مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره ۲، ۱۳۹۹، ۱۳۵-۱۳۰
مقاله پژوهشی

شیوع سرمی و مطالعه مولکولی آلودگی به توکسوپلاسما در مرغ‌های بومی شهرستان خرم‌آباد، ایران

سید فواد احمدی[۱]، عذرا ظریفی[۱]، حمیدرضا شکرانی[۲]، حسن نوروزیان[۳]

[۱] دانش آموخته انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۲] گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[۳] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

تاریخ دریافت: ۲۷ آذر ماه ۱۳۹۸، تاریخ پذیرش: ۲۳ بهمن ماه ۱۳۹۸
10.22059/jvr.2019.245868.2725

چکیده

زمینهٔ مطالعه: *توکسوپلاسما گوندی* یک انگل تک‌یاخته‌ای و داخل سلولی است که قادر به آلوده کردن اکثر جانوران خونگرم از جمله انسان و پرندگان است. با توجه به عادات تغذیه‌ای در مرغ‌های بومی، شیوع آلودگی به توکسوپلاسما در مرغ‌های با پرورش آزاد به عنوان یک شاخص مناسب از پراکنش اُاُسیست‌ها در محیط مطرح است.

هدف: مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع سرمی آلودگی به توکسوپلاسما در مرغ‌های بومی شهرستان خرم‌آباد و مقایسه نتایج حاصل از روش‌های سرمی و مولکولی طراحی گردید.

روش‌کار: در مجموع ۹۷ نمونه سرم به صورت تصادفی از مرغ‌های بومی اخذ گردید و با استفاده از آزمون آگلوتیناسیون تعدیل یافته (MAT) از نظر حضور پادتن‌های ضد توکسوپلاسما بررسی گردیدند. پنجاه گرم عضله (ترکیب عضلات قلب و سینه) و کل مغز مرغ‌های سرم مثبت به طور مجزا هموژنیزه گردید و با انجام PCR توالی تکرارشونده توکسوپلاسما (RE) ردیابی شد.

نتایج: پادتن‌های ضد توکسوپلاسما در ۲۱ از ۹۷ نمونه سرم (۲۱/۶۴ درصد) مشاهده گردید. از بین ۲۱ پرنده سرم مثبت در ۱۰ پرنده (۴۷/۶۱ درصد) DNA *توکسوپلاسما گوندی* ردیابی گردید (با عیار سرمی ≤۱:۲۰). تطابق اندک بین نتایج سرمی و مولکولی احتمالاً با برخی عوامل از جمله امکان واکنش‌های متقاطع در آزمون MAT و یا مقدار محدود نمونه در آزمون PCR مرتبط است.

نتیجه‌گیری نهایی: این نتایج بر اهمیت نقش مرغ‌های بومی به عنوان یک منبع عفونت برای گربه‌ها و افراد ساکن در مناطق روستایی دلالت دارد.

کلمات کلیدی: توکسوپلاسما، مرغ‌های بومی، شیوع سرمی، نمونه بافتی، PCR

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: حمیدرضا شکرانی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
پست الکترونیکی: shokrani.hm@lu.ac.ir

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی انگل کوکسیدیایی با انتشار جهانی وسیع است. بیماری حاصل از این انگل یکی از مهمترین بیماری‌های مشترک انسان و دام است. گربه و گربه‌سانان عمدتاً از طریق خوردن لاشهٔ پرندگان و یا پستانداران کوچک آلوده می‌شوند و با دفع میلیون‌ها اُاُسیست منجر به آلوده شدن آب، خاک، علوفه و سبزیجات می‌گردند. پرندگان اُاُسیست‌های اسپروله‌شده انگل را از بستر یا خاک دریافت می‌نمایند و پس از یک فاز کوتاه و حاد، کیست‌های نسجی در بافت‌های مختلف نظیر مغز، قلب، عضلات اسکلتی، کلیه، کبد، طحال، ریه، سنگدان، تخمدان، روده و چشم تشکیل می‌شوند (۱).

