

بررسی سرولولوی عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندی در بزهای مناطقی از استان چهارمحال و بختیاری با روش الایزا

حمید رضا عزیزی علویجه^۱، یاسر پیرعلی خیر آبادی^۲، منصور نصیری دشتکی^۳

^۱دانشیار گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

^۲استاد گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

^۳فارغ التحصیل کارشناسی ارشد انگل شناسی دامپزشکی دانشگاه شهرکرد

چکیده

توکسوپلازما سموزیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و حیوان است. عامل این بیماری، انگل تک یاخته‌ای به نام توکسوپلازما گوندی می‌باشد که از شاخه اپی کمپلکسا و راسته کوکسیدیا بوده است. این انگل موجب ابتلا به بیماری مشترکی به نام توکسوپلازما سموز می‌شود که گسترش جهانی داشته و یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌های ایجاد کننده بیماری مشترک تک یاخته‌ای تلقی می‌شود. آلودگی به این انگل منجر به مرگ زودرس جنین، جفت ماندگی، مومیایی شدن، سقط و مرده زایی می‌شود. با توجه به خسارات بالای ناشی از آلودگی دام‌ها به این انگل، مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع سرمی عفونت ناشی از توکسوپلازما گوندی در بزهای استان چهارمحال و بختیاری انجام شد. جهت بررسی نمونه‌ها تست الایزا انجام شد. تعداد ۳۸۲ نمونه سرمی از طریق مراجعه به مناطق دیناران و پشتکوه استان چهارمحال و بختیاری تهیه و مورد آزمون قرار گرفت. نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که از تعداد ۳۸۲ نمونه مورد بررسی تعداد ۳۲۳ مورد منفی (۸۴/۵۵٪) و تعداد ۵۹ نمونه مثبت (۱۵/۴۴٪) بودند. از نمونه‌های مورد بررسی تنها ۷ مورد مربوط به موارد نر و مابقی ماده بودند و به همین دلیل امکان بررسی مقایسه‌ای آماری در این مورد نبود. همچنین نتایج نشان داد بر اساس اطلاعات جمع‌آوری شده تعداد ۱۴ مورد (۳/۶٪) از بزها دچار سقط جنین بوده‌اند که هیچ کدام از آنها دارای تیتراژ پادتنی قابل اندازه‌گیری ضد تک یاخته توکسوپلازما گوندی نبودند. پایش، آموزش و اهتمام در راستای بهداشت دامداری‌ها در جهت پیشگیری از خسارات ناشی از این عفونت در دام بایستی در دستور کار قرار گیرد.

کلید واژه: الایزا، توکسوپلازما گوندی، بز، استان چهارمحال و بختیاری

مقدمه

توکسوپلازما (*Toxoplasma*) از دو کلمه Toxo به معنی کمان یا قوس و Plasma به معنی سلول مشتق شده است. ارگانیزم شکل هلالی یا قوسی دارد. توکسوپلازما گوندی (*Toxoplasma gondii*) یک انگل پروتوزوای درون سلولی اجباری و عامل بیماری «توکسوپلاسموز» است که تقریباً همه حیوانات خونگرم را آلوده می‌کند ولی گربه خانگی تنها میزبان قطعی آن است زیرا انگل در آن تولیدمثل جنسی می‌کند. توکسوپلازما گوندی، زئونوز بوده و عامل بیماری به نام توکسوپلاسموزیس (*Toxoplasmosis*) در انسان می‌باشد. بسیاری از موجودات خونگرم از جمله حیوانات خانگی، دام‌ها، پرندگان و انسان می‌توانند توسط این تک‌یاخته آلوده شوند (۱).

