Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۸۰-۷۵

بررسی شیوع سرمی IgG علیه *توکسوپلاسما گوندی* در طیور شهرستان سمنان، ایران

صادق حسینی[۱]، مریم رسولی [۲،۳]*، حمید استاجی [۲]

۱- دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۲- استادیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

۳- استادیار گروه پاتوبیولوژی آموزشکده دامپزشکی شهمیرزاد، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۵/۷ تاریخ پذیرش:۱۳۹۷/۱۰/۲

چکیده

توکسوپلاسما گوندی تک یاخته ای اجباری داخل سلولی است که می‌تواند طیف وسیعی از حیوانات خونگرم را به عنوان میزبان‌های واسط آلوده کند. گربه‌ها میزبان نهایی هستند. شیوع سرمی آنتی بادی این انگل در پرندگان می‌تواند معیاری مناسب برای آلودگی محیط باشد. در این مطالعه تیتر سرمی ایمونوگلوبولین G (IgG) به روش الایزا در ۱۶۸ نمونه سرم جوجه‌های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه صنعتی طیور سمنان و ۳۰ نمونه سرم مرغ‌های با پرورش آزاد که از محل‌های نگهداری مختلف در سمنان جمع‌آوری شده بودند، سنجیده شد. ٪۳۹/۹ جوجه‌های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه سمنان و ٪۹۶/۷ مرغ‌های با پرورش آزاد دارای تیتر سرمی IgG *توکسوپلاسما* بودند. در مقایسه دو گروه مورد مطالعه در مربع کای، اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده گردید ($P<0.0001$). نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که شیوع سرمی آنتی بادی *توکسوپلاسما* در مرغ‌های سمنان نسبتا بالا می‌باشد که در مرغ‌های با پرورش آزاد به آلودگی خاک به اووسیست انگل و در جوجه‌های گوشتی به مشکلات مدیریتی در مرغداری‌ها و دسترسی گربه به عنوان میزبان نهایی به منابع آب و غذای پرندگان پرورشی مربوط می‌شود.

کلمات کلیدی: *توکسوپلاسما گوندی*، *Toxoplasma gondii*، طیور، الایزا، ایران

* نویسنده مسئول: مریم رسولی

آدرس: گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. تلفن: ۰۲۳۳۱۵۳۳۶۳۶

پست الکترونیک: Mrvpar@semnan.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی (*Toxoplasma gondii*) تک یاخته‌ای در شاخه اپی کمپلکسا و در دسته کوکسیدیاهای تشکیل دهنده کیست می‌باشد. سه مرحله عفونی در توکسوپلاسما گوندی وجود دارد که شامل تکی زوآیت، برادی زوآیت و اووسیست می‌باشد. تمامی حیوانات خونگرم می‌توانند میزبان واسط بوده و مراحل تکی زوایت و کیست حاوی برادی زوآیت در بدن آنها طی شود ولی گربه سانان میزبان نهایی این انگل می‌باشند و هرسه مرحله تکی زوآیت، برادی زوآیت و اووسیست می‌تواند در آنها دیده شود (۱۳).

در روده گربه‌ها سیر تکاملی جنسی طی شده و سلول تخم یا اووسیست تشکیل می‌شود (۱۱). پس از خروج اووسیست غیر اسپوروله از مدفوع، در محیط اووسیست اسپوروله حاوی ۲ اسپوروسیست که هرکدام دارای ۴ اسپوروزوآیت هستند تشکیل می‌شود (۱۰). در پرندگان آلودگی به *توکسوپلاسما* عمدتا پس از بلع اووسیست‌های اسپوروله دفع شده از گربه آلوده اتفاق می‌افتد، سپس اسپوروزوآیت‌ها آزاد شده و وارد سلول‌های روده می‌شوند و به تکی زوآیت تقسیم می‌گردند. پس از گسترش ایمنی میزبان، در بافت‌های مختلف مانند مغز، نخاع، چشم، ریه، کبد، کلیه، عضلات اسکلتی و قلب کیست‌های حاوی برادی زوآیت به وجود می‌آیند (۲۱). مرغ‌ها و خروس‌ها (*Gallus domesticus*) به ندرت توکسوپلاسموز بالینی را نشان می‌دهند (۵) ولی شیوع سرمی*توکسوپلاسما* در آنها اهمیت اپیدمیولوژیک دارد و تقریبا به روش‌های مختلف در مرغ‌های سراسر جهان مورد سنجش قرار گرفته است که درمحدوده وسیعی (٪۱۰۰-۲) گزارش شده است (۵).