توکسوپلاسموزیس در برخی پرندگان با ضایعاتی چون بزرگ‌شدن پریکارد و میوکارد، زخم روده، پنومونی و نکروز کبد و

طحال همراه است. ماکیان به توکسوپلاسموزیس بالینی مقاوم هستند و تنها موارد معدودی از توکسوپلاسموزیس بالینی در این پرندگان گزارش شده است. بی‌اشتهایی، لاغری، کاهش تولید تخم، عدم تعادل و کوری از مهمترین علائم توکسوپلاسموزیس در ماکیان است (۱). ماکیان بومی نقش مهمی در اپیدمیولوژی توکسوپلاسما درمحیط‌های روستایی دارند و به عنوان یک منبع عفونت برای انسان و همچنین به عنوان یک مخزن آلودگی برای گربه‌ها مطرح هستند (۶).

امروزه از آزمون‌های سرمی مختلف به منظور ردیابی پادتن‌های اختصاصی ضد توکسوپلاسما استفاده می‌شود. جهت انجام مطالعات اپیدمیولوژیک با هدف غربالگری در پستانداران و پرندگان، آزمون آگلوتیناسیون تعدیل یافته (Modified agglutination test) رواج دارد (۱۵). همچنین با توجه به ویژگی و حساسیت بالای روش‌های مولکولی، کاربرد واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) به منظور ردیابی DNA توکسوپلاسما در نمونه‌های بافتی افزایش یافته است. مطالعه حاضر با هدف بررسی شیوع سرمی *توکسوپلاسما گوندی* در مرغ‌های بومی شهرستان خرم‌آباد و همچنین مقایسه نتایج حاصل از آزمون‌های MAT و PCR انجام گردید.

مواد و روش‌کار

جمع‌آوری نمونه: طی مدت یک ماه، با مراجعه به تعدادی از روستاهای شهرستان خرم‌آباد، از ۹۷ قطعه مرغ بومی با پرورش آزاد خون‌گیری گردید. پرندگان به صورت تصادفی انتخاب و پلاک‌گذاری شدند. همزمان اطلاعات مربوط به مکان و زمان نمونه‌گیری و مشخصات پرنده ثبت گردید. بدنبال انجام آزمون MAT، تمامی پرندگان دارای عیار سرمی مثبت خریداری شدند و در آزمایشگاه نمونه‌گیری از بافت مغز و عضلات قلب و سینه انجام گردید. نمونه‌های بافتی تا زمان انجام آزمایشات مولکولی در منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند.

آزمون آگلوتیناسیون تعدیل یافته (MAT): اساس آزمون MAT، آگلوتیناسیون پادگن و پادتن در مجاورت ۲-مرکاپتواتانول است. تراکم مناسب تاکی‌زوئیت‌ها جهت انجام این آزمایش $۱۰^{۷}$ عدد در هر میلی‌لیتر است (۱۶). در این مطالعه از تاکی‌زوئیت‌های توکسوپلاسما (کشته شده در فرمالین؛ انستیتو پاستور ایران) به عنوان پادگن استفاده شد. به منظور جدا کردن سرم، نمونه‌ها با دور ۲۰۰۰ و به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. سپس سرم‌ها به روش رقیق‌سازی سریالی و با استفاده از بافر فسفات سالین (1x, pH 7.2) تا هشت چاهک رقیق شدند. بر اساس مطالعات پیشین عیارهای ۱:۱۰ و بالاتر به عنوان عیار مثبت در نظر گرفته شدند (۱۱). تهیه سوسپانسیون حاوی پادگن مطابق دستورالعمل شرح داده شده توسط Dubey و Desmonts در سال ۱۹۸۷ انجام گردید (۷). به هر چاهک ۲۵ میکرولیتر سرم رقیق‌شده و ۲۵ میکرولیتر سوسپانسیون حاوی پادگن اضافه گردید. پلیت‌ها (۹۶ خانه با چاهک‌های U شکل) به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. مشاهده آگلوتیناسیون بصورت یک شبکه در کف چاهک به منزله نتیجه مثبت و آخرین چاهکی که آگلوتیناسیون را نشان داد به عنوان عیار سرم در نظر گرفته شد.