ابتلا به عفونت حین بارداری ۴۰-۶۰٪ موارد، آلوده شدن جنین را نیز در بر دارد که عوارض جدی را به همراه دارد CDC برآورد می‌کند که سالیانه بین ۴۰۰ تا ۴۰۰۰ مورد توکسوپلاسموز مادرزادی در ایالات متحده روی می‌دهد. به طور تخمینی از هر ۱۰۰۰ بارداری ۱-۵ مورد دچار توکسوپلاسموز حاد می‌شوند (۶). طیف تظاهرات بالینی ناشی از توکسوپلاسموز مادرزادی وسیع است و عوارضی نظیر تب، هیدروسفالی، میکروسفالی، هپاتواسپلینومگالی، زردی، تشنج، کوریوریتینیت (معمولاً دو طرفه)، کلسیفیکاسیون داخل مغزی و عقب افتادگی ذهنی نوزادان در نیمه اول حاملگی را به دنبال دارد. شایعترین این علائم کوریوریتینیت و ضایعات سیستم اعصاب مرکزی است که در صورت عدم درمان سبب ایجاد علائم ناتوان کننده‌ای در هنگام تولد یا در مراحل بعدی زندگی می‌شود (۷). بروز عفونت در نیمه دوم حاملگی ممکن است در هنگام تولد بدون علامت باشد اما در فاصله چند ماه تا ۳-۵ سال بعد، علائمی چون کوریوریتینیت، نقص اعصاب مرکزی، اختلال در بینایی، کوری و عقب ماندگی ذهنی را به دنبال دارد (۸). با بالا رفتن سن جنین، امکان انتقال مادرزادی افزایش می‌یابد اما از شدت بیماری کاسته می‌شود (۹). عفونت حاد با توکسوپلازما می‌تواند سبب انسفالیت شدید در افراد با سیستم ایمنی ضعیف همانند مبتلایان به سندرم نقص ایمنی اکتسابی و دریافت کنندگان داروهای سرکوبگر ایمنی شود (۳). با این حال، در مبتلایان به توکسوپلاسموزیس که سیستم ایمنی نرمالی دارند معمولاً علائم بالینی دیده نمی‌شود، اگرچه ممکن است علائمی مانند تب، ضعف و لنفادنوپاتی بروز کند ولی خود به خود رفع می‌شوند (۴). عفونت با توکسوپلازما ممکن است سبب مرگ و میر در انسان و حیوانات شود. به طور کلی، شیوع بیماری بسته به منطقه اپیدمی، رفتارهای اجتماعی- فرهنگی، عوامل جغرافیایی و اقلیمی متفاوت است (۹).

مبانی نظری

تاریخچه

توکسوپلازما گوندی نخستین بار در سال ۱۹۰۸ توسط نیکول (Nocoll) و مانسو (Manceaux) در انیستیتو پاستور تونس نزد گونه‌ای از جوندگان شمال آفریقا به نام کتنوداکتیلوس گوندی (*Ctenodactylus gondii*) شناسایی شد (۱۰). این انگل در سال ۱۹۷۰ توسط Frenkel بطور کامل از نظر سیر تکاملی و چرخه زندگی شناسایی و معرفی گردید (۱۱).