به طور کلی آلودگی توکسوپلاسما در طیور از چند جنبه حائز اهمیت است: این آلودگی می‌تواند بهترین معیار برای آلودگی خاک به اووسیست‌های توکسوپلاسما گوندی باشد زیرا اندازه گیری مستقیم آلودگی خاک به توکسوپلاسما بسیار مشکل است. علاوه بر این بافت‌های این پرندگان منبع خوبی برای آلودگی گربه‌ها به توکسوپلاسموز و تکمیل سیر تکاملی انگل در طبیعت می‌باشند و همچنین گوشت آنها می‌تواند منبع آلودگی به توکسوپلاسما برای انسان یا سایر حیوانات محسوب شود. انسان علاوه بر گوشت از تخم مرغ نیز به عنوان منبع تامین پروتئین خود استفاده می‌کند که در صورت آلوده بودن به توکسوپلاسما می‌تواند باعث آلودگی انسان شود (۴). روش‌های مختلف سرولوژی برای تعیین تیتر آنتی بادی توکسوپلاسما گوندی در سرم طیورکاربرددارد‌که می‌توان به هماگلوتیناسیون غیر مستقیم، فلورسنت غیر مستقیم آنتی بادی، آگلوتیناسیون لاتکس و الایزا اشاره کرد (۴).

هدف از این مطالعه بررسی شیوع سرمی ایمونوگلوبولین G (IgG) در مرغ‌های با پرورش آزاد و جوجه‌های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه سمنان و مقایسه این شیوع در بین این دو جمعیت که به ترتیب به دو صورت آزاد و غیر آزاد نگهداری می‌شوند می‌باشد.

مواد و روش کار:

۱۶۸ نمونه خون جوجه گوشتی در ۵ مراجعه به کشتارگاه صنعتی طیور سمنان و ۳۰ نمونه خون مرغ بومی از حیوان زنده از محل‌های مختلف نگهداری آنها در سمنان جمع‌آوری گردید. حجم نمونه‌ها بر اساس تخمین شیوع از مطالعات مختلف و با فاصله اطمینان ٪۹۵ از جداول مربوطه تعیین گردید. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شده و سرم آنها جدا گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

نمونه‌های سرم در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انجام آزمایش قرار داده شدند. برای آزمایش الایزا از کیت Anti-Tox IgG (MyBioSource, USA)، استفاده گردید و مراحل آزمایش مطابق دستورالعمل کیت انجام شد. نتایج در طول موج ۴۹۰ نانومتر قرائت شد و مورد تجزیه و تحلیل آماری به روش مربع کای، نرم افزار SPSS قرار گرفت.

نتایج

۶۷ نمونه از نمونه از ۱۶۸ نمونه (٪۳۹/۹) جوجه‌های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه سمنان و ۲۹ نمونه از ۳۰ نمونه (٪۹۶/۷) مرغ‌های با پرورش آزاد دارای تیتر سرمی IgG *توکسوپلاسما* بودند بنابراین شیوع سرمی آنتی بادی IgG با فاصله اطمینان ٪۹۵ در جوجه‌های گوشتی (٪۴۷/۳-۳۲/۵) و در مرغ‌های با پرورش آزاد (٪۱۰۰-۹۰/۲) تخمین زده می‌شود. در مقایسه دو گروه مورد مطالعه در مربع کای، عدد مربع کای ۳۲/۸۶۳ بود و اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده گردید (P<0.0001). کمترین تیتر آنتی بادی در جوجه‌های گوشتی ۳۵/۷۵ng/ml و بیشترین آن ۷۳/۵۴ ng/ml بود. کمترین تیتر آنتی بادی در مرغ‌های با پرورش آزاد ۳۵/۲ ng/ml و بیشترین آن ۶۹/۰۵ ng/ml بود.

