زیست‌شناسی جانوری، سال سیزدهم، شماره دوم، زمستان ۹۹، صفحات ۴۸- ۳۹

مقاله پژوهشی

تشخیص ژن B1 *توکسوپلاسما گوندی* در گوسفندان کشتار شده اصفهان با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای

حمید رئیس‌زاده[۱]، عبدالله جمشیدی[۱]، وحید نعمان[۲*]، غلامرضا رزمی[۳]

۱- گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲- بخش تحقیقات بیماری‌های انگلی، موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرج، ایران

۳- گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*مسئول مکاتبات: vnoaman@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰٤/۲۹ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۷/۲۵

چکیده

توکسوپلاسما گوندی یکی از عوامل بیماری‌زای مشترک انسان و دام است که با منشأ غذا می‌تواند انسان را آلوده کند. در ایران مصرف گوشت گوسفند نسبت به سایر منابع پروتئین حیوانی از محبوبیت بیشتری برخوردار است. ازآنجایی‌که معمولاً قلب گوسفند به‌صورت نیم‌پز و کبابی مصرف می‌شود انتقال توکسوپلاسما از طریق مصرف قلب گوسفند بیشتر رخ می‌دهد. از طرفی با توجه به اینکه تراکم کیست‌های انگل در بافت مغز و قلب بیشتر از سایر ارگان‌های خوراکی است، در این مطالعه از نمونه‌های قلب گوسفندان استفاده‌شده است. در مطالعه اخیر به‌منظور ردیابی توکسوپلاسما در قلب گوسفندان کشتار شده در اصفهان ۲۵۰ نمونه قلب گوسفند در طی یک سال در فصول مختلف از جنس و سن‌های متفاوت جمع‌آوری شد و پس از استخراج DNA انگل، با دو جفت پرایمر مربوط به ژن B1 به شناسایی این انگل با روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای پرداخته شد. نتایج نشان داد ۷۸٪ نمونه‌ها به‌طورکلی آلوده به *توکسوپلاسما گوندی* بودند. در این مطالعه رابطه معنی‌داری بین درصد آلودگی و سن و جنس وجود نداشت اما میزان آلودگی در فصول سرد به‌طورمعنی‌دار بیشتر از فصول گرم بود. از آنجا که بقای این انگل در برودت هوا و رطوبت بالا بیشتر می باشد بنابراین در فصول سرد امکان مواجه گوسفندان با اووسیست انگل افزایش یافته و آلودگی در فصول سرد بیشتر است. با توجه به نقش این بیماری در تلفات و سقط‌جنین گوسفند و اهمیت بهداشت عمومی آن، باید برنامه‌های کنترلی مناسب جهت پیشگیری از این بیماری مشترک در سطح استان در سیاست‌های دامپزشکی گنجانده شود.

کلمات کلیدی: *توکسوپلاسما گوندی*، گوسفند، واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای، اصفهان.

مقدمه

توکسوپلاسموزیس یکی از بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوانات است که در بین جوامع انسانی و دامی می‌تواند باعث عوارض خطرناک سقط جنین، کوری و اختلالات عصبی شود (۱٦). *توکسوپلاسما گوندی* اخیراً به‌عنوان دومین عامل بیماری‌زای خطرناک منتقله از غذا در آمریکا

شناخته‌شده است و هزینه‌های سربار به‌واسطه ایجاد ناتوانی در طول زندگی بر بیمار تحمیل می-کند (۲۵).

در صورتی‌که بافت‌های آلوده به انگل توسط انسان مصرف شود، کیست‌ها در طول دوران زندگی میزبان باقی می‌مانند و فرد تا پایان عمر قابلیت انتقال بیماری را دارد (۱۵). شایع‌ترین راه مواجه با *توکسوپلاسما گوندی*خوردن گوشت خام یا خوب پخته نشده حاوی کیست‌های برادی‌زوئیت، یا مصرف غذاهای نشسته آلوده با اووسیست‌های پایدار محیطی است (۱۵).