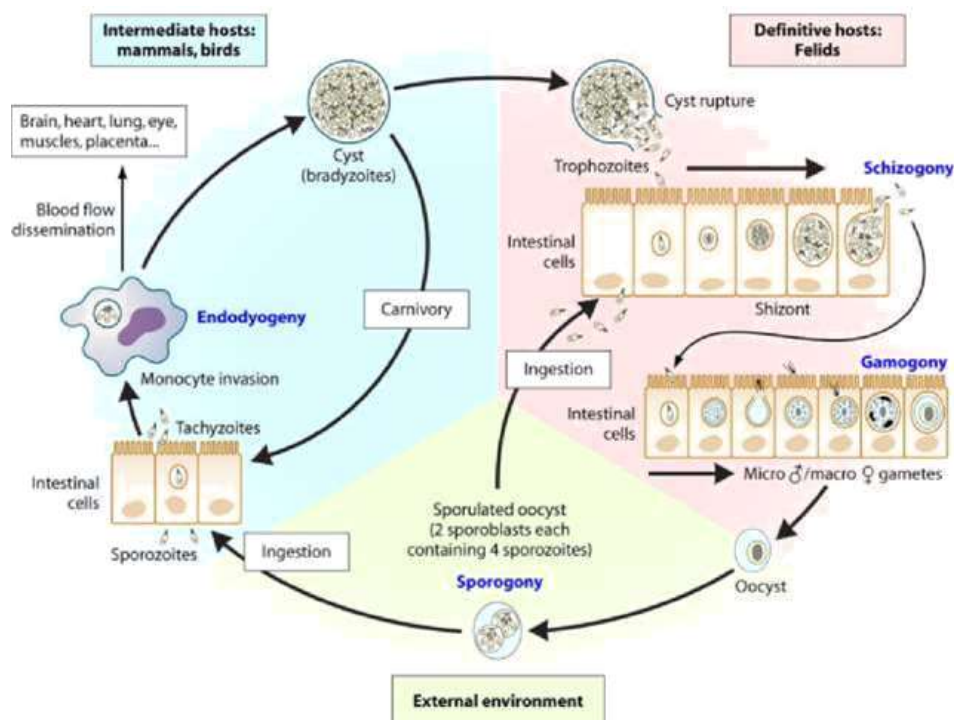
مورفولوژی

تاکیزوئیت (Tachyzoite)

مرحله تکثیر سریع انگل می‌باشد و شکل آزاد انگل است که شبیه هلال ماه بوده که در یک انتها تیزتر از انتهای دیگر است. طول آن ۴-۷ میکرون و عرض آن ۲-۴ میکرون است. هسته در قسمت خلفی و پهن‌تر انگل می‌باشد. فلقد تاژک و مژه می‌باشد. تاکیزوئیت‌ها در مرحله حاد بیماری دیده می‌شوند و به کلیه سلول‌های هسته‌دار بدن پستانداران بویژه منونوکلرسل‌ها مانند منوسیت و ماکروفاژ حمله نموده و تکثیر می‌یابند. تکثیر انگل به روش اندودیوزنی (جوانه‌زدن داخلی) می‌باشد. فرم تاکیزوئیت باعث ایجاد پاسخ التهابی و تخریب بافتی می‌شود که نشانه‌های کلینیکی ظاهر می‌شوند. تاکیزوئیت توکسوپلازما حتی در گلبول‌های قرمز هسته‌دار نیز می‌تواند وارد شده و تکثیر نماید ولی درون اریتروسیت‌ها قدرت تکثیر و بقا ندارد. تاکیزوئیت تحت فشار پاسخ ایمنی برای تشکیل کیست به برادی زوئیت‌ها تغییر شکل می‌دهند (۱۹).

سیر تکاملی توکسوپلازما گوندی

توکسوپلازما به دو صورت تک میزبانه (منوگزئوس) و چند میزبانه (هتروگزئوس) اختیاری است. گربه و گربه سانان اهلی و وحشی میزبان نهایی یا قطعی و مهره داران خونگرم اغلب میزبان واسط توکسوپلازما گوندی محسوب می‌شوند. توکسوپلازما گوندی در زندگی خود دو سیکل مجزای خارج روده ای و داخل روده ای دارد. هر دو سیکل این انگل در گربه‌سانان وجود دارد، در صورتی که در میزبان‌های واسط فقط سیکل خارج روده ای دیده می‌شود (۳۷).



