

# Konya Yöresinde Yumurta Tavuklarında Sabin-Feldman Boya Testi ile *Toxoplasma gondii* (Nicolle ve Manceaux, 1908) Seropozitifliğinin Araştırılması

Funda ALTINÖZ<sup>1</sup>, Cahit BABÜR<sup>2</sup>, Selçuk KILIÇ<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Veteriner Kontrol ve Araştırma Enstitüsü, Konya, <sup>2</sup>Refik Saydam Hıfzıssıhha Merkez Başkanlığı, Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü, Parazitoloji Laboratuvarı, Sıhhiye, Ankara

**ÖZET:** Bu çalışma Aralık 2004-Mart 2005 tarihleri arasında Konya ilinde yetiştirilen yumurta tavukları üzerinde yapılmıştır. Bu süre zarfında toplam 287 tavuktan kan alınmış, 4000 rpm'de 10 dakika süreyle serumları çıkarılmıştır. Bu serumlar *Toxoplasma gondii* spesifik antikorlarının tespiti için Sabin-Feldman Boya Testi ile incelenmiş ve 1 tanesi (%0,34) seropozitif bulunmuştur.

**Anahtar Sözcükler:** *Toxoplasma gondii*, Yumurta tavuğu, Sabin-Feldman Boya Testi, Konya.

## Investigation of the Seropositivity of *Toxoplasma gondii* (Nicolle and Manceaux, 1908) in Layer Hens by the Sabin-Feldman Dye Test in the Region of Konya

**SUMMARY:** This study was carried out on layer hens in the region of Konya between December 2004 and March 2005. During this period, blood samples were collected from a total of 287 layer hens and the sera were separated by centrifugation at 4000 rpm for 10 minutes. All the sera were investigated with the Sabin-Feldman Dye Test for *Toxoplasma gondii* specific antibodies. The rate of seropositivity for *Toxoplasma gondii* was found to be 0.34%.

**Key Words:** *Toxoplasma gondii*, layer hens, Sabin-Feldman Dye Test, Konya

## GİRİŞ

Toksoplazmosis dünyanın hemen hemen her tarafında yaygın olarak görülen zoonoz karakterli bir hastalıktır. Hastalığın etkeni olan *Toxoplasma gondii*'nin esas konakçısı evcil ve yabani kediler iken, memeli hayvanlar, kanatlılar, kemiriciler ve kediler arakonak görevi görürler. Enfeksiyon arakonakçılara sporlanmış ookistlerin gıdalarla birlikte alınmasıyla, arakonakçılardan enfekte organ ve dokularının çiğ ve ya az pişmiş olarak yenilmesiyle ve gebelik döneminde plasenta yoluyla bulaşır. Nadiren kan ve doku nakliyle, tükürük, balgam, göz-yaşı, burun akıntısı, idrar, sperma, vajen akıntısı, süt ve yumurta ile de bulaşma olabilir. *Toxoplasma gondii* trofozoitlerinin deneysel olarak enfekte edilen yumurtada 28 gün canlı kaldıkları tespit edilmiştir (9, 23, 25).

Toksoplazmosis diğer hayvanlarda olduğu gibi kanatlılarda da subklinik seyirlidir (3, 4, 9, 17-19, 21). Bununla birlikte hastalığın akut döneminde toksoplazmosis için karakteristik olma-

yan ensefalomyelitise bağlı klinik belirtilerin ortaya çıktığı belirtilmiştir (4, 5, 18, 22).

Tavuklarda toksoplazmosisin belirlenmesi amacıyla bir çok ülkede histolojik incelemeler (8, 10, 17, 22), otopsi bulguları (3, 8, 10), fare inokulasyonu (7, 8, 10-12, 17) ve serolojik yöntemlerden Sabin-Feldman Boya Testi (SFDT) (10), İndirekt Hemagglütinasyon Test (IHA) (1, 10, 15, 28), Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) (3, 10, 20), Modifiye Agglütinasyon Test (MAT) (7, 10-13) ve Lateks Agglütinasyon Test (LAT) (10, 26) ile çalışılmıştır. Ayrıca tavuklarda deneysel olarak da toksoplazmosis meydana getirilmiştir (3, 4, 8, 10, 17-19).

