونه‌ها و استرین‌ها رایج است ولی با این حال خصوصیات مورفولوژیکی و فراریز ساختمانی<sup>۱</sup> دیواره کیست‌های بالغ عضلات هنوز به عنوان یکی از معیارهای شناسائی گونه‌ها دارای اعتبار بوده و مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۳). در این میان ساختمان دیواره کیست معیار مفیدی برای شناسائی گونه‌های سارکوسیستیس به شمار می‌آید. گزارش‌های متعدد ساختمان فراریزینی دیواره سارکوسیست گونه‌های مختلف نشان می‌دهد که اختلاف قابل ملاحظه‌ای در شکل دیواره به صورت شکل بالنسبه ساده تا بسیار پیچیده وجود دارد با بررسی گزارش‌های منتشر شده تاکنون حداقل ۲۴ نوع متمایز دیواره سارکوسیست گزارش شده است (۶).

در جهان تاکنون از گاومیش‌های کشورهای هند، فیلیپین، مالزی، برزیل، ترکیه و مصر گونه‌های *S. leviniei* و *S. fusiformis* گزارش شده است. برخی از این مطالعات بر اساس یافته‌های میکروسکوپ الکترونی بوده است (۱۰، ۱۶، ۱۷ و ۱۸). در مطالعه حاضر با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، دیواره سارکوسیست‌های جدا شده از عضلات گاومیش اهلی مورد مطالعه قرار گرفته است.

## مواد و روشها

با مراجعه به کشتارگاه اهواز، از عضلات آلوده به کیست سارکوسیست گاومیش‌های ذبح شده نمونه‌برداری به عمل آمد پس از جداسازی سارکوسیست‌ها از عضله، آنها را در فسفات بافر شستشو داده و به قطعات یک میلی‌متری تقسیم و مجدداً در گلوکار آلدئید ۵ درصد به

✓ Pajouhesh & Sazandegi, No 43 PP: 47-49  
Ultrastructural study of sarcocysts isolated from water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Khozestan province, in Iran  
By: Dalimi A., Associate Professor Parasitology Dept. - Medical science faculty - Tarbiat Modarres university; Khodashenas M., Assistant Prof. Razi vaccine and serum research institute, Karaj, Iran.; Noori A. Scientific member of Razi vaccine and serum research institute, Karaj, Iran.; Morovati M., Scientific member of Razi vaccine and serum research institute, Ahwaz, Iran.

Morphological and ultrastructural characteristics of primary wall of mature sarcocyst are used as good criteria to identify species of Sarcocystis genus. In the present study, primary cyst walls of sarcocystis that were isolated from water buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Khozestan province in south of Iran, was studied by light and transmission electro- microscope. The cysts were recovered from esophagus were found white, large and ovoid. In electromicroscopic study, the primary cyst wall was thick and consist of two portions. The external portion contained numerous cauliflower-like protrusion. The aforementioned characteristics conformed to *Sarcocystis fusiformis* morphological description.

اصلی و مرحله غیر جنسی آن در میزبان واسط تشکیل می‌گردد در بدن میزبان واسط کیست‌های حاوی انگل در بین عضلات مختلف بدن تشکیل می‌شود اندازه و شکل سارکوسیست در ارتباط با گونه انگل متفاوت است برخی از کیست‌ها میکروسکوپی و برخی دیگر ماکروسکوپی و به اشکال رشته‌ای یا شبیه دانه برنج یا کروی می‌باشند.

چکیده  
کیست سارکوسیستیس دارای دو دیواره اولیه و ثانویه است. ساختمان دیواره اولیه کیست معمولاً بین گونه‌های انگل متفاوت است. خصوصیات ساختمانی و فراریزینی این دیواره می‌تواند شاخص خوبی برای تشخیص گونه انگل باشد. در مطالعه حاضر تعدادی از سارکوسیست‌های جدا شده از عضلات گاومیش‌های خوزستان، از لحاظ ریخت‌شناسی و ساختمان فراریزینی دیواره اولیه مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. از لحاظ ماکروسکوپی، کیست‌های مذکور سفیدرنگ، دوکی شکل و محدب و به ابعاد ۳-۱۲×۱۲-۷ میلی‌متر و دیواره اولیه آنها در نمای میکروسکوپ الکترونی، نازک و دارای زائده‌های پهن شبه گل کلمی بوده است. با توجه به مشخصات دیواره اولیه کیست و تطبیق آن با سایر مطالعات، گونه جدا شده از عضلات گاومیش خوزستانی *Sarcocystis fusiformis* تشخیص داده شد.