طبق آمار منتشرشده توسط سازمان بهداشت جهانی و سازمان غذا و دارو توکسوپلاسموزیس همچنین به‌عنوان یک مشکل مهم بهداشت عمومی مطرح است تا جایی که در آمریکا ۲۲-۸ درصد مردم با عفونت توکسوپلاسمایی درگیرند، آمار شیوع مشابهی نیز از درگیری با *توکسوپلاسما گوندی* در میان جمعیت انگلستان مشاهده می‌شود (۱۱،۱۷). در ایران نیز در مطالعه نظام‌مندی که درزمینه اپیدمیولوژی توکسوپلاسموزیس انجام شد، شیوع عفونت در مناطق معتدل و مرطوب شمال ایران در سنین پائین حدود ۷۰ درصد، در مناطق سردسیر و کوهستانی شمال غرب و غرب ایران شیوع کلی بیماری در حد ۸ تا ۳۸ درصد، در مناطق معتدل و خشک کوهپایه‌ای غرب ایران حدود ۳۳ تا ٦٨ درصد، در مناطق گرم و خشک مرکزی ایران در حد ۳۹ درصد و در مناطق گرم و مرطوب جنوب ایران شیوع بیماری در حد ۳۰ تا ۳۵ درصد گزارش‌شده است. به‌طورکلی شیوع سرمی توکسوپلاسموزیس در میان جمعیت عمومی مردم در ایران حدود ۳۹/۳ درصد گزارش شده است (۷). میزان شیوع *توکسوپلاسما گوندی* در جمعیت گاوهای ایران با بررسی مطالعات انجام‌شده از سال ۱۹۸۳ تا ۲۰۱۳ حدود ۱۸/۱ درصد تخمین زده‌شده است (۲٤).

در بررسی مشابهی که بر روی مطالعات انجام‌شده در خصوص شیوع *توکسوپلاسما گوندی* در جمعیت گوسفند و بز ایران از سال ۱۹۷۷ تا ۲۰۱۲ انجام‌گرفته است، میزان شیوع توکسوپلاسموزیس در گوسفند حدود ۳۱ درصد و در بز حدود ۲۷ درصد تخمین زده‌شده است (۲٦). در مطالعاتی که زیر نظر سازمان بهداشت جهانی انجام‌شده توکسوپلاسموزیس به‌عنوان یکی از مهم‌ترین شش انگل بیماری‌زای منتقله از غذا طبقه‌بندی‌شده است و مواد غذایی تازه به‌عنوان دومین ناقل خطرناک توکسوپلاسموزیس شناخته شده‌اند. در بین روش‌های مختلف PCR، رونوشت‌برداری معکوس (RT-PCR)، آشیانه‌ای (nested-PCR)، چندگانه (Multiplex PCR) و زمان واقعی (real-time PCR) بیشترین موارد استفاده را دارند (١٦). برای افزایش حساسیت PCR معمولی، روش nested-PCR توسعه پیدا کرده است. روش یادشده به دلیل استفاده از پرایمرهای بیشتر، ویژگی بسیار بالایی برای تکثیر ژن فراهم می‌کند (١٤).

ژن B1 برای *توکسوپلاسما گوندی* بسیار اختصاصی است و ۳۵ کپی از این ژن در ژنوم *توکسوپلاسما گوندی* تکرار شده است. لذا برای ردیابی این انگل در نمونه‌های بافتی کلینیکی و خون بسیار اختصاصی عمل می‌کند و به‌عنوان ژن هدف*توکسوپلاسما گوندی* کاربرد دارد.

با توجه به عوارض و ضایعات جبران‌ناپذیر عفونت توکسوپلاسموزیس بر جمعیت انسانی و خسارات سنگین اقتصادی به سرمایه‌های ملی کشور، شناسایی و جداسازی عامل بیماری در مهم‌ترین غذاهای روزمره مورد مصرف جامعه که

اتفاقاً از مهم‌ترین منابع انتقال آلودگی توکسوپلاسمایی به انسان نیز می‌باشند، در دستیابی به چهره واقعی بیماری و همچنین برنامه‌ریزی جهت کنترل انتقال بیماری از طریق مواد غذایی امری ضروری است. هدف این تحقیق بررسی فراوانی *توکسوپلاسما گوندی* در گوشت گوسفند با استفاده از ژن B1 و روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای در شهرستان اصفهان می‌باشد.

مواد و روش‌ها

جمع‌آوری نمونه: به منظور مطالعه بر روی نمونه‌های قلب گوسفند از ٤ کشتارگاه تأمین‌کننده گوشت شهر اصفهان نمونه‌گیری به‌صورت تصادفی با ثبت سن و جنس دام و فصل نمونه-گیری، انجام شد. تعداد ۲۵۰ نمونه در ٤ فصل سال از عضله قلب گوسفندان ارجاعی به کشتارگاه اخذ شد (۱۳، ۲۳).

آماده‌سازی نمونه: ۲۵ گرم از هر نمونه (فاقد چربی یا بافت پیوندی) به قطعات کوچک تقسیم شد. چاقو یا وسیله‌ای که با آن گوشت بریده می‌شدبه‌منظور جلوگیری از آلودگی متقاطع با آب داغ و صابون شسته شده و با DNAzap (Ambion, Austin, TX) تمیز شد. سپس قطعات خردشده گوشت به مخلوط‌کن فیلتر دار منتقل شدند و پس از اضافه کردن محلول TN حاوی (20mM TRIS-HCl, 0.4 M NaCl, pH 7.4) هموژن شده و پس‌ازآن برای ۵ دقیقه در دمای اتاق با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (۱۳).