Türkiye'de çeşitli araştırmacılar tarafından SFDT, IHA ve LAT kullanılarak tavuklarda toksoplazmosisin tespiti amacıyla araştırmalar yapılmış, bu parazitle enfeksiyonların değişik illerdeki seroprevalansının %0-14,66 arasında değiştiği gözlenmiştir (2, 6, 16, 24, 27).

Bu çalışma ile Konya yöresindeki yumurta tavuğu işletmelerinde Sabin-Feldman Boya Testi ile *Toxoplasma gondii* spesifik antikorlarının araştırılması amaçlanmıştır.

## GEREÇ VE YÖNTEM

Bu çalışmanın materyalini Aralık 2004-Mart 2005 tarihleri arasında Konya'da yumurta tavuğu yetiştiren işletmelerden alınan 25'i 13 haftalık, 23'ü 21 haftalık, 37'si 23 haftalık, 22'si 27 haftalık, 50'si 30 haftalık, 41'i 33 haftalık, 16'sı 35 haftalık, 24'ü 41 haftalık, 10'u 50 haftalık, 12'si 60 haftalık, 15'i 70 haftalık ve 12'si 100 haftalık olmak üzere toplam 287 adet yumurta tavuğu oluşturmuştur. Tavuklardan tekniğine uygun olarak alınan kan örnekleri laboratuvarda oda sıcaklığında 4000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edilerek serumları çıkarılmıştır. Elde edilen serumlar test edilinceye kadar -20 °C'de saklanmışlardır. Sabin-Feldman Boya Testi (SFDT), Ankara Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığı Salgın Hastalıklar Araştırma Müdürlüğü Parazitoloji Laboratuvarında tekniğine uygun olarak canlı antijen ve metilen mavisi boyamaları ile yapılmıştır (14).

Aktivatör serum olarak, *T. gondii* antikorlu olmayan ve magnezyum, properdin, C<sub>2</sub>, C<sub>3</sub>, C<sub>4</sub> gibi faktörlerden zengin insan serumu ve canlı antijen olarak, *T. gondii* RH suşunun farelerin periton sıvısından elde edilen 48 saatlik pasajları kullanılmıştır. Testten önce -20 °C'den çıkarılan serumlar 56 °C'de 30 dakika inaktive edildikten sonra, serum fizyolojik ile 1/4, 1/16, 1/64, 1/256 ve 1/1024 olarak sulandırılmış ve bu sulandırmalardan 25 µl yan tüplere geçilmiştir. Canlı *T. gondii* takizoitleri 25 µl aktivatör serum içerisinde ışık mikroskopunda X400 büyütmede her sahada ortalama 25 adet olacak şekilde ayarlanmış ve yan tüplerdeki serum sulandırmaları üzerine ilave edilmiştir. Tüpler, 37 °C su banyosunda 50 dakika inkübasyona bırakılmıştır. Aynı miktar alkali metilen mavisi (9.73 ml %0,53 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0.27 ml %1.91 Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>.10H<sub>2</sub>O+25 mg metilen mavisi) konulduktan sonra, 37 °C'lik su banyosunda 10 dakika bekletilmiş ve ışık mikroskopuyla X400 büyütmede *T. gondii* takizoitlerinin boya alma durumlarına göre değerlendirilmiştir. Bir mikroskop sahasında bulunan takizoitlerden % 50'sinden fazlasının boya almadığı sulandırmalar toxoplasmosis yönünden pozitif olarak kabul edilmiştir (14).

## BULGULAR

*Toxoplasma gondii* spesifik antikorlarının araştırılması amacıyla 287 tavuk serumu örneği SFDT ile incelenmiş ve 70 haftalık 1 tavuk (%0,34) 1/16 titrede seropozitif bulunmuştur.