## مقدمه

سارکوسیستیس یکی از شایع‌ترین انگل‌های تک یاخته‌ای حیوانات در جهان به شمار می‌آید. این انگل قادر است که حیوانات اهلی، پستانداران وحشی، پرندگان، جانوران خونسرد (خزندگان و ماهیان) و انسان را آلوده سازد معمولاً مرحله جنسی انگل در بدن میزبان



مدت سه ساعت قرار داده شد سپس مرحله تهیه و تدارک نمونه‌ها تا مرحله برش‌گیری<sup>۲</sup> شروع گردید. نمونه‌ها سپس در بافر فسفات ۰/۲M در pH=۷/۲ سه بار شستشو داده شد و در فیکساتیو اسمیوم تترااکساید<sup>۳</sup> دو درصد به مدت دو ساعت فیکس گردیدند. پس از آن مرحله آبیگری<sup>۴</sup> با استفاده از الکل اتیلیک در درجات مختلف از ۲۵ درصد تا ۱۰۰ درصد انجام و پس از گذار از پروپیلن اکساید به مدت یک ساعت نمونه‌ها در کپسول‌های مخصوص BEEM جایگزین و بارزینهای EPOXY مخصوصاً EPON812 قالب‌گیری و پس از مرحله پلیمریزاسیون در ۶۰ درجه حرارت سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت نمونه‌ها با اولترامیکروتوم اتوماتیک V.T.60 برش‌گیری شد.

برش‌گیری در دو مرحله انجام پذیرفت، ابتدا برشهایی به ضخامت یک تا ۱/۵ میکرون<sup>۵</sup> از بلوک‌های آماده تهیه و پس از رنگ‌آمیزی با تولوئیدن بلو با میکروسکوپ نوری مشاهده و پس از یافتن و تشخیص ناحیه مورد مطالعه، از همین نقطه اقدام به تهیه برشهای بسیار نازک به ضخامت ۵۰۰-۳۰۰ آنگستروم<sup>۶</sup> گردید. برشهای تهیه شده با اولترامیکروتومی با تکنیک خاصی بر روی گریدهای ۱۰۰ قرار داده شد و پس از رنگ‌آمیزی با اورانیل استات ولید سیترات (رنگ‌آمیزی مثبت) با میکروسکوپ الکترونی ترانس‌میشن ۴۰۰ (TEM400) مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت. تعداد نمونه‌های مورد بررسی ۳۰ عدد بوده است.

### نتایج

سارکوسیست‌های جدا شده از گاومیش، سفیدرنگ، دوکی شکل و محدب و به ابعاد ۷ تا ۱۱ میلی‌متر طول و ۲ تا ۳ میلی‌متر عرض بوده‌اند، در مطالعه دیواره کیست‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری دیواره کیست به ضخامت ۱۰/۷۸ تا ۱۴/۷۰ میکرون و متشکل از دو بخش کاملاً مجزا بوده است. ضخامت بخش بیرونی ۶/۸۶-۹/۸۰ میکرون و ضخامت بخش داخلی ۴/۹۰-۳/۹۲ میکرون بوده است (شکل شماره ۱).

در مطالعه دیواره کیست با استفاده از میکروسکوپ الکترونی، دیواره دو قسمتی نیز مشاهده می‌شد در بخش بیرونی دیواره، زائده‌های مشخص شبه گل کلمی کاملاً مشخص بوده است (شکل‌های شماره ۲ و ۳). با توجه به این خصوصیات و اینکه تاکنون فقط دو گونه سارکوسیستیس گاومیش شناسایی شده‌اند لذا گونه *S. fusiformis* تشخیص داده شد.

### بحث

قبل از ۱۹۷۲، دو معیار اصلی طبقه‌بندی سارکوسیستیس، ساختمان کیست و نوع میزبان واسط بوده است. ولی بررسی‌های چرخه‌های زندگی گونه‌های مختلف نشان داد که برخی سارکوسیست‌ها با ساختمانی مشابه دارای میزبانان واسط متفاوت و برخی گونه‌های دیگر قادر بوده‌اند که انواع متعددی از میزبانان واسط را آلوده نمایند به همین جهت از شاخصهای دیگری برای طبقه‌بندی گونه‌های سارکوسیستیس استفاده شد. یکی از این شاخص‌ها مطالعه ماکروسکوپی و میکروسکوپی ساختمان کیست بوده است. از طرفی شکل و اندازه کیست بر حسب نوع سارکوسیستیس، نوع بافت سلول میزبان و عوامل دیگر متغیر است. رشد برخی از گونه‌ها

