ORIGINAL ARTICLE

Movement trend of Toxoplasma gondii in different tissues of Balb/c after immunization with Excretory-Secretory Antigens

Yousef Dadimoghaddam[1], Ahmad Daryani[2,3], Hamed Kalani[1], Ehsan Ahmadpour[1,*], Mehdi Sharif[2,3], Hajar Ziaei[2,3], Shahabeddin Sarvi[2,3]

[1] Student Research Committee, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[2]Toxoplasmosis Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran
[3] Parasitology and Mycology Department, Faculty of Medicine, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received June 30 , 2012 ; Accepted Febryary 2, 2012)

Abstract

Background and Purpose: Toxoplasma gondii is an obligatory intracellular parasite in different cells of human beings and animals. The aim of this study was to evaluate presence and movement trend of T. gondii tachyzoites in different tissues of Balb/c, after immunization with Excretory Secretory Antigens (ESA).

Materials and Methods This experimental survey has been performed on 24 Balb/c mice in case and control groups. For immunization of mice, two times, intervals two weeks, case group (n=12) received 40 µL ESA+40µL Adjuvant and control group got 40 µL PBS+40µL Adjuvant. Two weeks after the second immunization, mice were challenged with 1×10^4 alive and active tachyzoites of *T. gondii* RH strain and on 1, 2, 3 days and the last day (before death), after challenge different tissues of 3 mice from each group were prepared and stained with Giemsa stain and the slides evaluated for presence or absence of parasites and parasitic load.

Results: Toxoplasma after intraperitoneal injection, in both case and control groups were able to movement to various tissues. In the case group receiving Excretory Secretory Antigens (ESA), parasitic load in spleen, liver and heart was less than control group.

Conclusion: Hence, ESA reduced the parasitic load, but could not inhibit the distribution and presence of Toxoplasma in different tissues.

Keywords: Movement trend, Toxoplasma gondii, tissues, Balb/c, immunization, Excretory Secretory Antigens (ESA)

J Mazand Univ Med Sci 2013; 23(suppn-2): 22-27 (Persian).

پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی مازندران
دوره بیست و دوم ویژه نامه۱ اسفند سال ۱۳۹۱ (۲۷-۲۲)

سیر حرکت انگل توکسو پلاسما گوندیی در اندام‌های مختلف بدن موش Balb/c پس از ایمونیزاسیون با آنتی ژن های دفعی ترشحی

یوسف دادی مقدم[۱]، احمد دریانی[۲و۳] حامد کلانی[۱] احسان احمد پور[۱]* مهدی شریف[۲و۳] هاجر ضیایی[۲و۳]
شهاب الدین سروی[۲و۳]

چکیده

زمینه و هدف: توکسو پلاسما گوندیی انگل اجباری درون سلولی بافتهای مختلف انسان و حیوانات می باشد. هدف از این مطالعه بررسی حضور و سیر حرکت تاکی زوئیت انگل توکسوپلاسما گوندیی در بافتهای مختلف موش Balb/c پس از ایمونیزاسیون با آنتی ژن های دفعی ترشحی بوده است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه تجربی در مجموع بر روی ۲۴ سر موش Balb/c در دو گروه مورد و شاهد صورت گرفت. جهت ایمونیزاسیون موش ها، دو بار به فاصله ۲ هفته، به موشهای گروه مورد (۱۲سر) ۴۰ µL (آنتی ژن دفعی- ترشحی (ESA) حاوی ۱۰۰ µg پروتئین به همراه ۴۰ µL ادجونت کامل فروند و به گروه شاهد نیز ۴۰ µL از PBS به همراه ۴۰ µL میکرولیتر ادجونت کامل فروند تزریق گردید. دو هفته بعد از ایمونیزاسیون دوم، چالش موشها با تعداد $۱۰^{۴}$×۱ تاکی زوئیت زنده و فعال سویه RH انگل توکسو پلاسما گوندیی انجام شد و در روزهای ۱، ۲، ۳ و روز آخر (قبل از مرگ) از اندامهای مختلف (کبد، طحال، قلب، کلیه، ...) سه سر موش از هر گروه یک اسمیر تماسی (Impression) تهیه و با گیمسا رنگ آمیزی شده و بعد از آن از نظر وجود یا عدم وجود و نیز شدت آلودگی به انگل توکسوپلاسما مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: توکسوپلاسما گوندیی پس از تزریق داخل صفاقی، در هر دو گروه مورد و شاهد توانسته بود به بافت های مختلف سیر نماید. در گروه مورد با دریافت آنتی ژن دفعی- ترشحی شدت آلودگی انگلی در بافت های طحال، کبد و قلب نسبت به گروه شاهد کاهش یافته بود.