## TARTIŞMA

Kanatlılarda toksoplasmosis genellikle subklinik seyirli olup (3, 4, 9, 17-19, 21), doğal veya deneysel enfekte kanatlılarda nadiren klinik toksoplasmosis görüldüğü bildirilmiştir (4, 5, 18, 22). Tavukların klinik toksoplasmosisinde titreme, spazm ve paraliz gibi özgül olmayan sinirsel fonksiyon bozuklukları, iridosiklitis, kataraktla birlikte körlüklerin ve hatta ölümlerin görüldüğü; beyin ve gözlerinin histolojik incelemesinde gözlerde chorioretinitis saptanmasına karşılık *T. gondii* izole edilemediği kaydedilmiştir (19, 22).

Bazı araştırmacılar (9, 10, 17), enfekte tavukların beyin, kalp,

ovaryum ve oviductlarında diğer organlara göre daha yaygın *T. gondii* bulunduğunu ileri sürmüşlerdir. Dubey (8), ABD'de yaptığı araştırmada şüpheli 11 tavuğun 3'ünün kalp ve beyininden bioassay yöntemi ile *T. gondii*'yi izole ettiğini belirtmiştir. Bir diğer araştırmada, Dubey ve ark. (10) farklı dozlarla enfekte ettikleri tavuklarda MAT, LAT, IHA, ELISA ve SFDT ile antikor aramışlar, MAT ve ELISA ile inokulasyonun 2. haftasında özgül antikorları tespit ettiklerini ve antikorların 68. güne kadar devam ettiğini bildirmişlerdir. Araştırmacılar (10), LAT ve IHA testlerinin *T. gondii*'ye karşı oluşan antikorların saptanmasında yeteri kadar duyarlı olmadığını SFDT'nin ise yalnızca düşük titrelerde pozitif reaksiyon verdiğini ve inokulasyonun 55. gününde anti-*T. gondii* antikorlarının tespit edilemediğini kaydetmişlerdir. Kaneto ve ark. (19), deneysel olarak enfekte edilen tavukların beyin, retina, dalak, pankreas, kalp, proventrikulus, karaciğer, böbrek, bağırsaklar, kaslar ve akciğerlerinde *T. gondii* izole ettiklerini ileri sürmüşlerdir. Jacobs ve Melton (17) ise, 62 tavuktan 12'sinin beyin, göğüs ve bacak kasları, ovaryum, oviduct, kaslı mide ve bağırsaklarından *T. gondii*'yi izole ettiklerini, ayrıca *T. gondii*'nin enfekte tavukların yumurtalarında ve etlerinde de bulunmasından dolayı enfeksiyon kaynağı olabileceğini belirtmişlerdir.

Biancifiore ve ark. (3), deneysel olarak yaptıkları araştırmada 5.000 ve 50.000 *T. gondii* oocysti ile enfekte edilen tavuklarda klinik bulgulara rastlamadıklarını ancak, inokulasyonun 7 ve 15. günlerinde beyin, kalp, karaciğer, dalak ve akciğerlerinden, inokulasyonun 40. gününde ise yalnızca beyin ve kalpten *T. gondii* izole edildiğini bildirmişlerdir.

Değişik ülkelerde tavuk toksoplasmosisinin serolojik testlerle de teşhisi yapılmış olup (1, 3, 7, 10-13, 15, 26, 28) bunların arasında en duyarlı testin MAT olduğu ileri sürülmüştür (7, 10, 13). Mısır'da 108 tavuk serumunun %47,2'sinde, Hindistan'da 185 tavuk serumunun %39,5'inde, ABD'de 118 tavuk serumunun 20'sinde ve Meksika'da 208 tavuk serumunun %6,2'sinde MAT ile *Toxoplasma* antikorları tespit edilmiştir (7, 11-13).

İndirekt hemaglutinasyon testi ile anti-*T. gondii* antikorlarına tavukların %2,9-44,8'inde rastlandığı belirtilmiştir (1, 15, 28). Agango ve Belina (1), Nijerya'da 250 yerli ırk tavuğun serum örneklerini IHA testi ile incelemişler ve bu serumların %44,8'inde pozitif sonuca ulaşmışlardır. Zhang (28), IHA ile yaptığı çalışmada tavuklarda toksoplasmosis prevalansını %2,9 olarak belirlemiştir. Ghorbani ve ark. (15), 74 tavuğun %27'sinde IHA testi ile anti-*T. gondii* antikorlarını saptamışlardır.