برای چندین سال پس از رسیدن به مرحله عفونی همچنان ادامه می‌یابد ولی در برخی دیگر در مدت کوتاهی رشد آنها متوقف می‌شود و یا یک گونه از سارکوسیستیس بر حسب قرار گرفتن در مری یا دیافرام اشکال متفاوتی از کیست را نشان می‌دهد بنابراین تکیه بر شکل و اندازه ماکروسکوپی کیست‌ها برای طبقه‌بندی گونه‌ها کافی به نظر نمی‌آید. ساختمان متروست و برادی زوئیت نیز معیار مفیدی برای طبقه‌بندی نیستند. زیرا که در طول مرحله رشد شکل و اندازه آنها متغیر است. ساختمان شیرونت نیز ارزش محدودی در طبقه‌بندی دارد. زیرا که در ارتباط با چرخه تکاملی و سلول میزبان بسیار متغیر است ساختمان اوسیست و اسپورسیست نیز در طبقه‌بندی، فاقد ارزش هستند. ولی ساختمان دیواره سارکوسیست معیار خوبی برای طبقه‌بندی به شمار می‌آید و به نظر می‌رسد که ساختمان دیواره سارکوسیست یک رابطه فیلوژنتیکی را نشان می‌دهد ولی باید توجه داشت که ساختمان دیواره کیست باید به دقت و احتیاط مورد استفاده قرار

گیرد زیرا که استفاده از ماده ثابت کننده نامناسب و جداسازی نامناسب کیست از بافت اطراف باعث اختلال در تشخیص می‌گردد. با استفاده از میکروسکوپ الکترونی تاکنون حداقل ۲۴ نوع متمایز از کیست سارکوسیست شناسایی شده است. زواند دیواره کیست به اشکال مختلف از قبیل برآمدگیهای انگشتی، قارچی، گنبدی گل کلمی، دیسکی، چماقی، دوزنقه‌ای، استوانه‌ای و... دیده می‌شود.

تاکنون دو گونه سارکوسیستیس شامل *S. levinei* و *S. fusiformis* از گاومیشهای کشورهای مختلف گزارش شده است (۶). *S. levinei* دوکی شکل و به طول تا ۱۱۵۰ میکرومتر معمولاً در عضلات بدن و قلب یافت می‌شود دیواره سارکوسیست نازک بوده و زائده‌هایی با حواشی خارجی موج‌دار روی دیواره دیده می‌شود ولی *S. fusiformis* معمولاً تا ۳۲ میلی‌متر طول و ۸ میلی‌متر عرض داشته دیواره آن نازک و دارای زائده‌های مشخص شبه گل کلمی است. *S. fusiformis* تاکنون از گاومیشهای هند، مصر، فیلیپین، رومانی، برزیل و ترکیه

شکل شماره ۱- مقطع میکروسکوپی سارکوسیست جدا شده از عضلات گاومیش (×۴۰۰)





## منابع مورد استفاده

- 1- Achuthan H.N., 1983. Sarcocystis and sarcocystosis in buffalo (*Bubalus bubalis*) calves. Indian Vet, 344. 2- Chauhan P.P.S., Agrawal R.D. and Arora G.S., 1987. Incidence of *Sarcocystis fusiformis* in indian buffaloes. Indian J. Parasitol, 2, 123. 3- Crum J.M., Fayer R. & Prestwood A.K., 1981. Sarcocystis spp. in whitetailed deer. I. Definitive and intermediate host spectrum with a description of *Sarcocystis odocoileocanis* n. Sp. J. Wildlife Dis., 17: 567-579. 4- Dessouky M.L., Mohamed A.H., Nassar A.M. and Hilali M., 1984. Haematological and biochemical changes in buffalo calves inoculated with *Sarcocystis fusiformis* from cats. Vet. Parasitol., 14, 1. 5- Dissanaik A.S. And kan S.P., 1987. Studies on sarcocystis in Malaysia. I. *Sarcocystis levinei* n. Sp. From the water buffalo (*Bubalus bubalis*). Z. parasitenkd., 55, 127. 6- Dubey J.P., Speer C.A. and Fayer R., 1989. Sarcocystosis of animals and man. Florida, CRC press. 7- Fayer R., Dubey J.P. & Leek R.G., 1982. Infectivity of sarcocystis spp. from bison, elk, moose and cattle for cattle via sporocysts from coyotes. J. parasitol., 68: 681-685. 8- Ghoshal S.B., Joshi S.C. and Shah H.I., 1986. A note on the natural occurrence of sarcocystis in buffaloes (*Bubalus bubalis*) in Jabalpur region, M.P., Indian Vet. J., 63, 165. 9- Heydorn A.O. and Matuschka F.R., 1981. Zur Endwirtspezifitat der vom Hund Ubertragenen Sarkosporidienarten. Z. Parasitenkd., 66: 231-234. 10- Kan S.P. and Dissanaik A.S., 1978. Studies on sarcocystis in Malaysia II. Comparative ultrastrucure of the cyst wall and zoites of *Sarcocystis levinei* and *Sarcocystis fusiformis* from the water buffalo, *Bubalus bubalis*, Z. Parasitenkd., 57, 107. 11- Levine N.D. and Tadros W., 1980. Named species and hosts of sarcocystis (Protozoa: Apicomplexa: Sarcocystidae). Syst. Parasitol., 2: 41-60. 12- Lopes C.W.G., Araujo J.L. de B., and Pereira M.J.S., 1982. *Sarcocystis levieni* (Apicomplexa: Sarcocystidae) in the water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Brazil, Arq. Univ. Fed. Rul al Rio de Janeiro, 5, 21. 13- Mehlhorn H., Hartley W.J. & Heydorn A.O., 1976. A Comparative ultrastructural study of the cyst wall of 13 *Sarcocystis* species. Protistologica, 12: 451-467. 14- O'Donoghue P.J., Adans M., Dixon B.R.,