استنتاج: آنتی ژنهای دفعی-ترشحی (ESA) علیرغم کاهش بار انگلی، مانع گسترش و حضور انگل در بافت ها نشده بود.

واژه های کلیدی: سیر حرکت، توکسو پلاسما گوندیی، بافت، Balb/c، ایمونیزاسیون، آنتی ژنهای دفعی- ترشحی

مقدمه

توکسوپلاسما گوندیی یک تک یاخته داخل سلولی اجباری است که طیف وسیعی از مهره داران را آلوده می کند و سازگاری آن با موجودات مختلف، کنترل و پیشگیری آن را عملاً دشوار کرده است. راههای انتقال انگل که به عنوان عوامل خطر ابتلا به توکسوپلاسموز محسوب می شو د، بسیار متنوع بوده و شامل مصرف گوشت خام یا نیم پز، تماس با گربه آلوده، تماس با خاک آلوده به مدفوع گربه، تمیز کردن جای نگهداری گربه ها بوده و انتقال از مادر به جنین و ... نیز صورت می گیرد. ازطرفی به دلیل

مؤلف مسئول: احسان احمدپور- کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی ساری، دانشگاه علوم پزشکی مازندران Email: ehsanahmadpour@gmail.com
۱. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۲. مرکز تحقیقات توکسوپلاسموزیس، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
۳.گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران
تاریخ دریافت : ۱۳۹۱/۱۰/۱۷ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات : ۱۳۹۱/۱۱/۲ تاریخ تصویب : ۱۳۹۱/۱۲/۲

تنوع عوامل خطر،گسترش روز افزون بیماریهای نقص ایمنی و مصرف داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی، ابتلا به توکسوپلاسموز از اهمیت ویژه ای برخوردار است(۱). درمان این بیماری به خاطر اثرات سمی داروهای در دسترس، مشکل است و عفونت مجدد بسرعت اتفاق می افتد. تحت شرایط حاضر، ایجاد و گسترش داروهای جدید ضد توکسوپلاسما یا یک واکسن، جایگزین بسیار مناسب خواهد بود (۳-۱).

برای ایمونیزاسیون میزبان واسط علیه توکسوپلاسما گوندیی از سویه های زنده غیر بیماریزای انگل، کشته شده، سویه تخفیف حدت یافته توسط اشعه و یا آنتی ژنهای انگلی استفاده می شود که هر کدام از موارد ذکر شده معایبی دارد که سبب شده تا بررسی ها به سمت آنتی ژنهای ایمونوژن و محافظت کننده سوق پیدا کند. طی مطالعه ای که زارع و همکاران در سال ۲۰۰۶ بر روی اندامهای مختلف رت پس از آلودگی با سویه RH توکسو پلاسما انجام دادند به این نتیجه رسیدند که انگل توکسوپلاسما در اندامهایی مانند طحال و کبد برای مدت کوتاهی ولی در مغز و عضلات مخطط و قلب برای مدت طولانی می تواند حضور داشته باشد(۴).

همچنین در مطالعه ای که خوش زبان و همکاران در سال ۱۳۸۵ انجام دادند حرکت توکسوپلاسما را در بافت های مختلف موشی بعد از تاثیر عصاره سیر مورد بررسی قرار دادند و اظهار داشتند که تاکی زوییت ها در بافت های کبد و مغز مشاهده نمی شوند و فقط در طحال قابل مشاهده اند که این موضوع از نظر ایمونولوژیکی قابل بررسی است(۵). با توجه به سیر انگل توکسوپلاسما به ارگانهای حساسی نظیر مغز، چشم، کبد و ایجاد بیماری بخصوص در جنین و نیز افراد دارای نقص سیستم ایمنی، مطالعه حاضر جهت بررسی تاثیر آنتی ژنهای دفعی- ترشحی (ESA) توکسوپلاسما بر روی سیر حرکت و مهار تکثیر انگل در بافت های مختلف موش Balb/c مورد بررسی قرار گرفته است.