استخراج DNA: نمونه‌های بافتی پرندگان شامل نمونه‌های مغز و عضله (میکس عضلات قلب و سینه) به صورت مجزا هموژنیزه شدند و با استفاده از نیتروژن مایع به صورت پودر در آمدند. استخراج DNA با استفاده از کیت تجاری شرکت MBST ایران انجام شد. بدین منظور به تیوب‌های حاوی نمونه، ۱۸۰ میکرولیتر بافر تجزیه کننده و ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K اضافه شد. نمونه‌ها پس از ورتکس در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد به مدت یک شب نگهداری شدند تا به طور کامل هضم گردند. سایر مراحل مطابق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام شد. درنهایت محلول جمع‌آوری شده جهت آنالیز نهایی در منفی ۲۰ درجه سانتیگراد نگهداری گردید.

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR): به منظور تشخیص آلودگی به توکسوپلاسما در نمونه‌های بافتی، توالی اختصاصی (RE) به طول ۵۲۹ جفت‌باز تکثیر گردید. بدین منظور از پرایمرهای Tox4 (CGCTGCAGGGAGGAAGACGAAAGTTG) و Tox5 (CGCTGCAGACACAGTGCATCTGGATT) استفاده شد (۲،۱۴).

در هر واکنش از پرایمرهای Tox4 و Tox5 (شرکت سیناژن) هر یک ۰/۵میکرومولار، PCR Master mix (شرکت سیناژن) به میزان ۱۲/۵ میکرولیتر و نمونه DNA به میزان ۱ میکرولیتر استفاده شد و حجم نهایی با آب مقطر به ۲۵ میکرولیتر رسید. در تمام واکنش‌ها از آب مقطر به عنوان کنترل منفی و از DNA توکسوپلاسما سویه RH (انستیتو پاستور ایران) به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

جدول ۱. نتایج آزمون آگلوتیناسیون تعدیل یافته (MAT): عیار پادتن‌های ضد توکسوپلاسما در ماکیان بومی خرم‌آباد.

عیار سرم	نمونه مثبت	درصد از نمونه‌های مثبت	درصد از کل
۱:۱۰	۵	۲۳/۸	۵/۱۵
۱:۲۰	۸	۳۸/۰۹	۸/۲۵
۱:۴۰	۵	۲۳/۸	۵/۱۵
۱:۸۰	۱	۴/۷۷	۱/۰۳
۱:۱۶۰	۱	۴/۷۷	۱/۰۳
۱:۳۲۰	۰	۰	۰
۱:۶۴۰	۱	۴/۷۷	۱/۰۳
۱:۱۲۸۰	۰	۰	۰
جمع	۲۱	۱۰۰	۲۱/۶۴

جدول ۲. نتایج PCR نمونه‌های بافتی ماکیان دارای عیار سرمی مثبت.

بافت	آلوده		غیر آلوده		جمع
	تعداد	درصد	تعداد	درصد	
مغز	۸	۳۸/۱	۱۳	۶۱/۹	۲۱
عضله*	۶	۲۸/۵۷	۱۵	۷۱/۴۳	۲۱
جمع	۱۴	۳۳/۳۳	۲۸	۶۶/۶۶	۴۲

