

# بررسی شیوع سرمی عفونت ناشی از نتوسپورا کینوم و توکسوپلازما گوندئی در سگ‌ها در شهرستان اهواز

• مرتضی حسینی نژاد (نویسنده مسئول)

دانشگاه شهرکرد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، شهرکرد، ایران.

• فرزانه حسینی

دانشگاه شهرکرد، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، شهرکرد، ایران.

• سید سروش ایوبی

دامپزشک بخش خصوصی، کلینیک پرشین اهواز، اهواز، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷-۰۳-۱۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷-۰۶-۲۰

Email: hosseininejad@gmail.com



### چکیده

توکسوپلازما گوندئی و نتوسپورا کینوم، دو تک‌یاخته دارای شباهت‌های زیاد هستند که طیف وسیعی از حیوانات خونگرم از جمله سگ‌ها را آلوده می‌کنند. هدف از مطالعه اخیر، تعیین شیوع عفونت ناشی از تک‌یاخته‌های نتوسپورا کینوم و توکسوپلازما گوندئی در سگ‌های ارجاعی به تعدادی از کلینیک‌های دامپزشکی شهرستان اهواز بود. جهت این بررسی، اقدام به نمونه‌گیری تصادفی از یکصد قلاده سگ ارجاع شده سالم گردید. نمونه‌های سرمی اخذ شده، جهت بررسی وجود پادتن ایمنوگلوبولین G ضد تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی، با استفاده از تست پادتن درخشان غیر مستقیم، مورد ارزیابی قرار گرفتند. از تعداد ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، ۲۸ مورد، دارای تیتراژ آنتی‌بادی ضد توکسوپلازما گوندئی بودند. بررسی میزان عفونت ناشی از تک‌یاخته نتوسپورا کینوم با استفاده از تست الایزا انجام گرفت. نتایج بررسی با این تست، نشان‌دهنده وجود عفونت در ۱۸ درصد از موارد بررسی بود. اختلاف معنی‌داری بین میزان عفونت در حیوانات نر و ماده وجود نداشت در حالی‌که شیوع عفونت در سگ‌های نگهبان و در سگ‌های با سن بالاتر از دو سال بیشتر بود. نتایج این مطالعه اهمیت سگ‌های نگهبان یا کنترل نشده را در شیوع این بیماری‌های تک‌یاخته‌ای مشخص می‌کند.

کلمات کلیدی: توکسوپلازما گوندئی، نتوسپورا کینوم، سگ، اهواز

- Veterinary Researches & Biological Products No 122 pp: 97-100

### Seroprevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in dogs in Ahwaz, Iran

By: Hosseininejad, M., (Corresponding Author) Shahrekord University, Departement of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord, Iran. Hosseini, F., Shahrekord University, Departement of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord, Iran. and Ayoobi, S., Persian Veterinary Clinic, Ahwaz, Iran.

Received: 2018-06-05

Accepted: 2018-09-11

Email: hosseininejad@gmail.com

*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* are two closely related protozoan parasites infecting a wide range of warm blooded animals including dogs. This study was aimed to determine the seroprevalence of anti *Neospora caninum* and anti *Toxoplasma gondii* antibodies, in healthy dogs in Ahwaz, Iran. For this, 100 serum samples were taken from healthy dogs referred to some veterinary clinic in Ahwaz. Serodiagnosis of *Neospora caninum* was carried out using an indirect Elisa test and detecting anti *Toxoplasma gondii* antibodies (IGG Immunoglobulins) was carried out using an indirect fluorescent antibody test (IFAT). From the total of 100 dogs, 18 had detectable antibodies for *Neospora caninum* and 28 for *Toxoplasma gondii*. No sex predisposition was detected in examined animals but age and living places were of high importance both for *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections. This study emphasizes the importance of guard dogs in prevalence of these protozoan diseases.

**Keyword:** *Neospora caninum*; *Toxoplasma gondii*; Dogs; Ahwaz

یاخته‌ها است که عمدتاً در میزبان‌های واسط مطرح است. سقط جنین ناشی از تک‌یاخته *نئوسپورا کینوم*، در گاوها دارای اهمیت فراوانی است. توکسوپلازما گوندئی نیز از عوامل ایجاد سقط جنین در انسان و نشخوارکنندگان به شمار می‌رود (۱، ۴).

