

بررسی میزان شیوع سرمی توکسوپلاسموز در گاو، گوسفند و بز با استفاده از روش‌های الیزا و ایمونوفلورسانس آنتی بادی غیر مستقیم در استان لرستان

***سعید هاشمی^۱**

۱- استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد بروجرد، گروه دامپزشکی، بروجرد، ایران

(دریافت مقاله: ۹۳/۱/۲۵ پذیرش نهایی: ۹۳/۵/۲۸)

چکیده

توکسوپلاسموز یک بیماری زئونوز ناشی از تک یاخته داخل سلولی توکسوپلاسما گوندی است که تاکنون در لرستان بررسی نشده است، مطالعه حاضر با هدف بررسی میزان شیوع آنتی بادی ضد توکسوپلاسمما (IgG) در نشخوارکنندگان اهلی بر اساس متغیرهای گونه و جنس دام، و منطقه جغرافیایی انجام شد. بدین منظور از مهر تا اسفند ۱۳۹۱ با مراجعه به کشتارگاههای خرم آباد، بروجرد و الیگودرز، تعداد ۷۶۰ نمونه خون (۱۷۴ نمونه از گاو، ۳۹۸ نمونه از گوسفند و ۱۸۸ نمونه از بز) جمع آوری شد. نمونه های سرم گوسفند و بز با روش الیزا غیرمستقیم بررسی و نتایج بر اساس نسبت درصد مقدار جذب نوری سرم نمونه به شاهد محاسبه می گردید، بطوریکه نسبت ≥ 30 درصد منفی و ≤ 5 درصد \geq مثبت تلقی می شد. نمونه های سرم گاو با آزمایش ایمونوفلورسانس آنتی بادی غیرمستقیم بررسی و عیار $\geq 1:16$ مثبت تلقی می گردید. در این بررسی میزان شیوع IgG در گاو، گوسفند و بز به ترتیب $28/73$ درصد، $53/101$ درصد و $51/106$ درصد بود. آنالیز آماری نتایج، نشان داد که از نظر گونه و جنس دام، اختلاف آماری معنی داری وجود دارد، بطوریکه کمترین آلدگی در گاو و بیشترین آلدگی در گوسفند مشاهده شد. همچنین میزان آلدگی در جنس ماده بیشتر از جنس نر بود، ولی برحسب منطقه جغرافیایی اختلاف آماری معنی داری وجود نداشت ($p < 0.05$). از آنجا که در استان لرستان نیز مانند سایر نقاط کشور، توکسوپلاسموز گوسفند و بز، فراوانی بالایی دارد و گوشت این دامها به عنوان منبع پروتئینی مهم محسوب می گردد، برای پیشگیری از بیماری، اطلاع رسانی و آموزش همگانی ضروری است.

واژگان کلیدی: توکسوپلاسموز، الیزا، ایمونوفلورسانس آنتی بادی، لرستان

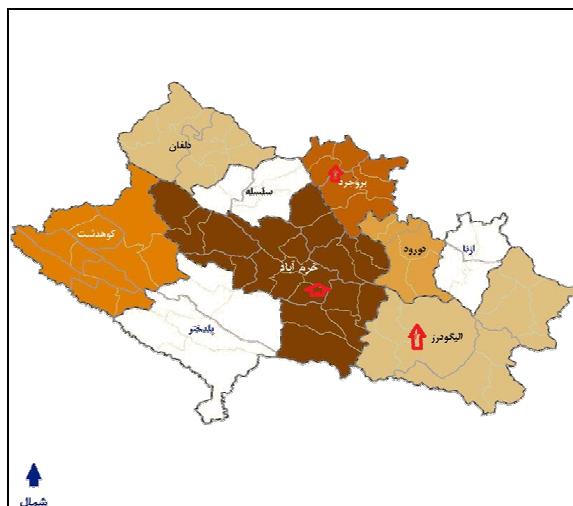
Dubey and Jones, 2008, Hashemi- (می باشد)

مقدمه

Fesharki, 1996 (). این بیماری گسترش جهانی دارد و عمدها از راه آب و غذای آلدده به اووسیست انگل، گوشت‌های خام آلدده به کیست انگل و یا از طریق مادرزادی به جنین انتقال می یابد (Dubey, 1996).