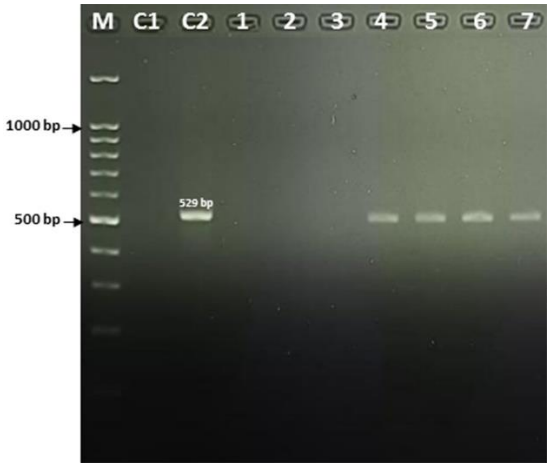
* میکس عضلات قلب و سینه.

واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر Bio-Rad MyCycler و با شرایط دمایی و زمانی واسرشت اولیه: ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۷ دقیقه؛ ۳۳ سیکل شامل واسرشت: ۹۴ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه، اتصال: ۵۸/۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۵ ثانیه، تکثیر: ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۶۰ ثانیه؛ تکثیر نهایی: ۷۲ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه انجام گردید. جهت بررسی محصول PCR از ژل آگاروز ۱/۵ درصد در بافر 0.5x TBE استفاده شد.

نتایج

از ۹۷ پرنده مورد مطالعه در ۲۱ مورد (۲۱/۶۴ درصد) پادتن‌های ضد توکسوپلاسما شناسایی گردید. در بین پرندگان آلوده فراوان‌ترین عیار سرمی ۱:۲۰ بود که در ۳۸/۰۹ درصد از نمونه‌های مثبت مشاهده شد. بالاترین عیار سرمی ۱:۶۴۰ بود که تنها از یک پرنده گزارش شد (جدول ۱).

در بین پرندگان دارای عیار سرمی مثبت، در ۱۰ پرنده (۴۷/۶۱ درصد) عفونت بافتی به توکسوپلاسما شناسایی گردید (تصویر ۱). از مجموع ۴۲ نمونه بافتی، در ۱۴ نمونه (۳۳/۳۳ درصد) DNA *توکسوپلاسما گوندی* ردیابی شد (جدول ۲). میزان آلودگی در بافت مغز بیشتر بود هر چند این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. در ۴ پرنده آلودگی توأم در هر دو بافت (مغز و عضله) مشاهده شد.



تصویر ۱. الکتروفورز محصولات PCR به منظور ردیابی توالی اختصاصی *توکسوپلاسما گوندی* (RE) در نمونه‌های بافتی ماکیان دارای عیار سرمی مثبت. M: مارکر DNA (۱۰۰ جفت‌باز)؛ C1: کنترل منفی (آب مقطر)؛ C2: کنترل مثبت (سویه RH)؛ ستون‌های ۱، ۲ و ۳: نمونه‌های منفی؛ ستون‌های ۴، ۵، ۶ و ۷: نمونه‌های مثبت که باند مورد انتظار (۵۲۹ جفت‌باز) را نشان داده‌اند.

بحث

توکسوپلاسما گوندی در بسیاری از پرندگان اهلی و وحشی گزارش شده است. شیوع توکسوپلاسما در مرغداری‌های صنعتی اندک است لذا خطر انتقال آلودگی به انسان از طریق مصرف گوشت این پرندگان ناچیز است. آلودگی به توکسوپلاسما در ماکیان بومی با پرورش آزاد اهمیت دارد. با توجه به نحوه تغذیه ماکیان بومی، شیوع توکسوپلاسما در این گروه از ماکیان شاخص مهمی از میزان پراکندگی اُاُسیست‌ها در محیط است. همچنین مصرف گوشت این پرندگان به صورت خام یا نیم‌پز می‌تواند منجر به ظهور عفونت در انسان شود. با این حال احتمال انتقال آلودگی بدنبال مصرف تخم مرغ خام بسیار ضعیف است (۶،۱۱).