فرم بالینی عفونت ناشی از این دو تک‌یاخته در سگ‌ها عموماً علایم مشابهی دارد که غالباً شامل اختلال در سیستم عصبی عضلانی می‌شود. این علایم در مورد بیماری *نئوسپوروز*، غالب‌تر هستند. شباهت این دو بیماری، این فرضیه را ایجاد می‌کند که احتمالاً، تا سال ۱۹۸۸، سگ‌هایی که مبتلا به بیماری توکسوپلاسموز تشخیص داده می‌شده‌اند، در واقع، مبتلا به *نئوسپوروز* بوده‌اند (۶). هدف از مطالعه اخیر، بررسی شیوع پادتنی عفونت ناشی از تک‌یاخته‌های مذکور در تعدادی از سگ‌های خانگی و نگهبان در شهرستان اهواز است.

#### مواد و روش کار

جمعیت مورد مطالعه در این بررسی شامل یکصد قلاده سگ ارجاع شده به تعدادی از کلینیک‌های دامپزشکی شهرستان اهواز در طول سال ۱۳۹۶ بود. نمونه‌گیری از جمعیت مورد مطالعه، به صورت اخذ خون از ورید سفالیک یا صافن و جداسازی سرم انجام می‌گرفت. نمونه‌های اخذ شده تا زمان بررسی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شدند. هنگام نمونه‌گیری، مشخصات حیوان از قبیل سن و جنس و نژاد و نحوه نگهداری (تحت عنوان گروه سگ‌های خانگی و نگهبان) ثبت می‌گردید.

#### مقدمه

*نئوسپورا کینوم* (*Neospora caninum*) و توکسوپلازما گوندئی (*Toxoplasma gondii*)، تک‌یاخته‌هایی با مشخصات سلولی و ملکولی و بیماری‌زایی مشابهی هستند. این دو تک‌یاخته، طیف وسیعی از حیوانات را آلوده می‌کنند. سگ‌ها و کویوت‌ها (coyotes) به عنوان میزبان نهایی تک‌یاخته *نئوسپورا کینوم* و طیف وسیعی از حیوانات دیگر از جمله نشخوارکنندگان، به عنوان میزبان واسط این تک‌یاخته مطرح هستند. این تک‌یاخته می‌تواند طیف وسیعی از گونه‌های مختلف حیوانات را آلوده کند. در طبیعت آلودگی در سگ، گاو، گوسفند، بز، اسب و گوزن دیده شده است (۵).

علاوه بر انتقال افقی عفونت از طریق اووسیست‌های دفع شده از میزبان نهایی، انتقال عمودی عفونت نقش مهمی در پایداری آن در گله دارد. این نوع از انتقال، در حیوان آبستن از طریق جفت به جنین صورت می‌گیرد و انتقال بیماری در آبستنی‌های بعدی نیز تکرار می‌شود. جنین‌های آلوده شده در آلودگی با *نئوسپورا کینوم* از طریق مادرزادی ممکن است به صورت زمین‌گیر متولد شوند و یا بعد از تولد فلج شوند و یا ممکن است سالم باشند. سگ‌های بالغ و اسب‌ها در صورت آلودگی، ممکن است فرم بالینی انگل *نئوسپورا کینوم* را نشان دهند. ضایعه مشخص انگل *نئوسپورا کینوم* التهاب مغز و نخاع می‌باشد (۳).

تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی، از گربه‌سانان اهلی و وحشی به عنوان میزبان نهایی و از سایر مهره‌داران خونگرم و انسان به عنوان میزبان واسط، استفاده می‌کند. سقط جنین، از مشخصات بیماری‌زایی این تک‌

کای صورت گرفت و با سطح اطمینان حداقل ۹۵ درصد، بیان گردید.