استخراج DNA: با استفاده از کیت استخراج بافت MBST (Molecular and Biological System transfer) ساخت شرکت MBST ایران طبق پروتکل شرکت تولیدکننده انجام شد.

آزمایش مولکولی به روش Nested-PCR به‌وسیله ژن B: برای آزمایش PCR از روش Nested-PCR به‌منظور تکثیر بخشی از ژن B1 با استفاده از ۲ جفت پرایمر که توسط شیاپچالارد و همکاران در سال ۲۰۰۵ طراحی‌شده بود، استفاده شد (جدول ۱). بدین منظور از DNA استخراج‌شده از تاکی‌زوئیت‌های سویه RH اخذشده از دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. در این آزمایش از کیت‌های Accupower PCR pre mix (Bioneer, SouthKorea) استفاده گردید. از هر dNTPs ۲۵۰ میکرومول، Tris-C1PH9.0 به میزان ۱۰ میلی مول، کلرید پتاسیم ۳۰ میلی مول، کلرید منیزیم ۱/۵ میلی مول، ۱ واحد آنزیم Taqپلیمراز، ۱ میکرولیتر از نمونه DNA با غلظت۲۵۰-۵۰۰ ng و ۱۰ pmol از هر پرایمر (شرکت دنا زیست، ایران) در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر استفاده شد. سپس تیوپ‌ها در ترموسایکلر بیورد (BioRad thermocycler) با برنامه ذیل برای اولین PCR قرار داده شد: ۹٤ درجه سانتی‌گراد برای ۳ دقیقه، ٤۰ سیکل ۹٤ درجه سانتی‌گراد برای ۱ دقیقه ٥٦ درجه سانتی گراد٤٥ ثانیه و ۷۲ درجه سانتی‌گراد برای ٤٥ ثانیه و در انتها ۷۲ درجه به مدت ۷ دقیقه. محصول PCR در آگارز ۱/۵ درصد برای حضور باند ۲۸۷ pb رانده شد و در هر PCR نمونه کنترل مثبت و کنترل منفی قرار داده شد. تمامی محصولات PCR اولیه بدون توجه به حضور قطعه تکثیری ۲۸۷ جفت بازی برای PCR دوم آماده‌سازی شدند. محصول PCR اولیه به نسبت ۱:۱۰ با آب مقطر استریل رقیق گردید و تمامی مراحل Nested-PCR، مشابه PCR اولیه، به‌جز دمای اتصال پرایمر که به ٥٤درجه سانتی گراد و تعداد سیکل‌ها که به ۳۰ تغییر داده‌شده

تکرار گردید. سپس محصول Nested-PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای حضور باند pb ۱۹٤ رانده شد.

جدول ۱- پرایمرهای استفاده در تکثیر ژن B1 *توکسوپلاسما گوندی*

نام پرایمر	توالی (۳'–۵')	طول قطعه تکثیر شونده(جفت بازی)
B1F1	5´- TCAAGCAGCGTATTGTCGAG -3´	۲۸۷
B1R1	5´- CCGCAGCGACTTCTATCTCT -3'	
B1F2	5´- GGAACTGCATCCGTTCATGAG -3´	۱۹٤
B1R2	5´- TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC -3´	