مواد و روش ها

۱- تکثیر تاکی زوئیت ها: در این مطالعه از تاکی زوئیتهای سوش استاندارد RH توکسوپلاسما گوندیی نگهداری شده در دانشکده پزشکی ساری که در صفاق موش سوری پاساژ داده می شوند استفاده گردید و برای جلوگیری از عدم آلودگی به سوسپانسیون حاوی انگل آنتی بیوتیک های پنی سیلین (۱۰۰ Iu/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰ µg/ml) اضافه شد.

۲- آماده سازی موش های مورد مطالعه: دراین مطا لعه تجربی- مداخله ای، در مجموع ۲۴ سر موش Balb/c به دو گروه مورد (۱۲ سر) و شاهد (۱۲ سر) تقسیم شده بودند.

۳- تهیه آنتی ژنهای دفعی - ترشحی (ESA): آنتی ژنهای دفعی- ترشحی (ESA) به روش غیرسلولی تهیه شد. در این روش ابتدا به هر موش تعداد $۵ - ۸ \times ۱۰^{۶}$ تاکی زوئیت به صورت داخل صفاقی تزریق گردید و پس از ۴-۳ روز مایع صفاق موش را آسپیره کرده و پس از خارج کردن انگل ها از ماکروفاژها، همان روز از تاکی زوئیت های زنده و فعال جهت تهیه آنتی ژنهای دفعی- ترشحی استفاده شد. مایع حاصل از صفاق موش در ۷۵۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و رسوب حاصل ۲ بار و هر بار با ۲-۳ سی سی محیط کشت غیر سلولی (RPMI-1640) شستشو داده شد. به رسوب حاصل از شستشوی دوم که حاوی تاکی زوئیت بود، مجدداً ۲ سی سی RPMI-1640 بعلاوه پنی سیلین (۱۰۰ Iu/ml) و استرپتومایسین (۱۰۰µg/ml) اضافه و در تکان ملایم (۳۰ دور در دقیقه) به مدت ۳ ساعت انکوبه شد. سپس برای رسوب دادن انگل ها، لوله را در ۱۰۰۰ g به مدت ۱۰ دقیقه در ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ کرده و مایع رویی که حاوی آنتی ژنهای دفعی- ترشحی (ESA) است تحت شرایط استریل جمع آوری و به آن پنی سیلین (۱۰۰ Iu/ml)و استرپتومایسین (۱۰۰ Mg/ml) اضافه شد. محلول حاصل پس از تعیین غلظت پروتئین به روش

برادفورد، تا زمان استفاده در ۲۰- درجه سانتی گراد نگه‌داری شده بود(۲).

۴- تزریق آنتی ژنهای دفعی- ترشحی (ESA) به موش ها: به هرکدام از موش‌های گروه مورد دو بار به فاصله دو هفته، ۴۰ میکرولیتر آنتی ژن دفعی- ترشحی (ESA) حاوی ۱۰۰ میکروگرم پروتئین به همراه ۴۰ میکرولیتر ادجونت کامل فروند و به گروه شاهد نیز ۴۰ میکرولیتر PBS به همراه ۴۰ میکرولیتر ادجونت کامل فروند تزریق شد.

۵- چالش موش ها با انگل سویه RH توکسوپلاسما: دو هفته بعد از ایمونیزاسیون دوم، چالش موشها با تعداد $۱۰^{۴}$×۱ زوئیت زنده و فعال سویه RH انگل توکسوپلاسما گوندیی انجام شد.