توکسوپلاسموز نوعی بیماری انگلی مشترک بین انسان و دام ناشی از تک یاخته داخل سلولی اجباری توکسوپلاسمما گوندی است که گربه ساتان میزبان اصلی و سایر حیوانات خونگرم و انسان میزبان واسط آن

تعداد ۷۶۰ نمونه خون (۱۷۴ نمونه خون از گاو، ۳۹۸ نمونه خون از گوسفند و ۱۸۸ نمونه خون از بز) جمع آوری شد (جدول ۱). مقدار ۵ میلی لیتر خون از ورید وداج هر دام قبل از کشتار، گرفته شده و مشخصات دامها از نظر جنس و گونه و منطقه جغرافیا ای یادداشت می‌گردید. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل و با استفاده از سانتریفیوژ با دور $g = 1500$ به مدت ۵ دقیقه، سرمه‌ها جدا سازی و در میکروتیوبهای استریل در دمای انجماد -20°C درجه سانتیگراد تا زمان آزمایش نگهداری می‌شد.



شکل ۱- مناطق مورد مطالعه در تحقیق حاضر با فلش نمایش داده شده است. (www.ostan-Ir.ir)

جدول ۱- نمونه‌های خون جمع آوری شده از کشتارگاههای دامی سه منطقه استان لرستان

جمع کل	منطقه نمونه گیری	جنس و گونه			دام
		خرم آباد	بروجرد	الیگودرز	
۵۲	۱۲	۱۵	۲۵	نر گاو	
۱۲۲	۲۲	۴۵	۵۵	ماده گاو	
۸۴	۱۴	۴۰	۳۰	نر گوسفند	
۲۱۴	۷۴	۱۲۰	۱۲۰	ماده گوسفند	
۳۹	۹	۲۰	۱۰	نر بز	
۱۴۹	۲۹	۶۰	۶۰	ماده بز	

سقط جنین و مرده زایی در گله‌های گوسفند و بز از عالیم رایج بیماری می‌باشد (Dubey and Welcome, 1988; Fayer, 1981). سقط جنین و مرده‌زایی در گله‌های گوسفند و بز از عالیم رایج (Fayer, 1981; Dubey, 1988) بیماری می‌باشد که زنده می‌مانند خصوصاً در هفته اول تولد، کانون عفونت برای انسان محسوب می‌شوند (Dubey, 2009). روش تشخیص بیماری در بالغین بر اساس تعیین آنتی‌بادی‌های اختصاصی IgG و IgM در سرم بیمار با استفاده از تست‌های سروولوژکی و در جنین سقط شده، جداسازی انگل از ضایعات بافت مغز و جفت با روش‌های مولکولی نظیر PCR و یا تلقیح به موش صورت می‌گیرد (Dubey, et al., 1987; Hamidinegat, et al., 2008) با توجه به اهمیت اقتصادی سقط جنین در گله‌های گوسفند و بز و خطر انتقال بیماری از طرق مصرف گوشت و فراورده‌های گوشتی و شیر به انسان و از آنجا که تاکنون مطالعه‌ای در زمینه توکسoplasmoz نشخوارکنندگان در لرستان صورت نگرفته، تحقیق حاضر در این راستا انجام گرفت.

مواد و روش کار

- منطقه مورد مطالعه

در این بررسی جمع آوری نمونه خون از کشتارگاههای دامی سه شهر خرم آباد (مرکز استان)، بروجرد (شمال استان) و الیگودرز (شرق استان) که بیشترین حجم کشتار دام را دارند، انجام شد (شکل ۱).