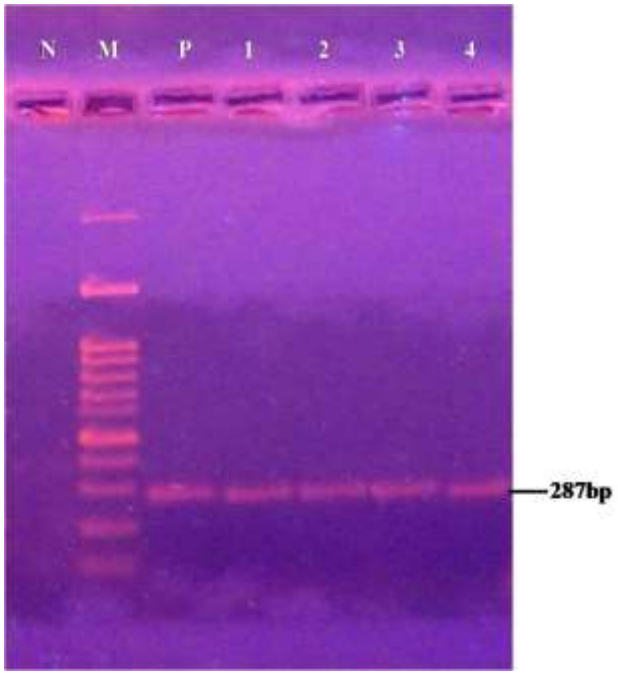
نتایج

آزمایش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای (Nested-PCR) نمونه‌های قلب گوسفند: در این مطالعه با تکثیر قطعه ۲۸۷ و ۱۹٤ جفت بازی ژن B1 *توکسوپلاسما گوندی* در PCR دومرحله‌ای میزان فراوانی آلودگی به *توکسوپلاسما گوندی* در ۲۵۰ نمونه قلب جمع‌آوری شده از گوسفندان کشتار شده در ٤ فصل طی سال‌های ۱۳۹٦ تا ۱۳۹۷ و در دو جنس نر و ماده و در سنین مختلف کشتار مورد بررسی قرار گرفت. از مجموع ۲۵۰ نمونه قلب گوسفندان نمونه‌برداری شده در کشتارگاه دام شهر اصفهان، در تعداد ۱۹۵ نمونه قلب (۷۸ درصد) با روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، قطعه ۲۸۷ جفت بازی از ژن B1 انگل *توکسوپلاسما گوندی* در مرحله اول و قطعه ژن ۱۹٤ جفت بازی از ژن B1 انگل *توکسوپلاسما گوندی* در مرحله دوم تکثیر شد که نشان‌دهنده فراوانی ۷۸ درصد آلودگی در نمونه‌های جمع‌آوری‌شده است(شکل۱ و ۲).

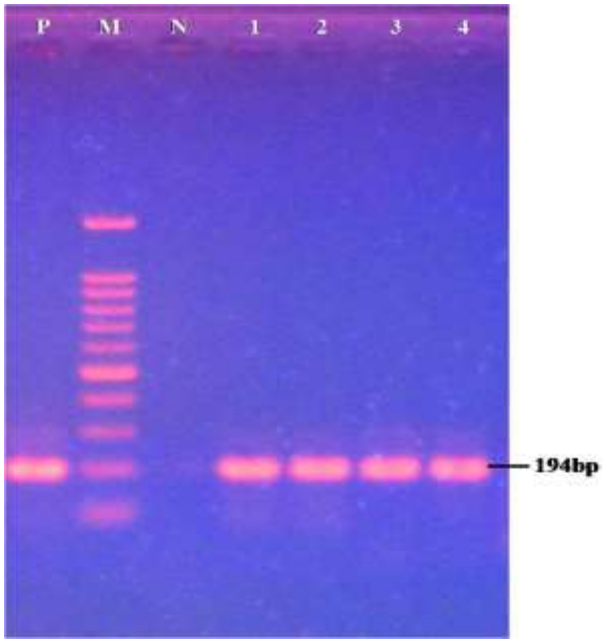
ارتباط بین فصل و آلودگی با *توکسوپلاسما گوندی*: میزان آلودگی توکسوپلاسما در گوسفندان کشتاری شهر اصفهان بر حسب فصل کشتار در جدول ۲ خلاصه شده است. میزان آلودگی در فصل سرد بیشترین درصد و در فصل گرم کمترین درصد گزارش گردید که تفاوت معنی‌داری بین فراوانی میزان آلودگی به توکسوپلاسما در فصول سرد و گرم مشاهده گردید ($p < ۰/۰۵$).

ارتباط بین سن و آلودگی با *توکسوپلاسما گوندی*: در این مطالعه تفاوت معنی‌داری بین دو گروه مختلف سنی گوسفندان نمونه‌گیری شده (کمتر از یک سال و بیشتر از یک سال) ازنظر میزان آلودگی با توکسوپلاسما با آنالیز آماری مربع کای مشاهده نگردید (جدول ۲).

ارتباط بین جنس و آلودگی با*توکسوپلاسما گوندی*: آنالیز داده‌ها در دو جنس نر و ماده نشان داد میزان فراوانی آلودگی توکسوپلاسما در گوسفندان ماده اختلاف معنی‌دار با گوسفندان نر ندارد (جدول ۲).



شکل ۱- محصول تکثیر باند ۲۸۷ bp ژن B1 توکسوپلاسما در آزمایش مرحله اول Nested-PCR، M مارکر مولکولی ۱۰۰ bp plus، N کنترل منفی،P کنترل مثبت، ۱-٤ محصول تکثیر باند ۲۸۷ bp ژن B1 توکسوپلاسما در آزمایش PCR.



شکل ۲- M مارکر مولکولی ۱۰۰ bp plus، N کنترل منفی،P کنترل مثبت، ۱-٤ نمونه‌های مثبت تکثیر باند ۱۹٤ bp مرحله دوم Nested-PCR با ژن B1.