تشخیص قطعی توکسوپلاسموزیس در پرندگان از طریق معاینات بالینی امکان‌پذیر نیست لذا از آزمون‌های سرمی به منظور ردیابی پادتن‌های اختصاصی ضدتوکسوپلاسما و یا پادگن‌های انگل در مایعات بدن استفاده می‌شود. آزمون MAT یکی از کارآمدترین آزمون‌های سرمی در تشخیص ایمونوگلوبولین‌های G اختصاصی ضد توکسوپلاسما در سرم حیوانات مشکوک است (۴،۵). نتایج مطالعه حاضر نشان داد شیوع سرمی *توکسوپلاسما گوندی* در مرغ‌های بومی شهرستان خرم‌آباد ۲۱/۶۴ درصد است. در مطالعات پیشین شیوع پادتن‌های ضد توکسوپلاسما در ماکیان با استفاده از آزمون MAT از ۲ تا ۱۰۰ درصد گزارش شده است (۶). این تفاوت احتمالاً ناشی از اختلاف در شرایط اقلیمی، میزان فراوانی گربه به عنوان میزبان نهایی و همچنین تفاوت در سطح cut-off است. شیوع سرمی آلودگی به توکسوپلاسما در

مرغ‌های بومی با پرورش آزاد با استفاده از آزمون MAT در مصر (۲۰۰۵) در بین ۱۵۰ نمونه ۱۸/۷ درصد؛ در ویتنام (۲۰۰۸) در بین ۳۳۰ نمونه ۲۴/۲ درصد؛ در پرو (۲۰۰۴) در بین ۵۰ نمونه ۲۶ درصد؛ در اندونزی (۲۰۰۸) در بین ۹۰ نمونه ۲۶/۶ درصد و در پرتغال (۲۰۰۶) در بین ۲۲۵ نمونه ۲۷/۰۱ درصد گزارش شده است (۶).

در این مطالعه فراوان‌ترین عیار پادتن‌های ضدتوکسوپلاسما ۱:۲۰ بوده است. میزان تشکیل پادتن‌ها به عوامل مختلفی از جمله سویه و حدت انگل، شدت آلودگی و همچنین مرحله تکاملی آن وابسته است. پادتن IgG معمولاً ۱ تا ۲ هفته بعد از کسب عفونت ظاهر می شود و در ۶ تا ۸ هفته بعد از عفونت به حداکثر میزان خود می‌رسد. بدنبال جایگزین شدن انگل در بافت‌های عصبی و عضلانی، سیستم ایمنی کمتر تحریک می‌شود و عیار پادتن در این مرحله کمتر است (۱۰). با توجه به اینکه در این مطالعه تمام پرندگان بالغ بوده‌اند به نظر می‌رسد آلودگی قدیمی بوده و مربوط به ماه‌های گذشته است با این حال این احتمال نیز وجود دارد که تعدادی از این پرندگان در ابتدای عفونت بوده‌اند. در مطالعه‌ای در مصر El-Massry و همکاران در سال ۲۰۰۰ با انجام آزمون MAT بر روی ۱۰۸ مرغ بومی فراوان‌ترین عیار پادتن‌های ضدتوکسوپلاسما را ۱:۲۰ گزارش کردند (۹). Dubey و همکاران در سال ۲۰۰۵ نیز در اتریش با انجام آزمون MAT بر روی ۸۳۰ قطعه مرغ بومی با پرورش آزاد، فراوان‌ترین عیار سرمی را ۱:۲۰ گزارش نمودند (۸).