### نتایج

بررس نتایج تست پادتن درخشان غیر مستقیم نشان داد که از تعداد ۱۰۰ نمونه مورد بررسی، ۲۸ مورد در رقت ۱:۱۶ دارای تیترا آنتی‌بادی ضد توکسوپلازما گوندئی بودند. ۲۳ مورد از این تعداد، در رقت ۱:۳۲ نیز دارای تیترا پادتنی قابل اندازه‌گیری بودند. جزئیات مربوط به شیوع عفونت در گروه‌های مختلف در جدول ۱ آورده شده است. اختلاف معنی‌داری بین میزان عفونت در حیوانات نر و ماده و همچنین بین نژادهای مختلف وجود نداشت در حالی که شیوع عفونت در سگ‌های نگهدارنده، بیشتر از سگ‌های خانگی بود. سگ‌های مسن‌تر از ۲ سال به طور معنی‌داری شیوع بیشتری از عفونت را نشان می‌دادند ( $P = 0/01$ ).

نتایج بررسی عفونت ناشی از نئوسپورا کینیوم نشان‌دهنده وجود سطح پادتنی بالاتر از نقطه برش در ۱۸ مورد از سگ‌ها بود. نتایج مقایسه‌ای بین گروه‌های مختلف نیز نشان‌دهنده وجود نتایج تقریباً مشابهی با نتایج بررسی عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندئی بود به طوری که سگ‌های مسن‌تر از دو سال و سگ‌های نگهدارنده، میزان شیوع بیشتری از عفونت را نشان دادند (جدول ۱).

چهار مورد از نمونه‌های مورد بررسی، دارای عفونت همزمان ناشی از توکسوپلازما گوندئی و نئوسپورا کینیوم بودند. ارتباط آماری معنی‌داری بین شیوع پادتنی این دو تک‌یاخته وجود نداشت.

### بحث

بررسی عفونت ناشی از تک‌یاخته‌های توکسوپلازما گوندئی و نئوسپورا کینیوم، در مناطق مختلف جهان انجام شده است. رقت ۱:۱۶ جهت بررسی وجود تیترا پادتنی توکسوپلازما گوندئی عنوان حداقل تیترا پادتنی بیانگر عفونت ناشی از عفونت در سگ نظر گرفته می‌شود (۱۲). شیوع عفونت ناشی از این تک‌یاخته در سگ‌ها، از ۲۰ تا ۹۱ درصد در کشورهای مختلف گزارش شده است (۱۲، ۱۳). عدم وجود ارتباط بین شیوع پادتنی انگل با جنس و نژاد و بالاتر بودن میزان آن در سگ‌های مسن‌تر، در مطالعات دیگری هم نشان داده شده است (۱۱).

عفونت ناشی از نئوسپورا کینیوم در سگ‌ها، در کشورهای مختلف از

### بررسی سرولوژی

جهت بررسی سرولوژی عفونت ناشی از تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی، اقدام به انجام تست پادتن درخشان غیر مستقیم می‌گردید. به منظور انجام این تست، اقدام به فیکس کردن تاکی زوآیت‌های تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی سویه Rh، بر روی لام‌های ده خانه مخصوص گردید. تاکی زوآیت‌های مورد استفاده، پیشتر در کشت سلول‌های Vero به دست آمده بودند (۸). سپس، نمونه‌های سرمی مورد بررسی در محلول PBS رقیق شده به مدت یک ساعت، با تاکی زوآیت‌های فیکس شده، در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد، در اتاقک مرطوب انکوبه شدند. حداقل رقت مورد استفاده نمونه‌های سرمی ۱:۱۶ بود. سپس اقدام به دو بار شستشو با محلول PBS و انکوباسیون با کونژوگه Anti-dog IgG متصل با ماده فلورسین ایزوتیوسیانات، به مدت سی دقیقه صورت گرفت. مجدداً اقدام به شستشو گردیده و نتایج با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت مورد ارزیابی قرار گرفتند.