جدول ۲- رابطه آلودگی گوسفندان کشتار شده اصفهان به *توکسوپلاسما گوندی* با روش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای و متغیرهای مورد بررسی در طول یک سال ($p < ۰/۰۵$*)

متغیر		توکسوپلاسما گوندی (مثبت)		توکسوپلاسما گوندی (منفی)		شاخص آزمون مربع کای	درجه آزادی	p
		فراوانی	درصد	فراوانی	درصد			
فصل	فصل سرد	۱۱۵	۸۶/۵	۱۸	۱۳/۵	۹/۹۹۸	۱	۰/۰۰۲*
	فصل گرم	۸۲	۷۰/۱	۳۵	۲۹/۹			
سن	۱> سال	٤۱	۷۵/۲	۲٦	۲٤/۸	۰/۳٤۱	۱	۰/۵۵۹
	۲-۱ سال	۱۵۹	۸۱/٤	۲۷	۱۸/٦			
جنس	ماده	۷۹	۸٦/۵	۱۸	۱۳/۵	۱/۳۷۵	۱	۰/۲٤۱
	نر	۱۱۸	۷۰/۱	۳۵	۲۹/۹			

بحث

توکسوپلاسموزیس مقام سوم بیماری‌های انگلی با منشأ غذا را در اروپا به خود اختصاص داده است و به نظر می‌رسد ۲۰ درصد تمام بیماری‌های غذایی با همین عامل ایجاد می‌گردد (۱۲).

۳۵۰ گونه حیوانات خونگرم به‌عنوان میزبان توکسوپلاسما شناخته‌شده‌اند (۲۷). گوسفند یکی از میزبان‌های واسط مهم برای این انگل محسوب می‌شود که کیست‌های انگلی در عضلات، قلب و مغز این حیوان به‌کرات مشاهده و گزارش‌شده است. از آنجایی‌که در بین منابع پروتئینی، گوشت گوسفندی در فرهنگ تغذیه‌ای ایرانی، اهمیت و محبوبیت بیشتری دارد و بیشتر از سایر گوشت‌های قرمز مورداستفاده قرار می‌گیرد امکان آلودگی افراد از طریق مصرف گوشت گوسفند افزایش می‌یابد (۲). لذا با توجه به اینکه گوسفندیکی از مهم‌ترین میزبان‌های واسط *توکسوپلاسما گوندی* است وانسان ازطریق مصرف گوشت نیمه‌پخته یاخام آلوده به انگل، مبتلابه عفونت می‌گردد و از طرفی، یکی ازمنابع اصلی تأمین گوشت کشورمان گوسفند است که می‌تواند عامل مهمی برای انتقال انگل به انسان باشد؛ بنابراین دراین مطالعه گوسفند به‌عنوان یکی ازمیزبان‌های اصلی توکسوپلاسموزیس نمونه‌گیری شد. یکی از بافت‌هایی که در گوسفند اهمیت بیشتری در انتقال توکسوپلاسما به انسان دارد قلب است. مطالعات مربوط به تمایل بافتی توکسوپلاسما در ارگان‌های مختلف نشان داده‌اند که تراکم کیست‌های انگلی توکسوپلاسموزیس در قلب بسیار بیشتر از سایر بافت‌ها و حتی بیشتر از مغز است (۸). لذا در مطالعه اخیر از نمونه‌های قلب برای ارزیابی آلودگی توکسوپلاسما در گوسفند استفاده شد. در مطالعه اخیر از مجموع ۲۵۰ نمونه قلب گوسفندان نمونه‌برداری شده در کشتارگاه دام شهر اصفهان، در تعداد ۱۹۵ نمونه قلب (۷۸ درصد) با روش مولکولی واکنش زنجیره‌ای پلیمراز آشیانه‌ای ژن B1 انگل *توکسوپلاسما گوندی* تشخیص داده شد. توکسوپلاسموزیس در گوسفند، در ایران عمدتاً باروش‌های سرولوژیک مورد ارزیابی قرارگرفته است. نتایج مطالعه متاآنالیز اخیرنشان داده است

که شیوع سرمی توکسوپلاسموزیس در گوسفندان مناطق مختلف ایران ۳۱ درصد هست که باتوجه به شرایط مختلف آب وهوایی ایران بیشترین شیوع دراستان مازندران (۹۱ درصد) (۳) وکمترین شیوع دراستان خراسان (۵/۳ درصد) (۲۹) گزارش شده است. شیوع سرولوژیک *توکسوپلاسما گوندی* در گوسفند در نقاط مختلف جهان حدود ۳۰ درصد گزارش‌شده است که این امرتاحدود زیادی به شرایط آب وهوایی ونوع پرورش دام وابسته است (۹).