مطالعات اخیر نشان داده است آزمون PCR یک روش حساس جهت تشخیص DNA توکسوپلاسما در شرایط بالینی و مطالعات اپیدمیولوژیک است. جهت شناسایی توکسوپلاسما از ژن‌های B1، SAG_1، $3'SAG_2$، $5'SAG_2$، SAG_3، ITS1 و همچنین قطعه ۵۲۹ جفت بازی (RE) استفاده شده است. در مطالعه حاضر بدنبال ردیابی توالی RE، از بین ۲۱ پرنده دارای عیار سرمی مثبت در ۱۰ مورد (۴۷/۶۱ درصد)، DNA *توکسوپلاسما گوندی* ردیابی شد. در اکثر مطالعات پیشین شیوع سرمی توکسوپلاسما در مقایسه با میزان ردیابی انگل با استفاده از روش‌های مولکولی بیشتر بوده است. در آزمون‌های سرمی نظیر MAT، به علت امکان واکنش‌های متقاطع، نتایج مثبت کاذب محتمل است. از طرفی در آزمون PCR با توجه به تعداد کم کیست‌های نسجی و توزیع تصادفی آن‌ها، مقدار کم نمونه به عنوان عاملی محدودکننده مطرح است (۱۲،۱۳). در مطالعه‌ای در کشور تونس از بین ۴۰ مرغ با عیار سرمی مثبت تنها در ۱۵ مورد (۳۷/۵ درصد) DNA انگل ردیابی شد (۳). Holsback و همکاران در سال ۲۰۱۲ در برزیل ۴۰ مرغ با پرورش آزاد را از نظر آلودگی به توکسوپلاسما بررسی کردند. نتایج این مطالعه نشان داد ۶۷/۵ درصد پرندگان دارای عیار سرمی مثبت هستند با این حال ژن B1 تنها در ۴۰ درصد از پرندگان ردیابی شد (۱۳). Hamidinejat و همکاران در سال ۲۰۱۴ نیز در اهواز ۱۰۶ مرغ بومی را از نظر آلودگی به توکسوپلاسما بررسی کردند و میزان آلودگی را با استفاده از آزمون‌های MAT و PCR به ترتیب ۵۱/۸۹ درصد و ۴۶/۲۳ درصد گزارش نمودند (۱۱).

در مناطق روستایی مرغ‌های بومی با پرورش آزاد معمولاً در منزل و یا در مکان‌های فاقد نظارت کشتار می‌شوند و بافت‌های غیرمصرفی این پرندگان در محیط رها شده و یا به صورت غیر بهداشتی دفع می‌گردند. دسترسی راحت گربه‌های ولگرد به این بافت‌ها و عدم شستشوی دست‌ها بدنبال ذبح و خرد کردن گوشت این پرندگان از جمله مواردی هستند که ممکن است در گسترش توکسوپلاسموزیس در جوامع روستایی نقش داشته باشند. به نظر می‌رسد اهمیت مرغ‌های بومی در اپیدمیولوژی *توکسوپلاسما گوندی* در مناطق روستایی بیشتر از جوندگان است زیرا این پرندگان به عنوان مخزن آلودگی برای گربه‌ها در برابر توکسوپلاسموزیس بالینی مقاوم بوده و طول عمر بیشتری دارند (۶).

براساس نتایج مطالعه حاضر میزان آلودگی ماکیان بومی شهرستان خرم‌آباد به *توکسوپلاسما گوندی* قابل توجه است لذا به نظر می‌رسد اجرای اقدامات پیشگیرانه و آموزش همگانی جهت رعایت اصول بهداشتی در نگهداری و مصرف ماکیان بومی ضرورت دارد.

سپاسگزاری

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه‌های کارشناسی‌ارشد رشته انگل‌شناسی بوده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان به انجام رسیده است. نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از استاد گرامی جناب آقای دکتر حسین حمیدی‌نجات جهت مشاوره و رفع برخی نواقص قدردانی نمایند.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Asgari, Q., Akrami Mohajeri, F., Kalantari, M., Esmaeilzadeh, B., Farzaneh, A., Moazeni, M., Ghalebi, S.R., Saremi, F., Zarifi Kalyani, M., Motazedian, M.H. (2008). Chicken toxoplasmosis in different types of breeding: A seroprevalence survey in southern Iran. Int J Poult Sci, 7, 1247-1250. https://doi.org/10.3923/ijps.2008.1247.1250
2. Bezerra, R.A., Carvalho, F.S., Guimarães, L.A., Rocha, D.S., Silva, F.L., Wenceslau, A.A., Alburquerque, G.R. (2012).