بحث

توکسوپلاسما تقریبا از بافت‌های مرغ‌های سراسر جهان جدا شده است و طیوری که به صورت آزاد پرورش داده می‌شدند نسبت به طیور صنعتی آلودگی بیشتری داشتند (۴) . علاوه بر این شیوع *توکسوپلاسما* در مرغ‌های با با پرورش آزاد می‌تواند شاخص مناسبی برای شیوع اووسیست‌های انگل در خاک باشد (۹). در مطالعات مختلف Dubey و همکاران در مرغ‌های با پرورش آزاد کشورهای مختلف بر روی تیتر آنتی بادی *توکسوپلاسما* به روش آگلوتیناسیون تغییر یافته کمترین شیوع سرمی مربوط به مکزیک (٪۶/۲) و بیشترین مربوط به ایلینویز آمریکا (٪۱۰۰) بوده است (۵، ۸). در مرغ‌های کشتارگاهی چین تیتر آنتی بادی به روش آگلوتیناسیون تغییر یافته در مرغ‌هایی که در بستر پرورش داده شده بودند ٪۱۱/۲ و در سیستم قفس ٪۴/۷ بود که اختلاف معنی داری مشاهده گردیده بود (۲۲) . در بررسی شیوع سرمی *توکسوپلاسما* به روش الایزا در چین تیتر سرمی ٪۱۷/۶ (٪۱۹/۴-۱۵/۴ با فاصله اطمینان ٪۹۵) بوده است (۱۷) . در آگلوتیناسیون لاتکس در ژاپن هیچ مورد مثبتی در طیور صنعتی و آزاد گزارش نگردید (۱۸) . در سودان ٪۱۰۰ موارد آزمایش شده مرغ بومی در آزمایش آگلوتیناسیون لاتکس دارای آنتی بادی *توکسوپلاسما* بودند (۱۴).

در ایران ۱۶۲ نمونه سرم پرنده مختلف اهلی از نواحی مختلف به روش فلورسانت غیرمستقیم آنتی بادی آزمایش شدند و ٪۲۷ مرغ‌ها، ٪۳۷/۱ از خروس‌ها دارای تیتر سرمی آنتی بادی *توکسوپلاسما* بوده و سویه *توکسوپلاسما* از ۵ مرغ و ۱ خروس دارای تیتر جدا گردید (۱۵). شیوع سرمی در جوجه‌های بومی شیراز به روش ایمونوفلورسانت غیرمستقیم ٪۳۶/۱ گزارش شد (۱). در مطالعه ای دیگر درشیراز ٪۲۴/۵ مرغ‌های با پرورش آزاد به روش فلورسانت غیر مستقیم آنتی بادی دارای تیتر توکسوپلاسما بوده که DNA انگل در بافت نیز ردیابی گردیده است (۲). نتایج مربوط به مرغ‌های با پرورش آزاد در این مطالعه (٪۹۶/۷) مشابه سودان (۱۴) و ایلینویز امریکا (۸) می‌باشد ولی با مقایسه تیتر طیور کشتارگاهی در چین (٪۱۱/۲) و ژاپن (٪۰) (۱۸، ۲۲) این مقدار بسیار بیشتر می‌باشد (٪۳۹/۹) که می‌تواند به دلیل مدیریت ضعیف مرغ داری‌ها و دسترسی گربه‌ها به منابع آب و غذای طیور صنعتی باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

روش الایزا روشی مناسب برای سنجش تیتر سرمی توکسوپلاسما در تعداد بالای نمونه است. در یک مطالعه تجربی ۱۲ روز پس از عفونت IgG توکسوپلاسما به این روش قابل ردیابی بوده است و در روز ۴۱ پس از عفونت به حداکثر خود رسیده بود (۳). در مطالعه تجربی دیگری پس از آلودگی ۱۰ مرغ با سویه Me-۴۹ توکسوپلاسما گوندی تیتر آنتی بادی IgG ۱۴ روز پس از عفونت قابل ردیابی بود (۶). با بررسی مطالعات فوق مشخص است که می‌توان تا حدودی با بررسی سرولوژی مرغ‌ها به آلودگی آنها پی برد ولی به دلیل اینکه توکسوپلاسما یک انگل اجباری داخل سلولی است، تشخیص قطعی بر مبنای ردیابی انگل در بافت می‌باشد.