علاوه بر مطالعات سرولوژیک، اخیراً توجه بیشتری به ردیابی ژنومی این انگل در گوشت و بافت‌های خوراکی دیگر مورد توجه قرارگرفته است. با این وجود شیوع عفونت فعال درگوسفند حدود ۱۵ درصد گزارش‌شده است(۱۵).

دراین رابطه، نتایج یک مطالعه متاآنالیز که بابررسی شیوع *توکسوپلاسما گوندی* براساس روش مولکولی باتزریق به موش انجام‌شده است نشان داد که شیوع انگل در بافت‌های گوسفند ۱٤/۷ درصد در نقاط مختلف جهان می‌باشد (۱۵). مطالعه‌ای در استان فارس با بررسی بافت‌های مغز، زبان، کبد، عضلات گردن و ران در ٥٦ گوسفند و ۲۲ بز به وسیله PCR، آلودگی۳۷ درصدی گوسفندان و۲۲ درصدی بز را به *توکسوپلاسما گوندی* نشان داد. بیشترین بافت‌های آلوده نیز زبان ۲۱/۸ درصد و مغز ۱۹/۲ درصد گزارش شدند (۳).

بافت‌های مغز، زبان، کبد و عضلات ران ۵۰ گوسفند در مطالعه دیگری دراستان چهارمحال و بختیاری به وسیله Nested-PCR به‌منظور تشخیص توکسوپلاسموزیس بررسی گردید. آلودگی در بافت‌های عضله ران ۲۸ درصد، مغز ۳۲ درصد، کبد ۳۰ درصد و زبان ۱٦ درصد گزارش شد (٤).

در بررسی دیگری در ارومیه خون ۱۲٤ بز و ۱۱۳ گوسفند به وسیله PCR آزمایش شد که در آن بررسی، ۳ نمونه گوسفند (۱/۲٦ درصد) از نظر توکسوپلاسما مثبت تشخیص داده شدند (۲۸). علاوه بر آن، بررسی مولکولی ۵۰ نمونه گوشت گوسفند در اهواز آلودگی ۱٤ درصدی نمونه‌ها را به *توکسوپلاسما گوندی* نشان داد (۱۹). از آنجایی که توکسوپلاسموزیس یکی از عوامل مهم سقط‌جنین در گوسفندان است بسیاری از مطالعات در زمینه توکسوپلاسموزیس در ایران محدود به شیوع این بیماری در موارد سقط‌جنین گوسفند می‌باشد (۲۰، ۲۱).

در مطالعه اخیر در مرحله اول به تشخیص مولکولی توکسوپلاسموزیس با PCR دومرحله‌ای (Nested PCR) در ۲۵۰ نمونه قلب گوسفند به عنوان یکی از حساس‌ترین بافت‌ها به تشکیل کیست توکسوپلاسما (۹) پرداخته شد.

در مطالعه حاضر شیوع مولکولی توکسوپلاسموزیس در قلب گوسفند ۷۸ درصد (۱۲۹/۲۵۰) تشخیص داده شد. در خصوص ارتباط آماری میزان آلودگی با توکسوپلاسما در سنین، فصول و جنس‌های مختلف گوسفندان، نتایج نشان می‌دهد ارتباطی بین آلودگی با توکسوپلاسما و فصول مختلف سال وجود دارد و میزان آلودگی در فصول سرد نسبت به فصول گرم بیشتر است (٨٦/٥ درصد در مقابل ۷۰/۱ درصد). مقایسه میزان آلودگی در جنس نر و ماده حاکی از درصد آلودگی بیشتر گوسفندان ماده در مقابل گوسفندان نر است که در نتایج PCR این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نیست (٨٦/٥ درصد در مقابل ۷۰/۱ درصد). همچنین درصد آلودگی در

گوسفندان مسن بیشتر از گوسفندان جوان است. به‌طوری‌که نتایج PCR نشان می‌دهد درصد آلودگی در گوسفندان کمتر از یک سال ۷۵/۲ درصد و در گوسفندان بیشتر از یک سال ۸۱/٤ درصد است اما این اختلاف ازنظر آماری معنی‌دار نیست. گزارش‌ها مختلفی وجود دارد که به بررسی ارتباط بین جنس، سن و فصل در آلودگی به توکسوپلاسما پرداخته‌اند و در اکثر این مطالعات ارتباطی بین سن، جنس و فصل مشاهده نشده است. ارمند و همکاران در سال ۲۰۱٦ به بررسی سرمی و مولکولی توکسوپلاسما در نمونه-های قلب و دیافراگم ۳۷۰ گوسفند کشتار شده در جهرم پرداختند و با گزارش حدود ۳۲ درصد آلودگی با روش PCR بیان نمودند که ارتباطی بین سن، جنس و فصل با شیوع آلودگی توکسوپلاسما وجود ندارد، اما بیشترین آلودگی در سن ۲٤-۳٦ ماهگی و عمدتاً در بهار مشاهده‌شده است (۲).