۶- نمونه برداری از اندامها و بررسی لامها: در روزهای ۱، ۲، ۳ و روز آخر قبل از مرگ، که موشها به علت آسیت از حرکت باز می مانند و در گوشه ای بی حرکت قرار می گیرند از اندامهای مختلف (کبد، طحال، قلب، کلیه، ...) سه سر موش از هر گروه، یک گسترش از بافت له شده تهیه شد و بعد از فیکس کردن با متانل با گیمسا رنگ آمیزی شده بود و با میکروسکوپ نوری از نظر وجود یا عدم وجود انگل و نیز شدت آلودگی به توکسوپلاسما مورد بررسی قرار گرفته بودند. در بررسی میکروسکوپی در مواردی که در تمام میدان های میکروسکوپی هیچ تاکی زوئیتی مشاهده نشد، نتیجه منفی و در صورت مشاهده ۱۰-۱ انگل در ۱۰ میدان مختلف، نتیجه ۱+ و ۱۰۰- ۱۰ انگل عدد ۲+ و مشاهده بیشتر از ۱۰۰ انگل، عدد ۳+ گزارش گردیده شد.

نتایج

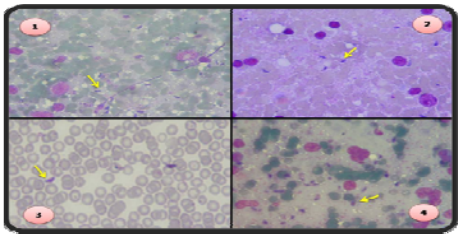
در این مطالعه، سیر تکاملی و میزان بار انگلی توکسوپلاسما گوندیی در بافتهای خون، کبد، طحال، کلیه، مغز و قلب گروه مورد (متعاقب مواجهه با آنتی ژنهای دفعی ترشحی همراه با ادجوانت کامل فروند) و گروه شاهد، پس از تزریق داخل صفاقی تاکی زوئیت های توکسوپلاسما، از نظر وجود یا عدم وجود انگل و میزان بار انگلی (پس از تهیه گسترش و رنگ آمیزی با رنگ گیمسا) مورد مقایسه قرار گرفته شد و نتایج بدست آمده نشان داده بودند که توکسوپلاسما در همان روزهای نخست عفونت، در هر دو گروه مورد و شاهد توانسته به بافت های مختلف سیر نماید (شکل ۱).

در گروه مورد حضور انگل در بافتهای مختلف دیرتر و بار انگلی کمتری نسبت به گروه شاهد دیده شد ولی چنانچه در جدول نتایج شماره ۱ نیز مشاهده می شود استفاده از آنتی ژنهای دفعی ترشحی در گروه مورد نتوانسته بود به طور کامل از بروز و گسترش عفونت جلوگیری نماید. به عنوان مثال در ارگانهایی مانند کلیه، چشم، مغز و قلب حضور انگل نسبت به گروه شاهد با تاخیر اتفاق افتاده بود و در بافتهایی نظیر طحال، کبد و قلب باعث کاهش بار انگلی نیز شده است که بر خلاف آن در گروه شاهد حتی تا زمان مرگ موش، دارای تکثیر بالایی از انگل بوده است.

جدول شماره ۱: سیر حرکت و بار انگلی توکسوپلاسما در بافتهای مختلف موش در دو گروه مورد (ایمن شده توسط (ESA) و گروه شاهد

[منفی= عدم حضور انگل/ ۱+ = وجود ۱-۱۰انگل/ ۲+ = وجود ۱۰-۱۰۰ انگل/ ۳+ = وجود بیش از ۱۰۰ انگل در بررسی ۱۰ میدان میکروسکوپی]

زمان / بافت	گروه شاهد				گروه مورد			
	روز اول	روز دوم	روز سوم	روزآخر (قبل ازمرگ)	روز اول	روز دوم	روز سوم	روزآخر (قبل ازمرگ)
طحال	۱+	۱+	۳+	۳+	۱+	۱+	۲+	۳+
کبد	۱+	۱+	۲+	۳+	۱+	۱+	۲+	۱+
کلیه	-	۱+	۲+	۱+	۱+	۱+	۱+	۱+
عضله	-	-	-	۱+	-	-	-	۱+
چشم	-	۱+	۱+	۱+	-	-	۱+	۱+
مغز	-	۱+	۱+	۱+	-	-	۱+	۱+
خون	-	-	۱+	۱+	-	۱+	۱+	۱+
قلب	-	-	۱+	۲+	-	-	-	۱+



تصویر شماره ۱: تاکی زوئیت های توکسوپلاسما در بافتهای کبد (۱)، مغز(۲)، خون (۳) و کلیه (۴) که با نشانگر زرد نشان داده شده است.