در مطالعات مختلف توکسوپلاسما گوندی از بافت‌های مرغ‌های دارای پرورش آزاد جدا شده است (۴، ۷). متاسفانه در بسیاری از کشورهای در حال توسعه مرغ‌های با پرورش آزاد در خانه کشتار می‌شوند و امعاء و احشاء آنها معمولا رها شده و در اختیار گوشتخواران و سایر حیوانات قرار می‌گیرند. علاوه بر این انگل می‌تواند در حین بریدن گوشت و طبخ آن نیز به فرد منتقل شود ولی میزان خطر آن سنجیده نشده است (۴). مرغ‌های گوشتی صنعتی یکی از منابع عمده تامین پروتئین انسانی می‌باشند ولی ردیابی توکسوپلاسما زنده در آنها اندک بوده است. در گزارش‌های مختلف سراسر جهان از ۸۲۰۷ قطعه مرغ کشتار شده مورد بررسی انگل تنها از ۳۱ مورد (۰/۳۸٪) از مغز، قلب، عضله ران و تخمدان جداسازی گردیده است (۴). تولید تخم مرغ ممکن است به دلیل آلودگی به *توکسوپلاسما* تحت تاثیر قرار بگیرد (۳). اگرچه توکسوپلاسما از تخمدان‌ها و اویداکت مرغ‌هایی که به صورت طبیعی آلوده شده بودند جدا شده است (۱۲، ۱۶، ۱۹) ولی آلودگی در تخم مرغ ردیابی نشده است (۳، ۱۶، ۲۰). بقاء توکسوپلاسما گوندی در تخم مرغی که به صورت تجربی به انگل آلوده شده بود ۳ دقیقه پس از جوشیدن و فریز کردن بود (۴). با مشاهده نتایج مطالعات مختلف می‌توان نتیجه گیری کرد که تخم مرغ خام اهمیت بسیار کمی در انتقال توکسوپلاسموز دارد.

منابع

1. Asgari, Q., Farzaneh, A., Kalantari, M., Akrami Mohajeri, F., Moazeni, M., Zarifi, M., Esmaeilzadeh, B., Motazedian, M.H. (2006). Seroprevalence of Free-Ranging Chicken (*Gallus gallus domesticus*) Toxoplasmosis in Sub-Urban Regions of Shiraz, Iran. *International Journal of Poultry Science*, **5**: 262-4.
2. Asgari, Q., Motazedian, M.H., Esmaeelzadeh, B., Kalantari, M., HatamIranian, Gh.R. (2009). The Prevalence of *Toxoplasma* Infection among Free-Ranging Chickens in Southern Iran Using IFA and Nested-PCR. *Iranian Journal of Parasitology*, **4**: 29-36
3. Biancifiori, F., Rondini, C., Grelloni, V., Frescura, T. (1986). Avian toxoplasmosis: experimental infection of chicken and pigeon. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Disease*, **9**: 337-46.
4. Dubey, J.P. (2010a). *Toxoplasma gondii* infections in chickens (*Gallus domesticus*): Prevalence, clinical disease, diagnosis, and public health significance. *Zoonoses and Public Health*, **57**: 60-73. doi: 10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x.
5. Dubey, J.P. (2010b). Toxoplasmosis of animals and humans. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton, FL.
6. Dubey, J.P., Ruff, M.D., Camargo, M.E., Shen, S.K., Wilkins, G.L., Kwok, O.C., Thulliez, P. (1993). Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *American Journal of Veterinary Research*, **54**: 1668-72.
7. Dubey, J. P., Edelhofer, R., Marcet, P., Vianna, M.C.B., Kwok, O.C.H., Lehmann, T., (2005). Genetic and biologic

www.SID.ir

Archive of SID

characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. *Veterinary Parasitology*, **133**: 299–306.