مطالعات دیگری توسط هاشمی و همکاران در لرستان (۱۳)، خضری و همکاران (۱۷) ۲۰۱۲ در کردستان و آخوندی و همکاران (۱) در شمال ایران همگی اذعان داشتند که آلودگی توکسوپلاسموزیس در جنس ماده بیشتر از نر بوده است اما ارتباط آماری مشاهده نکردند. بهر حال میزان شیوع بیماری توکسوپلاسموزیس به عواملی مانند شیوه نگهداری، نوع تغذیه، اقلیم آب و هوایی و رطوبت بستگی دارد. به نظر می‌رسد شیوع بالاتر آلودگی در فصول سردبه دلیل افزایش ماندگاری اووسیست توکسوپلاسما در رطوبت بالاتر باشد.

واندرپویج میزان شیوع توکسوپلاسموزیس را در گوسفند از ۲۰ درصد در مناطق خشک تا ۳۹ درصد در مناطق مرطوب متغیر اعلام نمود (۳۰) که نشان‌دهنده درصد شیوع بالاتر توکسوپلاسموزیس در رطوبت بیشتر است (۱).

نتیجه‌گیری

در مطالعه اخیرآلودگی بالای گوسفندان در استان اصفهان نشان دهنده آلودگی بالای محیطی است لذا لازم است جهت کنترل وپیشگیری از بیماری در دام و انسان اقداماتی مانند جلوگیری از ورود گربه ها به محوطه دامداری و منازل، حرارت دادن گوشت مصرفی (٦٦ درجه به بالا)، اجتناب از تماس با مدفوع گربه بخصوص در زنان باردار، شستن دست‌ها قبل ازخوردن غذا و بعد از دستزدن به گوشت خام و یا تماس با خاکهایی که احتمالاً آلوده به مدفوع گربه است و پرهیز از دستزدن به چشم و دهان درهنگام کارکردن باگوشت خام باید انجام شود. ازآنجایی که توکسوپلاسما می‌تواند از طریق جنینی منتقل شود، این عامل می‌تواند به نسل بعدی منتقل شود و از طرفی حتی در ماده‌ها منجر به سقط‌جنین گردد، لذا اهمیت اقتصادی و بهداشتی کنترل توکسوپلاسموزیس در گوسفندان ماده دوچندان می‌شود که لازم است اقدامات مؤثری در خصوص پیشگیری و کنترل این بیماری انجام شود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان از مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان اصفهان (سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی) به خاطر همکاری صمیمانه در انجام این پروژه تشکر و قدردانی می‌کنند.

منابع

1. Akhoundi S., Youssefi, M.R., 2017. Seroprevalence of sheep toxoplasmosis

Raton, FL: CRC Press; Taylor & Francis Group.

9. Dubey J., 2009.Toxoplasmosis in sheep—the last 20 years. *Veterinary Parasitology*, 163(1): 1-14.

10. Dubey JP. 2009. Toxoplasmosis of animals and humans: CRC press.

11. Dubey J.P., Beattie C., 1988. Toxoplasmosis of animals and man: CRC Press, Inc.

12. Fallahi S., Tabaei S.J., Pournia Y., Zebardast N., Kazemi B., 2014. Comparison of loop-mediated isothermal amplification (LAMP) and nested-PCR assay targeting the RE and B1 gene for detection of *Toxoplasma gondii* in blood samples of children with leukaemia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 79(3): 347-54.

13. Hashemi-Fesharki R., 1996. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats in Iran. *Veterinary Parasitolology*, 61(1-2): 1-3.

14. Ihira M., Akimoto S., Miyake F., Fujita A., Sugata K., Suga S., 2007. Direct detection of human herpesvirus 6 DNA in serum by the loop-mediated isothermal amplification method. *Journal of Clinical Virology*, 39(1) :22-26.

15. Jones J., Dubey J., 2012. Foodborne toxoplasmosis. *Clinical Infectious Diseases*, 55(6): 845–851.

16. Kalogianni D.P., Elenis D.S., Christopoulos T.K., Ioannou P.C., 2007. Multiplex quantitative competitive polymerase chain reaction based on a multianalyte hybridization assay performed on spectrally encoded microspheres. *Analytical Chemistry*, 79(17): 6655-61.

17. Khezri M., Mohammadian B., Esmailnia K., Khezri O., 2012. Toxoplasmosis in sheep from Kurdistan in north of Iran. *Trakia Journal of Sciences*, 1: 79-82.