- جمع آوری نمونه خون

با مراجعه به کشتارگاههای صنعتی الیگودرز، بروجرد و خرم آباد در فاصله زمانی مهرتا اسفند ۱۳۹۱ با روش سیستماتیک (تعیین فاصله نمونه گیری با کسر نسبت تعداد کشتار روزانه به حجم نمونه مورد نظر)

IDEXX Laboratoties, Switzerland,)
(BGVV318 خریداری شد و نمونه شاهد (کنترل مثبت) از بخش تکیاخته شناسی مؤسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی تهیه گردید. مراحل انجام آزمایش، طبق دستورالعمل شرکت سازنده کیت انجام گرفت و نتایج مطابق دستورالعمل کیت بر اساس نسبت مقدار جذب نوری سرم نمونه به سرم کنترل مثبت شاهد) محاسبه شد به طوری که نسبت کمتر از ۳۰ درصد منفی، بین ۳۰ تا ۵۰ درصد مشکوک و بالای ۵۰ درصد مثبت تلقی گردید. نتایج با استفاده از آزمون مربع کای (x²) تحلیل آماری گردید. سطح معنی داری p<0.05 در نظر گرفته شد.

نتائج

در این بررسی از مجموع ۱۷۴ نمونه سرم گاو، نمونه (۲۸/۷۳ درصد) دارای عیار مثبت ۱:۱۶ ≥ شامل نمونه ۱۲ (۶/۸۹ درصد) در گاو نر و ۳۸ نمونه ۲۱/۸۳) در گاو ماده بودند. آنالیز آماری با آزمون مربع کای ($p < 0.05$) بر حسب منطقه جغرافیایی، اختلاف آماری معنی داری در میزان شیوع توکسپلاسموز در گاو نشان نداد ولی بر حسب جنس، اختلاف آماری معنی دار وجود داشت بطوریکه میانگین شیوع در دامهای ماده ۲۱/۸۳ درصد و در دامهای نر ۶/۸۹ درصد بود (جدول ۲).

جدول ۲- میزان فراوانی توکسوبلاسموز درگاو در سه منطقه از لرستان با روش IFA

نمونه گیری	نمونه کل	نمونه	تعداد	تعداد	منطقه
(درصد)	نر	نر ماده	نر	نر ماده	بر حسب
۲۸/۷۵	۳۰/۹۰	۲۴	۱۷	۶	خرم آباد
۲۸/۳۳	۲۸/۸۸	۲۶/۶۶	۱۳	۴	بروجرد
۲۹/۴۱	۳۶/۳۶	۱۶/۶۶	۸	۲	الیگودرز

آزمایش‌های سرولوژیک

آزمایش ایمونوفلورسانس غیرمستقیم (Indirect Immunofluorescent antibody)

برای تعیین عیار آنتی بادی ضد توکسoplاسما (IgG) در گاو از آزمایش IFA که توسط (Voller and oneill, 1971) شرح داده شده، استفاده شد (۱۴). لامهای دوازده خانه ای پوشیده از آنتی ژن تاکی زوئیت توکسoplاسما گوندی از شرکت تکاپوزیست (Takapozist, Tehran, Iran) و کونژوگه (ایمونو گلوبولین توکسoplasmایی گاوی، از بخش مرکزی موسسه تحقیقاتی پاستور (Pasteur Institute, Tehran,Iran, ۱:۳۲، ۱:۱۶، ۱:۳۲) تهیه شد. ابتدار قتهای ۱:۸، ۱:۱۶، ۱:۳۲ و ۱:۱۲۸ از نمونه های سرم به وسیله فسفات بافر (اسیدیته ۷/۲) تهیه گردیده و مقدار ۱۰ میکرو لیتر نمونه سرم گاو داخل هر چاهک ریخته شد، و به دو چاهک دیگر، سرم کنترل مثبت و منفی افزوده شد. سپس لام در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه انکوبه گردید. پس از پایان زمان انکوباسیون، لامها سه بار توسط فسفات بافر شستشو و پس از افزودن کونژوگه، مجددا در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه انکوبه گردیدند. سپس بواسیله اونس آبی ۱ درصد رنگ آمیزی و با میکروسکوپ فلورسنت با بزرگنمایی X ۵۰۰ بررسی شدند. این فرایند ابتدا برای رقت ۱:۱۶، انجام می شد و در صورت مثبت بودن هر نمونه، عیار سنجی در رقت های بعدی تا آخرین عیار مثبت ادامه می یافتد.