Comparasion of methods for detection of *Toxoplasma gondii* in tissues of naturally exposed pigs. Parasitol Res, 110, 509–514. https://doi.org/10.1007/s00436-011-2514-1

3. Boughattas, S., Bouratbine, A. (2015). Genetic characterization of *Toxoplasma gondii* isolated from chickens meats in Tunisia. J Food Qual Hazards Control, 2, 99-100.
4. Desmonts, G., Remington, J.S. (1980). Direct Agglutination Test for diagnosis *of* Toxoplasma infection: Method for increasing sensitivity and specificity. J Clin Microbiol, 11, 562-568. PMID: 7000807
5. Dubey, J.P. (2002). A review of toxoplasmosis in wild birds. Vet Parasitol, 106, 121-153. https://doi.org/10.1016/S0304-4017(02)00034-1 PMID: 12031816
6. Dubey, J.P. (2010). *Toxoplasma gondii* infections in chickens (Gallus domesticus): prevalence, clinical disease, diagnosis and public health significance. Zoonoses Public Health, 57, 60-73. https://doi.org/10.1111/j.1863-2378.2009.01274.x PMID: 19744305
7. Dubey, J.P., Desmonts, G. (1987). Serological responses of equids fed *Toxoplasma gondii* oocysts. Equine Vet Med J, 19, 337-339. https://doi.org/10.1111/j.2042-3306.1987.tb01426.x PMID: 3622463
8. Dubey, J.P., Edelhofer, R., Marcet, P., Vianna, M.C.B., Kwok, O.C.H., Lehmann, T. (2005). Genetic and biologic characteristics of *Toxoplasma gondii* infections in free-range chickens from Austria. Vet Parasitol, 133, 299–306. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2005.06.006 PMID: 16039065
9. El-Massry, A., Mahdy, O.A., El-Ghaysh, A., Dubey, J.P. (2000). Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens, and ducks from Egypt. J Parasitol, 86, 627-628. https://doi.org/10.1645/0022-3395(2000)086[0627:POTGAI]2.0.CO;2 PMID: 10864268
10. Gharavi, M.J., Jalali, S., Khademvatan, S., Heydavi, S. (2012). Serological evaluation of anti-toxoplasma IgM and IgG antibodies in renal transplant recipients before and after transplant by ELFA, ELISA and ISAGA methods. Koomesh, 13, 177-182.
11. Hamidinejat, H., Nabavi, L., Mayahi, M., Ghourbanpoor, M., Pourmehdi Borojeni, M., Norollahi Fard, S., Shokrollahi, M. (2014). Comparison of three diagnostic methods for the detection of *Toxoplasma gondii* in free range chickens. Trop Biomed, 31, 507-513. PMID: 25382478
12. Hill, D.E., Chirukandoth, S., Dubey, J.P., Lunney, J.K., Gamble, H.R. (2006). Comparison of detection methods for *Toxoplasma gondii* in naturally and experimentally infected swine. Vet Parasitol, 141, 9-17. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.05.008 PMID: 16815636
13. Holsback, L., Pena, H.F.J., Ragozo, A., Lopes, E.G., Gennari, S.M., Soares, R.M. (2012). Serologic and molecular diagnostic and bioassay in mice for detection of *Toxoplasma gondii* in free ranges chickens from Pantanal of Mato Grosso do Sul. Pesq Vet Bras, 32, 721-726. http://dx.doi.org/10.1590/S0100-736X2012000800007
14. Homan, W.L., Vercammen, M., De Braekeleer, J., Verschueren H. (2000). Identification of a 200 to 300 fold repetitive 529 bp DNA fragment in *Toxoplasma gondii*, and its use for diagnostic and quantitative PCR. Int J Parasitol, 30, 69-75. https://doi.org/10.1016/S0020-7519(99)00170-8 PMID: 10675747
15. Silva, D.V., Marques, J.M., Corrêa, N.A.B., Velasquez, L.G., Silva, R.C.L, Von Söhsten, A.L., Silva, A.V. (2012). Evaluation of modified agglutination test and enzyme-linked immunosorbent assay in detection of *Toxoplasma gondii* antibody in human sera. Arq Ciênc Saúde UNIPAR, 16, 17-20.
16. Sucilathangam, G., Palaniappan, N., Sreekumar, C., Anna, T. (2012). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Immunocompetent and Immunocompromised Patients Using IgG-Modified Direct Agglutination Test (IgG MAT). J Medical Microbiol Diagnosis, 1, 1-5. https://doi.org/10.4172/2161-0703.1000102