2. Armand B., Solhjoo K., Shabani-Kordshooli M., Davami M.H., Sadeghi M., 2016. *Toxoplasma* infection in sheep from south of Iran monitored by serological and molecular methods; risk assessment to meat consumers. *Veterinary World*, 9(8): 850-855.

3. Asgari Q., Sarnevesht J., Kalantari M., Sadat S.J.A., Motazedian M.H., Sarkari B., 2011. Molecular survey of *Toxoplasma* infection in sheep and goat from Fars province, Southern Iran. *Tropical Animal Health and production*, 43(2): 389-92.

4. Azizi H., Shiran B., Boroujeni A.B., Jafari M., 2014. Molecular Survey of *Toxoplasma gondii* in Sheep, Cattle and Meat Products in Chaharmahal va Bakhtiari Province, Southwest of Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 9(3): 429-34.

5. Belluco S., Mancin M., Conficoni D., Simonato G., Pietrobelli M., Ricci A., 2016. Investigating the Determinants of *Toxoplasma gondii* Prevalence in Meat: A Systematic Review and Meta-Regression. *PLoS One*, 11(4): 53-56.

6. Chiabchalard R., Wiengcharoen JT., Sukthana Y., 2005. Sensitivity and specificity of polymerase chain reaction for the detection of Toxoplasma gondii DNA added to laboratory samples. *Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 36(2): 408-11.

7. Daryani A., Sarvi S., Aarabi M., Mizani A., Ahmadpour E., Shokri A., 2014. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in the Iranian general population: a systematic review and meta-analysis. *Acta Tropica*, 137: 185-94.

8. Dubey, J.P., 2010. Toxoplasmosis of Animals and Humans, 2nd Edn. Boca

24. Sarvi S., Daryani A., Rahimi M.T., Aarabi M., Shokri A., Ahmadpour E., 2015. Cattle toxoplasmosis in Iran: a systematic review and meta–analysis. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 8(2): 120-6.

25. Scallan E., Hoekstra R., Mahon B., Jones T., Griffin P., 2015. An assessment of the human health impact of seven leading foodborne pathogens in the United States using disability adjusted life years. *Epidemiology and Infection*, 143(13): 2795-804.

26. Sharif M., Sarvi S., Shokri A., Teshnizi S.H., Rahimi M., Mizani A., 2015. *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goats in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitology Research*, 114(1):1-16.

27. Suleman E., Mtshali MS., Lane E., 2016. Investigation of false positives associated with loop-mediated isothermal amplification assays for detection of *Toxoplasma gondii* in archived tissue samples of captive felids. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 28: 536-542.

28. Tavassoli M., Ghorbanzadehghan M., Esmaeilnejad B., 2013. Detection of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats blood samples by PCR-RFLP in Urmia. *Veterinary Reserch Forum*, 4: 43-47.

29. Valian H.K., Ebrahimi A., 1994. Prevalence of *Toxoplasma gondii* in birds of Kerman city by serological and parasitological methods. *Iranian Journal of Public Health*, 23(1-4): 25-34.

30. Van der Puije W.N.A., Bosompem K.M., Canacoo E.A., Wastling J.M., Akanmori B.D., 2000. The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. *Acta Tropica*, 76:21-26

province, Iran. *African Journal of Microbiology Research*, 6(18): 3989–92.

16. Levine N.D., 1985. Veterinary protozoology: Iowa State University Press Ames.

17. Macpherson C.N., 2005. Human behaviour and the epidemiology of parasitic zoonoses. *International journal for parasitology*, 35(11-12): 1319-31.

18. Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Amino N., 2000. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Research*, 28(12): 63-69.

19. Rahdar M., Samarbaf-Zadeh A., Arab L., 2012. Evaluating the prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat and meat products in Ahvaz by PCR method. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 5(4): 570-3.

20. Rassouli M., Razmi G., Bassami M., Movassaghi A., Azizzadeh M., 2011. Study on ovine abortion associated with *Toxoplasma gondii* in affected herds of Khorasan Razavi Province, Iran based on PCR detection of fetal brains and maternal serology. *Parasitology*, 138(06): 691-7.

21. Razmi G.R., Ghezi K., Mahooti A., Naseri Z., 2010. A serological study and subsequent isolation of *Toxoplasma gondii* from aborted ovine fetuses in Mashhad area, *Iranan Journal of Parasitology*, 96(4): 812-814.

22. Razmi G.R., 1993. Seroprevalence of toxoplasmosis and its Importance in abortion among ewes in Mazandaran province, Iran: Dissertation. University of Tehran.

23. Roberts L., Kwan I., Evans P., 2002. Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation. *British Medical Journal*, 324(7335): 474–476.