8. Dubey, J.P., Webb, D.M., Sundar, N, Velmurugan, G.V., Bandini, L.A., Kwok O.C.H. and Su, C. (2007). Endemic avian toxoplasmosis on a farm in Illinois: clinical disease, diagnosis, biologic and genetic characteristics of *Toxoplasma gondii* isolates from chickens (*Gallus domesticus*), and a goose (*Anser anser*).*Veterinary Parasitology*, **148**: 207–12. doi:10.1016/j.vetpar.2007.06.033
9. Dubey, J.P., Huong, L.T.T., Lawson, B.W.L., Subekti, D.T., Tassi, P., Cabaj, W., Sundar, N. (2008). Seroprevalence and isolation of *Toxoplasma gondii* from free-range chickens in Ghana, Indonasia, Italy, Poland and Vietnam. *Journal of Parasitology*, **94**: 68–71.
10. Ferguson, D.J.P., Birch-Andersen, A., Siim, J.C., Hutchison, W.M. (1979). Ultrastructural studies on the sporulation of oocysts of *Toxoplasma gondii*. II. Formation of the sporocyst and structure of the sporocyst wall. *Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica*, **87**: 183–90.
11. Ferguson, D.J.P., Dubremetz, J.F. (2007). The ultrastructure of *Toxoplasma gondii*. In *Toxoplasma gondii*. The model apicomplexan: perspectives and methods. ed. L. M. Weiss and K. Kim, 19–48. Academic Press, London.
12. Foster, B. G., Forrest, R.G., Blanco, J.F. (1969). Isolation of *Toxoplasma gondii* from naturally infected chickens. *Texas Journal of Sciences*, **20**: 323–8.
13. Frenkel, J. K., Dubey, J.P., Miller, N.L. (1970). *Toxoplasma gondii* in cats: fecal stages identified as coccidian oocysts. *Science*, **167**: 893–6.
14. Hussien, M.O., Alfaki, S.H., El Hussein, A.R.M. (2017). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Chickens (*Gallus domesticus*) in Sudan. *International Journal of Infection*, **4**: e40312. doi: 10.5812/iji.40312
15. Ghorbani, M., Gharavi, M.J., Kahnamouie, A. (1990). Serological and parasitological investigations on *Toxoplasma* infection of domestic fowls in Iran. *Iranian Journal of Public Health*, **19**: 9-17.
16. Jacobs, L., Melton, M.L. (1966). Toxoplasmosis in chickens. *The Journal of Parasitology*, **52**: 1158–62.
17. Ma, L., Wang, Z.D., Li, J.P., Wei, F., Liu, Q. (2015). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in free-range chickens in Jilin Province, northeastern China. *Tropical Biomedicine*, **32**: 693–8.
18. Matsuo, K., Kamai, R., Uetsu, H., Goto, H., Takashima, Y., Nagamune, K. (2014). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, horses, pigs and chickens in Japan. *Parasitology International*, **63**: 638–9.
19. McCulloch, W. F. (1968). Toxoplasmosis review and assessment. Proceedings, 72nd Annual Meeting of the U.S. Livestock Sanitary Association and the 11th Annual Meeting of the American Association of Veterinary Laboratory Diagnosticians, New Orleans, Louisiana. October 6–11, 503–16.
20. Sokolov, A. N. (1970). Susceptibility of chickens to Toxoplasma gondii. *Veterinariia*, **46**: 79–80.
21. Speer, C.A., Dubey, J.P. (1998). Ultrastructure of early stages of infection in mice fed *Toxoplasma gondii* oocysts. *Parasitology*, **116**: 35–42.
22. Yang, N., Mu, M.Y., Li, H.K., Long, M., He, J.B. (2012) . Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered chickens, ducks, and geese in Shenyang, northeastern China. *Parasites & Vectors*, **5**: 237-41. http://www.parasitesandvectors.com/content/5/1/237

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

Seroprevalence of IgG against *Toxoplasma gondii* among chickens in Semnan, Iran

Hosseini, S. [1], Rassouli, M. [2,3*], Staji, H. [2]

[1] Veterinary Faculty of Semnan, Semnan University, Semnan, Iran
[2] Pathobiology Department, Veterinary Faculty of Semnan, Semnan University, Semnan, Iran
[3] Pathobiology Department, Shahmirzad School of Veterinary Medicine, Semnan University, Iran

Received: 29 July 2018 Accepted: 23 December 2018

Abstract

Toxoplasma gondii is an obligatory intracellular protozoan which can infect broad spectrum of warm blooded animals as intermediate hosts. Cats are definitive hosts. Seroprevalence of this parasite among birds is an effective criterion for environmental contamination to Toxoplasma oocysts. In this research, T. gondii Immunoglobulin G (IgG) were detected by ELISA in 168 broilers sera which were referred to Semnan industrial abattoir and 30 free-range chicken sera which were collected from different places in Semnan. 39.9% of broilers and 96.7% of free-range chickens were positive in Toxoplasma IgG antibody. There was significant difference between two different groups in Chi-square test (P<0.0001). According to the results, seroprevalence of Toxoplasma is relatively high among chickens in Semnan. In free-range chickens, soil contamination to the parasite oocysts and in broilers some management problems and cat access as a definitive host to the water and food supply of chickens can effective on high prevalence of the infection.

Keywords: Toxoplasma gondii, chickens, ELISA, Iran

Corresponding author: Rasouli, M.
Address: Department, Veterinary Faculty of Semnan, University, Semnan, Iran
Phone and fax: 02331533636
Email: Mrvpar@semnan.ac.ir

www.SID.ir