آزمایش الایزای غیرمستقیم (Indirect ELISA) برای تعیین تیتر ایمنو گلوبولین ضد توکسوپلاسمای (IgG) در گوسفند، کیت تجاری الایزای غیرمستقیم (CHEKIT-TOXOTEST به نام IDEXX نشخوارکنندگان کوچک دارد، از شرکت

جدول ۴- میزان فراوانی توکسیپلاسموز دریز در سه منطقه از
لرستان با استفاده از روش الایزا

میانگین آلودگی	میانگین آلودگی	تعداد نمونه	تعداد	منطقه
بر حسب	بر حسب جنس دام	آلوده	کل	نمونه
منطقه	ماده	نر	ماده	نمونه
(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)
۵۰	۵۱/۶۶	۴۰	۳۰	۷۰
۵۱/۲۵	۵۳/۲۳	۴۵	۳۲	۸۰
۵۵/۲۶	۵۸/۶۲	۴۴/۴۴	۱۷	۳۸

میزان آلدگی به توکسیپلاسموز در هر سه گونه دام با استفاده از آزمون مربع کای بررسی و اختلاف آماری معنی داری مشاهده گردید بطوریکه کمترین میزان آلدگی در گاو (۲۸/۷۳ درصد) و بیشترین میزان آلدگی در گوسفند (۵۳/۰۱ درصد) مشاهده شد ولی بر حسب منطقه جغرافیایی اختلاف معنی داری دیده نشد ($p<0.05$). (حدل.^۵)

جدول ۵- میزان فراوانی توکسوبلاسموز بر حسب گونه دام در سه منطقه از لرستان

گونه دام منطقه	گاو (تعداد عیار مثبت)	گوسفند (تعداد نمونه مثبت)	بز (تعداد نمونه مثبت) درصد
خرم آباد	۲۸/۷۵(۲۳)	۵۱/۳۳(۷۷)	۵۰(۳۴)
بروجرد	۲۸/۳۳(۱۷)	۵۵(۸۸)	۵۱/۲۵(۴۱)
الیگودرز	۲۹/۴۱(۱۰)	۵۲/۲۷(۴۶)	۵۵/۲۶(۲۱)
جمع موارد مثبت	۵۰	۲۱۱	۹۶
تعداد نمونه سرم	۱۷۴	۳۹۸	۱۸۸

پُجھے گیری و نتیجہ

توکسیپیلاسمہ گوندی تک یاخته عامل سقط و مردہ زایی در نشخوارکنندگان بوده و از بسیاری از مناطق جهان و ایران گزارش شده است. بره هایی که زنده متولد شوند، کانون آلدگی برای انسان محسوب

بررسی ۳۹۸ نمونه خون گوسفتند با روش الایزا
نشان داد که ۲۱۱ نمونه (۵۳/۰۱ درصد) مثبت، ۳۶
نمونه مشکوک و بقیه منفی بود. اختلاف آماری
معنی‌داری در میزان شیوع توکسوپلاسموز در گوسفتند
بر حسب منطقه جغرافیایی وجود نداشت ولی این
اختلاف بر حسب جنس، معنی‌دار بود ($p < 0.05$)
بطوریکه میانگین شیوع در جنس ماده ۵۷/۳۲ درصد و
در جنس نر ۳۶/۹۰ درصد مشاهده شد (جدول ۳).