Pakistan'da evcil hayvanlarda *Toxoplasma gondii* seroprevalansını LAT ile araştıran Zaki (26), 64 tavuğun hiç birinde anti-*Toxoplasma* antikorlarını bulamadığını belirtmiştir. Meireles ve ark. (20), Brezilya'da entansif olarak yetiştirilen 185 tavukta ELISA ile yaptıkları araştırmada *Toxoplasma gondii* seropozitifliği tespit edilemediğini rapor etmişlerdir.

Türkiye'de tavuklarda *Toxoplasma gondii* ile ilgili ilk serolojik çalışma Saraçoğlu ve ark. (24) tarafından Ankara

Tavukçuluk Araştırma Enstitüsü'nde yapılmıştır. Bu çalışmada toplam 60 tavuğa ait serum örneklerini IHA testi ile inceleyen araştırmacılar seropozitiflik tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Bunu takiben Zeybek ve ark. (27), Ankara yöresinde 266 köy tavuğunun 39'unda (%14,66) SFDT ile, 20'sinde (%7,5) LAT ile *T. gondii* antikorunu saptamışlardır.

Türkiye'nin çeşitli illerinde halk elinde geleneksel olarak yetiştirilen toplam 300 evcil kanatlıda SFDT ile *T. gondii* seropozitifliğini araştıran İnci ve ark. (16), 140 tavuktan 3'ünde (%2,14) seropozitiflik kaydetmişlerdir. Marmara Bölgesi damızlık işletmelerinde yetiştirilen tavuklarda anti-*T. gondii* antikorlarını SFDT ile değerlendiren Bıykoğlu ve ark. (2), 160 tavuk serumunda seropozitiflik tespit edemediklerini bildirmişlerdir. Çiçek ve ark. (6) Afyon'da 328 yumurta tavuğundan topladıkları serum örneklerinde *T. gondii* antikorlarını SFDT ile araştırmışlar ve 2 tavukta (%0,6) seropozitif olguya rastlamışlardır. Bu çalışmada ise, Konya'da yumurta tavuğu yetiştirilen işletmelerden toplanan 287 tavuğun kan örnekleri SFDT ile çalışılmış ve 1 tavuk (%0,34) *T. gondii* yönünden seropozitif bulunmuştur. Sonuç olarak bu çalışma ile, Konya yöresi yumurta tavuklarında SFDT ile toksoplazmosisin varlığı araştırılmış, sadece 70 haftalık bir tavukta seropozitiflik saptanmış ve yayılış oranı %0,34 olarak belirlenmiştir.