### نئوسپورا کینیوم

بررسی سرولوژیک عفونت ناشی از نئوسپورا کینیوم، با روش الیزا انجام گرفت. در این الیزا که پیشتر مورد ارزیابی و تعیین نقطه برش (Cut-Off) قرار گرفته بود، از آنتی ژن P38 استفاده شد (۹). جهت این بررسی، اقدام به رقیق‌سازی نمونه‌های سرمی مورد بررسی با محلول PBS-T حاوی ۲۰ درصد سرم اسب (محلول بلاک‌کننده) با رقت ۱:۵۰ گردید. سپس، سرم‌های رقیق شده، در پلیت‌های الیزایی که حاوی آنتی‌ژن نئوسپورا کینیوم بوده و توسط سرم اسب، بلاک شده بود به مدت یک ساعت انکوبه شدند. در مرحله بعدی، اقدام به شستشو با محلول PBS-T و انکوباسیون با کونژوگه Anti-dog IgG متصل به آنزیم Horseradish Peroxidase گردید. پس از شستشوی مجدد با محلول PBS-T و آب مقطر، محلول سوبسترا و ماده کروموزن (پراکسید هیدروژن و تترامتیل بنزیدین) اضافه گردید و پس از انکوباسیون، واکنش ایجاد شده با اسید سولفوریک ۲ نرمال متوقف گردید. نتایج تست در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شد (۸).

### بررسی آماری

بررسی مقایسه‌ای بین نتایج گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون مربع

جدول ۱- شیوع عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندئی و نئوسپورا کینیوم در سگ‌ها در گروه‌های مختلف مورد بررسی

| نوع نژاد داری | سن             |               | جنس  |    | موارد مثبت | داده                           |
|---------------|----------------|---------------|------|----|------------|--------------------------------|
|               | کمتر از دو سال | بیش از دو سال | ماده | نر |            |                                |
| نگهبان        | ۲۵             | ۷۵            | ۴۳   | ۵۷ | ۲۸         | توکسوپلازما گوندئی مثبت (درصد) |
| خانگی         | ۲۸             | ۷۲            | ۴۴   | ۵۶ | ۱۸         | نئوسپورا کینیوم مثبت (درصد)    |

*parasitology* 12,563-571.

4- Dubey J.P. 2003. Review of *Neospora caninum* and neosporosis in animals. *Korean J Parasitol* 41,1-16.

5- Favero J.F., A.S. Da Silva, G. Campigotto, G. Machado, L. Daniel de Barros, J.L. Garcia, F.F. Vogel, R.E. Mendes and L.M. Stefani. 2017. Risk factors for *Neospora caninum* infection in dairy cattle and their possible cause-effect relation for disease. *Microb Pathog* 110,202-207.

6- Gondim L.F.P., J.R. Mineo and G. Schares. 2017. Importance of serological cross-reactivity among *Toxoplasma gondii*, *Hammondia* spp., *Neospora* spp., *Sarcocystis* spp. and *Besnoitia besnoiti*. *Parasitology* 144,851-868.

7- Haddadzadeh H.R., A. Sadrebazzaz, A. Malmasi, H. Talei Ardakani, P. Khazraii Nia and N. Sadreshirazi. 2007. Seroprevalence of *Neospora caninum* infection in dogs from rural and urban environments in Tehran, Iran. *Parasitol Res* 101,1563-1565.

8- Hosseiniadjad M. 2013. Evaluation of an indirect ELISA using a tachyzoite surface antigen SAG1 for diagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in cats. *Exp Parasitol* 132,556-560.

9- Hosseiniadjad M., F. Hosseini, M. Mosharraf, S. Shahbaz, M. Mahzounieh and G. Schares. 2010. Development of an indirect ELISA test using an affinity purified surface antigen (P38) for sero-diagnosis of canine *Neospora caninum* infection. *Vet Parasitol* 171,337-342.

10- Malmasi A., M. Hosseiniadjad, H. Haddadzadeh, A. Badii and A. Bahonar. 2007. Serologic study of anti-*Neospora caninum* antibodies in household dogs and dogs living in dairy and beef cattle farms in Tehran, Iran. *Parasitol Res* 100,1143-1145.

11- Romanelli P.R., R.L. Freire, O. Vidotto, E.R. Marana, L. Oga-wa, V.S. De Paula, J.L. Garcia and I.T. Navarro. 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* in sheep and dogs from Guarapuava farms, Parana State, Brazil. *Res Vet Sci* 82,202-207.