شکل ۱- چرخه زندگی توکسوپلازما گوندی

عوامل مؤثر در بیماری‌زایی

۱- حساسیت یا مقاومت میزبان به توکسوپلازما گوندی از فاکتورهای مهم پاسخ در مقابل عفونت توکسوپلازمایی است. حساسیت افراد و یا حیوانات در مقابل توکسوپلازما متفاوت است:

الف. خوک، گوسفند و بز نسبت به عفونت با توکسوپلازما حساس هستند، بطوریکه توکسوپلازما علاوه بر اینکه در مغز و عضلات گوسفند و بز کیسته شده و باعث لاغری می‌شود به دلیل توکسوپلاسموز مادرزادی به سقط جنین در گوسفند نیز رخ خواهد داد.

ب. گوساله‌های جوان نسبت به گاوها به توکسوپلاسموز حساس‌ترند و علایم در گوساله‌ها بیشتر ظاهر می‌یابد.

ج. در انسان‌های مبتلا به نقص ایمنی، توکسوپلازما پس از پنوموسیستیس کارینی در درجه دوم اهمیت قرار دارد و در اروپا ۴۰ درصد موارد مرگ و میر در افراد ایدزی بدلیل توکسوپلاسموز است.

۲- ویروالانس سویه‌های مختلف توکسوپلازما از عوامل مهم دیگر در پاتوژنیسیته توکسوپلازما است.

۳- محل استقرار توکسوپلازما در میزبان نیز از فاکتورهای مهم بیماری‌زایی توکسوپلازما می‌باشد (۴).

درمان توکسوپلاسموز

جهت درمان توکسوپلاسموز می‌توان از ترکیبی از پیریمتامین (Pyrimethamine) به همراه تری سولفاپیریمیدین‌ها (Trisulfapyrimidines) است که برای مدت یک ماه تجویز می‌شوند. جهت خنثی سازی اثرات تضعیف کننده ی مغز

استخوان توسط پریمتامین می توان اسید فولینیک را هم تجویز کرد. در رتینوکورئیدیت حاد می توان از پریمتامین استفاده کرد. از کلیندامایسین نیز در درمان آنسفالیت توکسوپلاسمایی مبتلایان به ایدز به صورت داخل وریدی استفاده می شود. و از اسپیرامایسین در درمان توکسوپلاسموزیس در هنگام حاملگی و به منظور جلوگیری از انتقال درون رحمی استفاده می شود (۸۶).

پیشگیری

برای پیشگیری از ابتلا به توکسوپلازما بایستی موارد زیر رعایت شوند:

- ۱- باید از گوشت حرارت دیده (۶۶ درجه سانتی گراد به بالا) استفاده کرد. یخ زدن گوشت قدرت آلوده کنندگی انگل را کاهش می دهد ولی نمی تواند آن را از بین ببرد.
- ۲- تمامی افراد به خصوص زنان باردار باید از تماس با گربه و مدفوع آن دوری کنند. همچنین باید هنگام کار در باغچه از دست کش استفاده کنند و بعد از اتمام کار و قبل از غذا دست های خود را به خوبی بشویند.
- ۳- باید از دست زدن به گوشت خام اجتناب کرد و هنگام کار با گوشت خام از دستکش استفاده نمود و از دست زدن به چشم و دهان خودداری کرد.
- ۴- از خوردن تخم مرغ خام و شیر خام (خصوصاً شیر بز) اجتناب کرد
- ۵- دامپزشکان، قصابان و زنان باردار احتمالاً در معرض خطر بیشتری هستند، بنابر این باید اقدامات پیشگیری کننده را جدی بگیرند.
- ۶- سوسک و مگس ها می توانند توکسوپلازما را انتقال دهند بنابر این باید مواد غذایی را از دسترس آن ها دور نگه داشت.
- ۷- آزمایش خون های اهدایی از نظر آلودگی به توکسوپلازما ضروری است (۸۶).