جدول - ۳- میزان فراوانی توکسیپلاسموز در گوسفند در سه منطقه از
لرستان: با استفاده از ۱۰۶۷ ایان

نوع	نوع	نوع	نوع	نوع	نوع	نوع
نوع	نوع	نوع	نوع	نوع	نوع	نوع
ميانگين	ميانگين	ميانگين	تعداد	تعداد	منطقه	نمونه گيری
آلودگی	آلودگی	آلودگی	نمونه	کل		
بر حسب	بر حسب جنس دام		آلوده			
(منطقه (درصد	منطقة(درصد)	ماده (درصد)	نر (درصد)	نر		
۵۱/۳۳	۵۵	۳۶/۶۶	۶۶	۱۱	۱۵۰	خرم آباد
۵۵	۶۰/۸۳	۳۷/۵۰	۷۳	۱۵	۱۶۰	بروجرد
۵۲/۲۷	۵۵/۴۰	۳۵/۷۱	۴۱	۵	۸۸	البودرز

همچنین در این تحقیق، بررسی ۱۸۸ نمونه خون بز با روش الایزا وجود ۹۶ نمونه (۵۱/۰۶ درصد) مثبت، ۱۲ نمونه مشکوک و ۸۰ نمونه منفی را نشان داد. بر حسب منطقه جغرافیایی، از لحاظ آماری اختلاف معنی داری در میزان شیوع توکسوپلاسموز در بز وجود نداشت ($p < 0.05$) ولی بر حسب جنس، اختلاف آماری معنی داری وجود داشت بطوریکه میانگین شیوع در بزهای ماده و نر به ترتیب ۵۳/۰۲ درصد و ۴۳/۵۸ درصد گزارش شد (جدول ۴).

نتایج این محققان نشان دهنده این است که بیشترین آلدگی در گوسفند و کمترین آلدگی در گاو دیده می شود، که با نتایج مطالعه حاضر مطابقت دارد. به نظر می رسد از آنجا که گزارش‌های مستدلی از توکسوپلاسموز کلینیکی در گاو در دست نیست، گاو میزان مناسبی برای این انگل نیست و گرچه با اووسيست آلدود می شود ولی به خاطر ايمى اوليه، ظرف مدت کوتاهی سطخ آلدگی به شدت کاهش می یابد (Dubey, et al., 1981). مطالعات نشان داده که تکثیر تاکی زوئیت انگل در منوسيتهای گاو و گوزن توسط ايترافرون گاما و ساير لمفوکاين ها مهار می گردد (Uggla and Buxton, 1990).

نتایج این مطالعه نشان داد که میزان آلدگی در بز از گوسفند کمتر و از گاو بيشتر است که میتواند به نحوه تغذيه اين دامها که معمولاً از علوفه های بخششای مرتفع تر مراتع استفاده می نمایند، مرتبط باشد.

در مطالعه حاضر از لحاظ آماری تفاوت معنی داری بين آلدگی به توکسوپلاسموز بر حسب جنس در هر سه گونه دام وجود داشت بطوریکه دامهای ماده آلدگی بيشتری را نسبت به دامهای نر نشان دادند ($p<0.05$) که اين با نتایج مطالعات مشابه همخوانی دارد ولی نعمت الهی در سال ۲۰۰۸ میزان آلدگی در گواهای نر را بيشتر از جنس ماده گزارش کرده که می تواند به خاطر اختلاف در روند پرورش و تغذیه گاو باشد.

(Nematollahi and Moghoddam, 2008)

همچنين تاثير منطقه مورد مطالعه بر میزان فراوانی توکسوپلاسموز در سه گونه دام، با آزمون مربع کاي بررسی گردید و اختلاف معنی داري دیده نشد ($p<0.05$) اين حاکي از آن است که تفاوت قابل ملاحظه اي بين سه منطقه شمالی، شرقی و مرکزی لرستان از نظر شرایط پروش دام وجود ندارد.

مي گردد (Dubey, et al., 1981).