بحث

عفونت توکسوپلاسموز دارای انتشار جهانی بوده و با گسترش بیماریهای نقص سیستم ایمنی نظیر HIV و همچنین بیماران مصرف کننده داروهای سرکوبگر سیستم ایمنی از قبیل بیماران پیوندی و سرطانی به دلیل ایجاد عوارض شدید و مرگبار آن اهمیت فوق العاده ای پیدا کرده است. لذا با توجه به گستردگی میزبانان این میکرارگانیسم، مشکلات عدیده ناشی از آن و همچنین اثرات سمی داروهای مورد استفاده جهت درمان عفونت توکسوپلاسموز، بررسی های فراوانی جهت بدست آوردن واکسن مناسب برای مقابله با آن انجام شده و پیشرفت چشمگیری در زمینه شناسایی کاندیداهای واکسن که می توانند پاسخ ایمنی محافظتی القا کنند، صورت گرفته است(۲ و ۶).

آنتی ژن های سطحی تاکی زوئیت و آنتی ژنهای دفعی- ترشحی از مهمترین آنتی ژنهای توکسوپلاسما گوندیی می باشند. با توجه به این که آنتی ژنهای دفعی- ترشحی سبب تحریک و تکثیر هر چه بیشتر لنفوسیت های T می‌شوند و در پاتوژنز و فرار انگل از سیستم ایمنی نقش دارند، لذا آنها را به عنوان کاندید مناسب برای بررسی های ایمونیزاسیون پیشنهاد می کنند(۲).

در مطالعه ای که دریانی و همکاران بر روی دو فراکشن ESA-F1 و ESA-F2 آنتی ژن‌های دفعی- ترشحی انجام دادند، ESA-F2 بعد از تزریق باعث ایمنی بیشتری در برابر توکسوپلاسما شد(۷). همچنین در مطالعه دیگری نشان دادند که آنتی ژن‌های دفعی- ترشحی دارای یک باند پروتیئنی ۶۵ کیلو دالتونی بودند که سبب تحریک پاسخ ایمنی هومورال می شود(۸). همچنین Costa-Silva و همکارانش در سال ۲۰۰۸ استفاده از آنتی ژنهای دفعی ترشحی را جهت ایمنی زایی موشها ارزیابی نمودند که نتایج بررسی حاکی از افزایش سطح آنتی بادی ها پس از هر بار ایمونیزاسیون است(۹).

علاوه بر موارد مذکور، مطالعات متعدد دیگری نیز در زمینه ایمنی زایی آنتی ژنهای دفعی- ترشحی توکسوپلاسما انجام شده بود ولی موارد نادری از این مطالعات جنبه تروپیسم انگل به بافتها را مورد توجه قرار داده بود. با توجه به سیر حرکت انگل در بدن میزبان که باعث بروز عوارضی مانند آنسفالیت، کوریورتینیت و ... می شود و از آنجایی که این بافت ها (به‌ویژه چشم و مغز) ارگانهای حساس و آسیب پذیر هستند، از یک سو سیستم ایمنی به آنجا دسترسی نداشته و از سوی دیگر این بافت ها فاقد قدرت ترمیم پذیری هستند، لذا ضایعات ایجاد شده مشهودتر است(۲ و۳). چنین بنظر می رسد که علاوه بر بررسی ایمنی زایی واکسن‌های مطرح شده، چگونگی سیر حرکتی انگل در بافتها و میزان بار انگلی در آنها نیز ضروری می باشد. همچنین تعداد معدودی از مطالعات ارتباط تکثیر و بار انگلی موجود در بافتهای مختلف را با سویه انگل و نیز بیماری‌زایی آن بیان کرده بودند. بطوریکه در مطالعه Rachel و Chunlei بررسی بار انگلی موجود در طحال را روش جایگزین برای تشخیص سویه های بیماریزا از غیر بیماریزای توکسوپلاسما عنوان کرده بود (۱۰). برای مطالعه حضور انگل در بافتهای مختلف از روشهای گوناگونی مانند تلقیح بافت آلوده به موش سوری، روشهای کشت سلولی، هیستوپاتولوژی، سرولوژی و PCR استفاده شده بود(۱۱).

