

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

صادق حسینی^۱، مریم رسولی^{۲*}، 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 شه میرزاد، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

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

چکیده

توکسوپلازما گوندی تک یاخته ای اجباری داخل سلولی است که می تواند طیف وسیعی از حیوانات خونگرم را به عنوان میزبان های واسط آلوده کند. گربه ها میزبان نهایی هستند. شیوع سرمی آنتی بادی این انگل در پرندگان می تواند معیاری مناسب برای آلودگی محیط باشد. در این مطالعه تیتراژ سرمی ایمونوگلوبولین G (IgG) به روش الایزا در ۱۶۸ نمونه سرم جوجه های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه صنعتی طیور سمنان و ۳۰ نمونه سرم مرغ های با پرورش آزاد که از محل های نگهداری مختلف در سمنان جمع آوری شده بودند، سنجیده شد. ۳۹/۹٪ جوجه های گوشتی ارجاعی به کشتارگاه سمنان و ۹۶/۷٪ مرغ های با پرورش آزاد دارای تیتراژ سرمی IgG توکسوپلازما 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 می دهد که شیوع سرمی آنتی بادی توکسوپلازما در مرغ های سمنان نسبتا بالا می باشد که در مرغ های با پرورش آزاد به آلودگی خاک به اووسیست انگل و در جوجه های گوشتی به مشکلات مدیریتی در مرغداری ها و دسترسی گربه به عنوان میزبان نهایی به منابع آب و غذای پرندگان پرورشی مربوط می شود.

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

* نویسنده مسئول: مریم رسولی

آدرس: گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران. تلفن: ۰۲۳۳۱۵۳۳۶۲۶

پست الکترونیک: Mrvpar@semnan.ac.ir

مقدمه

توکسوپلازما گوندی (*Toxoplasma gondii*) تک یاخته‌ای در شاخه اپی کمپلکسا و در دسته کوکسیدیا‌های تشکیل دهنده کیست می‌باشد. سه مرحله عفونی در توکسوپلازما گوندی وجود دارد که شامل تکی زوآیت، برادی زوآیت و اووسیست می‌باشد. تمامی حیوانات خونگرم می‌توانند میزبان واسط بوده و مراحل تکی زوآیت و کیست حاوی برادی زوآیت در بدن آنها طی شود ولی گربه سانان میزبان نهایی این انگل می‌باشند و هر سه 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 هر کدام دارای ۴ اسپوروزوآیت هستند تشکیل می‌شود (۱۰). در پرندگان آلودگی به توکسوپلازما عمدتاً 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 توکسوپلازما در آنها اهمیت اپیدمیولوژیک دارد و تقریباً به روش‌های مختلف در مرغ‌های سراسر جهان مورد سنجش قرار گرفته است که در محدوده وسیعی (۱۰۰٪-۲) گزارش شده است (۵).

به طور کلی آلودگی توکسوپلازما در طیور از چند جنبه حائز اهمیت است: این آلودگی می‌تواند بهترین معیار برای آلودگی خاک به اووسیست‌های توکسوپلازما گوندی باشد زیرا اندازه گیری مستقیم آلودگی خاک به توکسوپلازما 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 توکسوپلازما 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 توکسوپلازما می‌تواند باعث آلودگی انسان شود (۴). روش‌های مختلف سرولوژی برای تعیین تیتراژ آنتی بادی توکسوپلازما گوندی در سرم طیور کاربرد دارد که می‌توان به هم‌آگلوتیناسیون غیر مستقیم، فلورسنت غیر مستقیم آنتی بادی، آگلوتیناسیون لاتکس و الیزا 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.



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 تیت سرمی IgG توکسوپلازما بودند بنابراین شیوع سرمی آنتی بادی IgG با فاصله اطمینان ۹۵٪ در جوجه‌های گوشتی (۳۲/۵-۴۷/۳٪) و در مرغ‌های با پرورش آزاد (۹۰/۲-۱۰۰٪) 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 تیت آنتی بادی در جوجه‌های گوشتی ۳۵/۷۵ ng/ml و بیشترین آن ۷۳/۵۴ ng/ml بود. کمترین تیت آنتی بادی در مرغ‌های با پرورش آزاد ۳۵/۲ ng/ml و بیشترین آن ۶۹/۰۵ ng/ml بود.

بحث

توکسوپلازما تقریباً از بافت‌های مرغ‌های سراسر جهان جدا شده است و طیوری که به صورت آزاد پرورش داده می‌شوند نسبت به طیور صنعتی آلودگی بیشتری داشتند (۴). علاوه بر این شیوع توکسوپلازما در مرغ‌های با پرورش آزاد می‌تواند شاخص مناسبی برای شیوع اوویست‌های انگل در خاک باشد (۹). در مطالعات مختلف Dubey و همکاران در مرغ‌های با پرورش آزاد کشورهای مختلف بر روی تیت آنتی بادی توکسوپلازما به روش آگلوتیناسیون تغییر یافته کمترین

آنتی بادی توکسوپلازما بودند (۱۴). در ایران ۱۶۲ نمونه سرم پرندۀ مختلف اهلی از نواحی مختلف به روش فلورسانت غیرمستقیم آنتی بادی آزمایش شدند و ۲۷٪ مرغ‌ها، ۳۷/۱٪ از خروس‌ها دارای تیت سرمی آنتی بادی توکسوپلازما بوده و سویه توکسوپلازما از ۵ مرغ و ۱ خروس دارای تیت جدا گردید (۱۵). شیوع سرمی در جوجه‌های بومی شیراز به روش ایمونوفلورسانت غیرمستقیم ۳۶/۱٪ گزارش شد (۱). در مطالعه ای دیگر در شیراز ۲۴/۵٪ مرغ‌های با پرورش آزاد به روش فلورسانت غیر مستقیم آنتی بادی دارای تیت توکسوپلازما 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 تیت 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.

۱۶، ۱۹) ولی آلودگی در تخم مرغ ردیابی نشده است (۳، ۱۶، ۲۰). بقاء توکسوپلازما 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 نتیجه‌گیری 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

روش الیزا روشی مناسب برای سنجش تیت سرمی توکسوپلازما در تعداد بالای نمونه است. در یک مطالعه تجربی ۱۲ روز پس از عفونت IgG توکسوپلازما 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 توکسوپلازما گوندی تیت 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 توکسوپلازما یک انگل اجباری داخل سلولی است، تشخیص قطعی بر مبنای ردیابی انگل در بافت می‌باشد.

در مطالعات مختلف توکسوپلازما گوندی از بافت‌های مرغ‌های دارای پرورش آزاد جدا شده است (۴، ۷). متأسفانه در بسیاری از کشورهای در حال توسعه مرغ‌های با پرورش آزاد در خانه کشتار می‌شوند و امعاء و احشاء آنها معمولاً 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 توکسوپلازما 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 توکسوپلازما تحت تاثیر قرار بگیرد (۳). اگرچه توکسوپلازما از تخمدان‌ها و اویداکت مرغ‌هایی که به صورت طبیعی آلوده شده بودند جدا شده است (۱۲)،

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>
- 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, Indonesia, 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., Kahn mouie, 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.

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