اين تحقيق با هدف تعين ميزان شيع آنتي بادي ضد توکسوپلاسمما گوندي (IgG) در نشخوارکنندگان سه منطقه استان لرستان صورت گرفت. از آنجا که كيت اليازاي بكار رفته مخصوص شناسايي آنتي بادي در سرم گوسفند و بز بود، برای نمونه های خون گاو از روش IFA استفاده شد. در اين بررسی ميزان شيع IgG در گاو، گوسفند و بز به ترتيب ۲۸/۷۳ درصد، ۵۳/۰۱ درصد و ۵۱/۰۶ درصد بود. مطالعات مشابهی در ايران و كشورهای مختلف انجام شده که ميزان شيع توکسوپلاسموز در نشخوارکنندگان را گزارش نموده اند. شريف و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مازندران با روش IFA شيع آلدگی را در گوسفند ۳۵ درصد، بز ۳۰ درصد و گاو ۹٪ گزارش کرده است (Sharif, et al., 2007). پیتا و همکاران در سال ۱۹۹۹ در بربيل با روش لاتكس آگلوتیناسيون، ميزان آلدگی در گوسفند ۱۸/۷۵ درصد، بز ۲۸/۹ درصد و گاو ۱/۰۳ درصد گزارش نموده است (Pita, et al., 1999) ماشو در سال ۱۹۹۶ در اندونزی، با روش لاتكس آگلوتیناسيون، ميزان شيع توکسوپلاسموز را در بز و گاو به ترتيب ۴۷/۵ درصد و ۹ درصد گزارش کرده است (Matsuo and Husin, 1996). در تبريز بررسی كشتارگاهي توکسوپلاسموز با روش الياز، ميزان آلدگی در گوسفند ۱۳/۴۵ درصد و در بز ۸۵/۴ درصد گزارش شده است (هاشم زاده فرهنگ و همکاران ۱۳۸۹).

حقوقی راد و همکاران در سال ۱۹۹۳ در خوزستان و نعمت الهی و همکاران در سال ۲۰۰۸ در تبريز با روش IFA ميزان شيع آنتي بادي IgG در گاو را به ترتيب ۱۶/۲۱ درصد و ۱۵/۹۱ درصد گزارش کرده اند (Hoghoogi-Rad, et al., 1995; Nematollahi and Moghoddam, 2008).

بنابراین اطلاع رسانی و آموزش عمومی جامعه خصوصاً افرادی که از نظر شغلی ارتباط مستقیم با کشتارگاهها دارند، و عشاير کوچ نشین لرستان که دامداری شغل دائمی آنهاست، نقش مهمی در کاهش خطر انتقال بیماری به انسان ایفا می‌کند. با توجه به نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر و از آنجا که اطلاعات ما در زمینه میزان فراوانی توکسoplasmوز در جامعه شهری و روستایی و عشاير کوچ نشین لرستان، ناچیز است، بررسی آن بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

سپاسگزاری

نویسنده مقاله از معاونت محترم پژوهش دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد به خاطر حمایت مالی این طرح کمال تشکر را دارد.

اووسیستهای عفونی زا تحت شرایط آب و هواي معتدل و خاکهای مرطوب تا چندین سال زنده می‌مانند و توسط سوسکها، کرم خاکی و مگسها در محیط اطراف گسترش می‌یابند (Dubey, 2004). در شمال ایران که میزان بارندگی سالانه و رطوبت نسبی نسبت به سایر نقاط کشور بیشتر است، لذا میزان شیوع توکسoplasmوز هم می‌تواند بیشتر باشد.

گوسفند و بز نسبت به گاو میزان مناسبتری برای توکسoplasmما گوندی هستند و گوشت این دامها یکی از منابع اصلی تامین پروتئین در لرستان و سایر نقاط کشور است و گرچه محققین گزارش داده اند که شیر خام بز می‌تواند توکسoplasmما را به انسان منتقل کند (Dubey and Jones, 2008) ولی انتقال آلدگی در لرستان عمده‌تا از طریق تماس مستقیم با گوشت‌های آلدده خام یا کم پخته صورت می‌گیرد زیرا تولید شیر گوسفند و بز در این ناحیه کشور بسیار اندک است.