در مطالعه زارع و همکاران ۲۰۰۶ بر روی رات در

طی شصت روز پس از عفونت تجربی، بافت های مختلف جدا شده و پس از له کردن همراه با سرم فیزیولوژی حاوی آنتی بیوتیک های پنی سیلین و استرپتومایسن جهت بررسی میزان عفونت زایی به موش های سوری به صورت داخل صفاقی تزریق شده بودند. نتایج بدست آمده نشان داده بود که مدت زمان حضور توکسوپلاسما در طحال و کبد برای مدت کوتاهی بوده در حالیکه در مغز و عضله مدت طولانی تری باقی مانده بودند(۴).

در مطالعه ای که توسط خوش زبان و همکاران در سال ۱۳۸۶ صورت گرفت، بعد از تزریق انگل توکسوپلاسما به موش های Balb/c که به آنها عصاره سیر داده شده بود ، نتایج مطالعه نشان داد که تعداد تاکی زوئیت ها در کبد و طحال موش ها کاهش شدیدی پیدا کرد و مدت زنده ماندن آنها نیز افزایش یافت که همسو با مطالعه حاضر می باشد. بطوریکه در این مطالعه نیز در گروه مورد آنتی ژنهای دفعی- ترشحی (ESA) در بافت های طحال، کبد و قلب باعث کاهش بار انگلی گردید(۵).

در سالهای اخیر مطالعات گوناگونی نیز با روشهای ملکولی برای تشخیص و تعیین بار انگلی در اندامهای مختلف انجام شده است. به عنوان مثال در مطالعه Cleiton و همکاران در سال ۲۰۱۰ که بر روی جوجه های سرم مثبت از نظر توکسوپلاسما انجام شد. در ۲۸ جوجه سرم مثبت، اندام های قلب و مغز آنها جدا شده و با استفاده از روش Real time Q PCR مورد بررسی قرار گرفت که DNA توکسوپلاسما در ۲۴ نمونه (۹۳ درصد) تکثیر یافت و در نمونه های مغز و قلب به ترتیب ۷۴۲ و ۹۸۲ انگل در هر گرم بافت شناسایی شد(۱۲). در ایران نیز نوروزی و همکاران با استفاده از روش Realtime QPCR و پروب Molecular beacom انگل توکسوپلاسما را در بافت های مختلف موش صحرایی ردیابی کردند و نشان دادند که این روش برای ارزیابی کمی توکسوپلاسما، حساس و دقیق می باشد(۱۳).

با توجه به نتایج بدست آمده از مطالعه حاضر، در بافت های کبد و طحال گروه شاهد بیشترین حضور انگل مشاهده گردید که علت آن را می توان اولا مرتبط با گرایش طبیعی انگل به حضور و تکثیر در این بافت ها و ثانیاً نوع تزریق انگل به موش که از طریق داخل صفاقی بوده و قاعدتاً ابتدا اندام های همجوار مانند کبد و طحال را آلوده می نماید، دانست. علاوه بر این در طحال، به علت فیلتراسیون سلولها، تعداد زیادی از انگل های جریان خون در این عضو به دام می افتند لذا در مقایسه با دیگر بافت ها، بار انگلی بیشتری مشاهده شده بود. ولی احتمالا با فعال شدن سیستم ایمنی میزبان، انگل از طحال مهاجرت نموده و یا از بین خواهد رفت. در مطالعه SHEN و همکاران که در سال ۲۰۰۸ بر روی بافتهای موش پس از عفونت تجربی با خوراندن اووسیست ها انجام دادند نتایجی مشابه نتایج مطالعه حاضر بدست آوردند و میزان بار انگلی را در بافت طحال بیشتر از سایر ارگانها گزارش نمودند(۱۴). ولی در مطالعه Esteban - Redondo و Innes در سال ۱۹۹۸ که بر روی گوسفندان آلوده شده بصورت تجربی با خوراندن اووسیست های توکسوپلاسما انجام شده بود، بیشترین بار انگلی در دو بافت مغز و قلب مشاهده گردید(۱۵).