Journal of Veterinary Research

J Vet Res, Volume 75, Number 2, 2020

Original Article

Seroprevalence and Molecular Study of Toxoplasma Infection in Domestic Chickens from Khorramabad, Iran

Seyed Foad Ahmadi[1], Ozra Zarifi[1], Hamidreza Shokrani[2], Hassan Norouzian[3]

[1] *Graduated from the Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran*
[2] *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran*
[3] *Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran*

10.22059/jvr.2019.245868.2725

Received: *18 December 2019*, ***Accepted:*** *12 February 2020*

Abstract

BACKGROUND: *Toxoplasma gondii* is an intracellular protozoan parasite that can infect most species of warm-blooded animals, including birds and humans. Because of feeding habits of domestic chickens, prevalence of Toxoplasma infection in free-range chickens is considered as a suitable indicator of environmental distribution of oocysts.

OBJECTIVES: The present study was designed to investigate the seroprevalence of Toxoplasma infection in domestic chickens from Khorramabad and compare the results obtained from serological and molecular methods.

METHODS: In total, 97 serum samples were randomly obtained from domestic chickens and examined for the presence of anti-Toxoplasma antibodies using modified agglutination test (MAT). Fifty grams of muscles (mixture of breast and heart) and whole brain from seropositive chickens were separately homogenized and examined by PCR which targets the repeated element (RE) of the parasite.

RESULTS: Anti-Toxoplasma antibodies were observed in 21 of 97 (21.64%) sera. *T. gondii* DNA was detected in 10 out of 21 (47.61%) seropositive chickens (with titres of ≥1:20). The low agreement between serological and molecular results can be explained by several factors such as possibility of cross-reactions in MAT and/or limited sample size in PCR.

CONCLUSIONS: These results indicate that domestic chickens may have an important role as a source of infection for cats and individuals living in rural areas.

Keywords: Toxoplasma, Domestic chickens, Seroprevalence, Tissue sample, PCR

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

shokrani.hm@lu.ac.ir Tel/Fax: 066-33120109

How to cite this article:

Ahmadi, S., Zarifi, O., Shokrani, H., Norouzian, H. (2020). Seroprevalence and Molecular Study of Toxoplasma Infection in Domestic Chickens from Khorramabad, Iran. J Vet Res, 75(2), 130-135. https://doi.org/10.22059/jvr.2019.245868.2725

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Results of Modified agglutination test (MAT): anti-*T. gondii* antibody titers in domestic chickens from Khorramabad.
Table 2. PCR results of tissue samples from seropositive chickens. * Mix of heart and breast muscles.
Figure 1. Electrophoresis of PCR products for detection of the specific sequence of *T. gondii* (repeated element) in tissue samples of serologically positive chickens. M: DNA ladder (100 bp); C1: negative control (distilled water); C2: positive control (RH strain); lanes 1, 2 and 3: negative samples; lanes 4, 5, 6 and 7: positive samples which appear at expected band (529 bp).