12- Silva N.M., E.V. Lourenco, D.A. Silva and J.R. Mineo. 2002. Optimisation of cut-off titres in *Toxoplasma gondii* specific ELISA and IFAT in dog sera using immunoreactivity to SAG-1 antigen as a molecular marker of infection. *Vet J* 163,94-98.

13- Uggla A., S. Mattson and N. Juntti. 1990. Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in cats, dogs and horses in Sweden. *Acta Vet Scand* 31,219-222.

جمله در ایران انجام شده است. بر اساس مطالعه‌ای در سال ۲۰۰۷، شیوع عفونت در سگ‌های خانگی و سگ‌های ساکن در گاوداری‌ها، در استان تهران، ۳۳ مورد از ۱۰۰ نمونه بررسی شده را شامل بوده است (۱۰). در این مطالعه، شیوع پادتنی انگل در سگ‌های زیر یک سال کمتر از سگ‌های ۱-۲ سال و بالاتر از دوسال بوده است. در مطالعه دیگری در تهران، ۱۹/۴ درصد از سگ‌ها، دارای این عفونت بوده‌اند (۷).

بررسی شیوع بیماری در کشورهای مختلف نشان می‌دهد که میزان شیوع پادتنی این بیماری، در آرژانتین، ۳۷/۸ درصد (۱۲۱ مورد از ۳۲۰ نمونه تست شده)، در نیوزلند، ۲۲ درصد، در ترکیه ۱۰ درصد (۱۵ سگ از ۱۵۰ مورد آزمایش شده)، در برزیل ۶/۷ درصد از ۱۶۳ سگ مورد بررسی، در مطالعه‌ای دیگر در برزیل، ۱۰ درصد از سگ‌های خانگی و ۲۵ درصد از سگ‌های ولگرد، در ایتالیا ۶/۴ درصد، و در شیلی ۱۲ درصد از ۱۲۰ سگ خانگی و ۲۶ درصد از ۸۱ سگ ساکن در مناطق روستایی، بوده است (۴). در مطالعه‌ای در برزیل، از تعداد ۳۸۴ نمونه سرمی مورد بررسی در سگ‌ها، ۳۷ مورد از آنها دارای تیت سرمی قابل ردیابی ضد تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی و شش مورد از آنها در رقت‌های ۱:۵۰ تا ۱:۲۰۰ دارای تیت پادتنی قابل اندازه‌گیری ضد نتوسپورا کینوم بودند (۲).

وجود تیت پادتنی قابل ردیابی تک‌یاخته‌های نتوسپورا کینوم و توکسوپلازما گوندئی در سگ‌ها، نشان‌دهنده وجود عفونت قابل توجه در مناطق مختلف ایران است که با توجه به آن، باید مطالعات وسیع‌تر و اقدامات پیشگیرانه‌ای در زمینه انتقال بیماری در بین جمعیت حیوانات صورت پذیرد. شیوع بالاتر عفونت در سگ‌های مسن و نگهبان، نشانگر تماس بیشتر این حیوانات با آنتی‌ژن‌های محیطی در این دو گروه از حیوانات است که در مطالعات اپیدمیولوژیک باید مد نظر قرار گیرد.

#### منابع مورد استفاده

1- Bartova E., K. Sedlak, I. Pavlik and I. Literak. 2007. Prevalence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* antibodies in wild ruminants from the countryside or captivity in the Czech Republic. *J Parasitol* 93,1216-1218.

2- Brasil A.W.L., R.N. Parentoni, J.G.D. Silva, C. Santos, R.A. Mota and S.S. Azevedo. 2018. Risk factors and anti-*Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* antibody occurrence in dogs in Joao Pessoa, Paraiba state, Northeastern Brazil. *Rev Bras Parasitol Vet.*

3- Cruz-Vazquez C., J. Vital-Gutierrez, L. Medina-Esparza, L. Ortega-Mora, A. Valdivia-Flores, T. Quezada-Tristan and A. Orihuela-Trujillo. 2017. *Neospora caninum* infection during the first gestation of holstein heifers that consume food contaminated naturally with zearalenone under field conditions. *Iranian journal of*