آنتی ژنهای دفعی- ترشحی در بافت های مختلف دارای اثرات مختلفی می باشد و این اثرات به علت ماهیت بافت ها بوده و به طورکلی باعث کاهش تکثیر انگلی شده ولی به طور کامل مانع از حضور و گسترش انگل نمی شود. با توجه به نتایج بدست آمده، بررسی‌های بیشتری با روشهای حساس دیگری نظیر روشهای ملکولی نیاز است که حتی بتواند میزان تزاید و زنده بودن انگل را در هر کدام از بافت ها علاوه بر بار انگلی نشان دهد که از محدودیتهای بررسی سیر انگلی توکسوپلاسما با روش رنگ آمیزی با گیمسا می باشد، که توسط مولفین در حال انجام می باشد.

References

1. Ghorbani M, Edrissian GH, Assad N. Serological survey of toxoplasmosis in the northern part of Iran using indirect fluorescent antibody technique. Trans R Soc Trop Med Hyg 1978;72(4): 369-371. (Parsian).
2. Daryani A. TOXOPLASMA GONDII. 1st ed. Ardabil: Yavarian; 2004. (Parsian)
3. Dubey JP. Toxoplasmosis of Animals and Humans. 2nd. CRC Press INC; 2009. (Parsian).
4 .Zare F, Dalimi A, GHafarifar F. Detection of active Toxoplasma gondii (RH strain) in the different body tissues of experimentally infected rats . MODARES J MED Scie 2006; 9(1):19-23. (Parsian).
5. Khoshzaban F, Ghazanfari T, Ghaffari Far F,Sharafi M, Ghasemi Nikoo S. The effect of garlic extract on acute toxoplasmosis in mice. Iranian J Med Arom Plan. 2007; 3: 295-306. (Persian).
6. Hill D, Dubey JP.. Toxoplasma gondii: Transmission and prevention. Clin Microbiol Infect 2002 ;8(10):634-640. (Parsian).
7. Daryani A, Hosseini A Z, Sharif M, Dalimi A, Dehghan M H, Ziaei H. Protective Role of Antigens from Peritoneal Exudates of Infected Mice against Toxoplasmosis. Iran J Immunol 2006; 3(2): 78-85. (persian).
8. Daryani A, Hosseini AZ, Dalimi A. Immune responses against excreted/secreted antigens of Toxoplasma gondii tachyzoites in the murine model. Vet Parasitol 2003 18;113(2):123-134. (Parsian).
9. Costa-Silva TA, Meira CS, Ferreira IM, Hiramoto RM, Pereira-Chioccola VL. Evaluation of immunization with tachyzoite excreted-secreted proteins in a novel susceptible mouse model (A/Sn) for Toxoplasma gondii. Exp Parasitol 2008 ;120(3):227-234. (Parsian).
10. Hill RD, Su C. High tissue burden of Toxoplasma gondii is the hallmark of acute virulence in mice. Vet Parasitol 2012 Jun 8;187(1-2):36-43. (Parsian).
11. Garcia JL, Gennari SM, Machado RZ, Navarro IT. Toxoplasma gondii: detection by mouse bioassay, histopathology, and polymerase chain reaction in tissues from experimentally infected pigs. Exp Parasitol 2006 ;113(4):267-271. (Parsian).
12.Aigner CP, Silva AV, Sandrini F, Osorio Pde S, Poiares L, Largura A. Real-time PCR-based quantification of Toxoplasma gondii in tissue samples of serologically positive outdoor chickens.Mem Inst Oswaldo Cruz 2010 ;105(7):935-937. (Parsian).
13. Norozi R, Dalimi-Asl A, Forozandeh-Moghadam M, Ghaffarifar F. A molecular beacon-based real time PCR assay for quantitative detection of Toxoplasma gondii in rat. Feyz 2012; 16(4): 311-316. (Persian).
14. Shen J. Distribution of Toxoplasma gondii in Tissues of Mice Following Oral Infection. J Trop Med 2008; 6: 005. (Parsian).
15. Esteban-Redondo I, Innes EA. Detection of Toxoplasma gondii in tissues of sheep orally challenged with different doses of oocysts. Int J Parasitol 1998 ;28(9): 1459-1466.(Persian).