- Ford G.E. and Baverstock P.R., 1986. Morphological and biochemical correlates in the characterization of sarcocystis spp. J. Protozool., Vol. 33, No. 1, 114-121. 15- Retzlaff N. and Weise E., 1969. Sarkosporidien beim wasserbuffel (*Bubalus bubalis*) in der Turkei, Berl. Muench. Tieraeztl. Wochenschr., 15, 283. 16- Scholtyssek E. and Hilali M., 1978. Ultrastructural study of the sexual stages of *Sarcocystis fusiformis* (Railliet, 1879 in domestic cats. Z. parasitenkd., 56, 205. 17- Tongson M.S. and Molina R.M., 1979. Light and electron microscope studies on sarcocystis sp: of the Philippine buffaloes (*Bubalus bubalis*). Philipp. J. Vet. Med., 18, 16. 18- Zaman V. and Colley, F.C., 1972. Fine Structure of *Sarcocystis fusiformis*

گزارش شده است (۱، ۲، ۴، ۵، ۸، ۱۲، ۱۵ و ۱۷). میزبان قطعی این انگل گربه اهلی است و به نظر می‌رسد که انگل غیر بیماری‌زاست زیرا که در گاو‌میشهای کشتار شده اهواز با وجود آلودگی بسیار شدید عضلات به این انگل، هیچگونه علامت بیماری در بازرسی‌های قبل از کشتار در آنها مشاهده نمی‌شد.

## سپاسگزاری

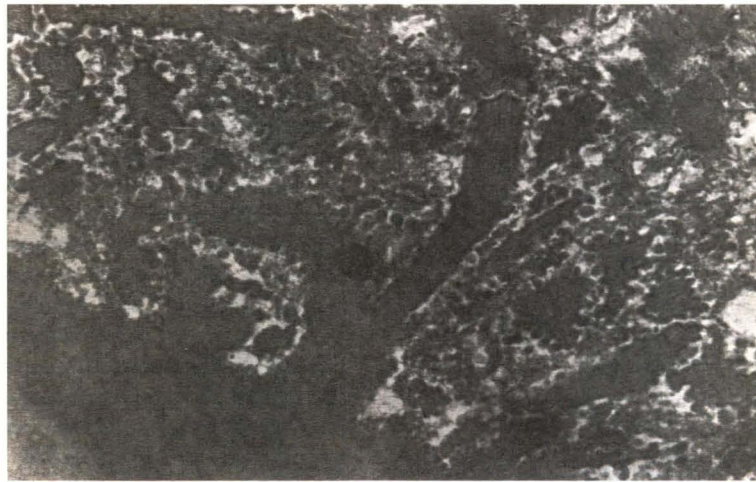
بدینوسیله از مسئولین محترم مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی به خاطر فراهم‌آوردن شرایط لازم جهت انجام این بررسی نهایت تشکر را داریم.

## پاورقی‌ها

- 1- Ultrastructure 2- Preparation 3- Osmium tetroxide 4- Dehydration 5- Thick section 6- Thin Section

from the Indian water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Singapore, Southeast Asian. J. Trop. Med. Public Health, 3, 489.

شکل شماره ۲- مقطع میکروسکوپ الکترونی، دیواره سارکوسیست جدا شده از عضلات گاو‌میش (×۱۳۵۰۰)



شکل ۳- مقطع میکروسکوپ الکترونی، زانده دیواره سارکوسیست جدا شده از عضلات گاو‌میش (×۲۲۰۰۰)