#### KAYNAKLAR

1. **Agango AD, Belino ED**, 1984. Toxoplasmosis in local breed of chicken in Zaira, Nigeria. *Int J Zoonoses.*, 11:170-172.
2. **Bıykoğlu G, Kılıç S, Babür C, Ayçiçek H**, 2002. Marmara Bölgesi damızlık işletmelerinde yetiştirilen tavuklarda anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının araştırılması. *Türkiye Parazitoloj Derg.*, 26 :355-357.
3. **Biancifiore F, Rondini C, Grelloni V, Frescura T**, 1986. Avian toxoplasmosis:experimental infection of chicken and pigeon. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis.*, 9 :337-346.
4. **Bickford AA, Saunders JR**, 1966. Experimental toxoplasmosis in chickens. *Am J Vet Res.*, 27:308-318.
5. **Boehringer EG, Fornari OE, Boehringer IK**, 1962. The first case of *Toxoplasma gondii* in domestic ducks in Argentina. *Avian Dis.*, 6:391-396.
6. **Cicek H, Babur C, Kilic S, Cakmak A**, 2004. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Afyon, Turkey. *Indian Vet J.*, 81:1091-1092.
7. **Devada K, Anandan R, Dubey JP**, 1998. Serologic prevalence of *Toxoplasma gondii* in chickens in Madras, India. *J Parasitol.*, 84:621-622.
8. **Dubey JP**, 1981. Epizootic Toxoplasmosis associated with abortion in dairy goats in Montana. *JAVMA*, 178:661-670.
9. **Dubey JP, Beattie CP**, 1988. Toxoplasmosis of Animals and Man, Boca Raton, Florida CRC Press Inc, USA.
10. **Dubey JP, Ruff MD, Camargo ME, Shen SK, Wilkins GL, Kwok OC, Thuillez P**, 1993. Serologic and parasitologic responses of domestic chickens after oral inoculation with *Toxoplasma gondii* oocysts. *Am J Vet Res.*, 54 :1668-1672.
11. **Dubey JP, Graham DH, Dahl E, Sreekumar C, Lehmann T, Davis MF, Morishita TY**, 2003. *Toxoplasma gondii* isolates from free-ranging chickens from the United States. *J Parasitol.*, 89:1060-1062.
12. **Dubey JP, Morales ES, Lehmann T**, 2004. Isolation and genotyping of *Toxoplasma gondii* from free-ranging chickens from Mexico. *J Parasitol.*, 90:411-413.
13. **El-Massry A, Mahdy OA, El-Ghaysh A, Dubey JP**, 2000. Prevalence of *Toxoplasma gondii* antibodies in sera of turkeys, chickens and ducks from Egypt. *J Parasitol.*, 86:627-628.
14. **Feldman HA, Lamb GA**, 1966. A micromodification of the Toxoplasma Dye Test. *J Parasitol.*, 52: 415.
15. **Ghorbani M, Gharavi MJ, Kahnemoui A**, 1990. Serological and parasitological investigation on *Toxoplasma* infection in domestic fowls in Iran. *Iran J Public Health.*, 19:9-17.
16. **İnci A, Babür C, Dinçer Ş, Erdal N**, 1998. Türkiye'nin bazı illerinde evcil kanatlılarda Sabin-Feldman boya testi ile anti-*Toxoplasma gondii* antikorlarının saptanması. *Türkiye Parazitoloj Derg.*, 22:420-423.
17. **Jacobs L, Melton ML**, 1966. Toxoplasmosis in chickens. *J Parasitol.*, 52:1158-1162.
18. **Jones FE, Melton ML, Lunde MN, Eyles DE, Jacobs L**, 1959. Experimental toxoplasmosis in chickens. *J Parasitol.*, 45:31-37.
19. **Kaneto CN, Costa AJ, Paulillo AC, Moraes FR, Murakami TO, Meireles MV**, 1997. Experimental toxoplasmosis in broiler chicks. *Vet Parasitol.*, 69:203-210.
20. **Meireles LR, Galisteo AJ, Andrade HF**, 2003. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in food animals from São Paulo state, Brazil. *Braz J Vet Res Anim Sci.*, 40:267-271.
21. **Miller NL, Frenkel JK, Dubey JP**, 1972. Oral infections with *Toxoplasma* cysts and oocysts in felines, other mammals, and in birds. *J Parasitol.*, 58:928-937.
22. **Ostendorf J, Henderson W**, 1962. Toxoplasmosis in chickens. In:Proceedings. 12<sup>th</sup> World's Poultry Congress, Sydney, Australia.
23. **Roberts LS, Janovy J**, 1996. Foundations of Parasitology. 5<sup>th</sup> Ed. Times Mirror Higher Education Group, Inc, USA.
24. **Saraçoğlu F, Sayıl T, Aslan A**, 1995. Tavuklarda *Toxoplasma* antikorları taraması. I. Ulusal Toxoplasma Kongresi. 13-15 Ekim, Ankara, Türkiye.
25. **Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM**, 2000. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *Int J Parasit.*, 30:1217-1258.
26. **Zaki M**, 1995. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic animals in Pakistan. *J Pak Med Assoc.*, 45:4-5.
27. **Zeybek H, Dündar B, Altuntaş K, Güngör Ç**, 1997. Ankara yöresi tavuklarında *Toxoplasma gondii*'nin seroprevalansı. *Etlik Vet Mikrob Derg.*, 9:91-98.
28. **Zhang GN**, 1989. Epidemiological study on *Toxoplasma* infection in human beings and animals in Shandong Province. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi*, 10:30-33.