منابع

- هاشم‌زاده فرهنگ، ح. نوذری ، ن. موذنی، ف. (۱۳۸۹). بررسی میزان شیوع سرولوژیک توکسoplasmوزیس در گوسفدان و بزهای شهرستان تبریز به روش الیزا، مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۴(۳)، ۷۵۳-۷۵۷
- Dubey, J.P., Sundberg , J.P., Matiuck, S.W., (1981a). Toxoplasmosis associated with abortion in goats and sheep in Connecticut. American Journal of Veterinary Research. (42): 1624–1626
- Dubey, J.P., Welcome, F.L., (1988). Toxoplasma gondii induced abortion in sheep.Journal of the American Veterinary Medical Association. (193): 697–700.
- Dubey, J.P., (1996). strategies to reduce transmission of Toxoplasma gondii to animal and human.veterinary parasitology.(64):65-70
- Dubey, J.P., (2004). Toxoplasmosis a water borne disease.veterinary parasitology.(126): 57-72
- Dubey, J.P., Jones,J.L., (2008). Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States.International Journal for Parasitology. (38): 1257–1278
- Dubey, J.P., Desmonts, G., (1987). Serological responses of equids fed Toxoplasma gondii oocysts. Equine Veterinary Journal. 19(4): 337-339.
- Fayer, R., (1981). Toxoplasmosis update and public health implications.Canadian Veterinary Journal . (22): 344-352

- Hamidinegat, H., Goraninejad, S., Ghorbanpoor, M., Nabavi, L., Akbarnejad, F., (2008). Role of Toxoplasma gondii in Abortion of ewes in Ahvaz (south-west, Iran). Bulletin of Veterinary Institute in Pulawy.52(3): 369-371.
- Hashemi-Fesharki, R., (1996). Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep, and goats in Iran. Veterinary Parasitology. (61): 1-3.
- Hoghoogi-Rad, N., Razi-Jalali,M., Sadre-Bazzaz , A.R., Seadat-Amolii, M., Ataiikachooii, S., Bozorgnia,A., (1995). Toxoplasmosis in cats, sheep, cattle and some birds in Ahwaz area. Center of Khoozestan province, Iran:Abstracts.XXV Congress of the World Veterinary Association,Yokohama, Japan.
- Matsuo, K.,Husin, D ., (1996). A survey Of Toxoplasma gondii antibodies in goats and cattle in Lampung province, Indonesia. Southeast Asian Journal Tropical Medicine and Public Healt.27 (3): 554-5.
- Nematollahi, A., Moghddam, GH., (2008). Survey on Seroprevalence of Anti-Toxoplasma gondii Antibodies in Cattle in Tabriz (Iran) by IFAT . American Journal of Animal and Veterinary Sciences. (3): 40-42
- Pita Gondim, L.F., Barbosa, H.V.,RebeiroFilho, C.H.A., Saeki, H., (1999). Serological survey of antibodies to Toxoplasma gondii in goats, sheep, cattle and water buffaloes in Bahia State, Brazil. Veterinary Parasitology. (82): 273-276.
- Sharif, M., Gholami, Sh., Ziae, H., Daryani, A., Laktarashi,B., Ziapour, S.P., Rafiei, A., Vahedi,M., (2007). Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran , The Veterinary Journal. (174): 422-424.
- Uggla, A., Buxton, D., (1990). Immune responses against Toxoplasma and Sarcocystis infections in ruminants: diagnosis and prospects for vaccination.Reviews scientific technical of international Epizootiology.9 (2): 441-462
- Voller, A., Oneill ,P., (1971). Immunofluorescence methods suitable for large scale application to malaria.Bulletin of the World Health Organization .(45): 524-529