مواد و روش ها

مواد و وسایل مورد نیاز:

- ۱- لوله های خونگیری
- ۲- لوله آزمایش
- ۳- دستگاه سانتریفوژ جهت سانتریفوژ کردن نمونه خون و به دست آوردن نمونه سرم
- ۴- سمپلر (Sampler) و سرسمپلر
- ۵- PBS و PBS-T
- ۶- لوله نگهداری سرم
- ۷- یخ خشک و یونولیت
- ۸- فریزر
- ۹- پلیت ۹۶ تایی الایزا
- ۱۰- انکوباتور (Incubator)
- ۱۱- بیکربنات سدیم 0.1 M
- ۱۲- آنتی ژن SAG1
- ۱۳- سرم اسب
- ۱۴- کونژوگه (HRP Cat-anti-goat)
- ۱۵- اسید سولفوریک نرمال
- ۱۶- دستگاه الایزا ریدر جهت قرائت کردن نتایج
- ۱۷- محلول سوپسترا

روش الایزا (ELISA)

آنتی ژن مورد استفاده در این تحقیق AGI که ابتدا به صورت لیوفیلیزه بود، در آب مقطر حل شد و مدت یک ساعت در دمای اتاق قرار گرفت. سپس با رقت ۱:۵۰ در محلول ۱/ مولار بی کربنات سدیم رقیق سازی شد. محلول حاصل در کف گوده های الایزا ریخته شده (۱۲۰ میکرولیتر) و به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه گردید ، سپس محلول فوق تخلیه شده و پلیت الایزا با محلول PBS-T به تعداد ۳ بار شستشوی داده شد. سرم های مورد بررسی در محلول PBS-T حاوی ۲۰ درصد سرم اسب (محلول blocking) رقیق سازی و به مدت نیم ساعت انکوبه شدند. در مرحله بعد مجدداً شستشو با PBS-T برای ۳ بار دیگر انجام شد. کونزوگه مورد استفاده (cat-anti-goat HRP) به میزان ۱:۴۰۰۰ در محلول PBS-T ۲ درصد سرم اسب رقیق سازی شد و به کف گوده های پلیت الایزا انتقال یافت و نیم ساعت در انکوباتور انکوبه گردید.

سپس با محلول PBS-T به تعداد ۳ بار شستشو انجام شد و ۲ مرتبه نیز با آب مقطر شستشو انجام شد. سپس محلول سوبسترا که حاوی ۱ میلی لیتر TMB حل شده در دی متیل سولفوکساید ، ۹ میلی لیتر سیترات فسفات بافر و ۲ میکرو لیتر آب اکسیژنه بود، در پلیت الایزا انکوبه شد. پس از ۱۵ دقیقه کلیه واکنش ها با استفاده از اسید سولفوریک نرمال متوقف شدند. سپس اقدام به خواندن نتایج جذب نوری با استفاده از الایزا ریدر در طول موج ۴۵۰ نانومتر شد (۲).

جمع آوری و آماده سازی نمونه

سرم یا پلاسما را می توان پس از جدا نمودن از خون استفاده نمود ، نمونه میتواند برای مدت دو روز در دمای ۲ الی ۸ درجه سانتی گراد نگهداری شود ولی برای نگهداری بیش از مدت دو روز باید از دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد استفاده کرد (در ضمن باید از Freeze- thaw کردن نمونه پرهیز شود). از نمونه های مشکوک به آلودگی میکروبی جهت انجام آزمایش استفاده نشود. (۲).

آماده سازی محلول ها

محلول کونزوگه آماده مصرف : برای تهیه مقدار کونزوگه مورد نیاز ، کونزوگه غلیظ را توسط محلول رقیق کننده کونزوگه به نسبت ۱ به ۲۰ رقیق شود. بطور مثال برای تهیه ۱ میلی لیتر محلول کونزوگه آماده مصرف ، ۵۰ میکرولیتر از آنزیم کونزوگه غلیظ با ۱ میلی لیتر محلول رقیق کننده کونزوگه به خوبی مخلوط گردد.

توضیحات عمومی

- (۱) قبل از شروع مراحل آزمایش تمام مواد و نمونه ها باید به درجه حرارت اتاق برسند
- (۲) به محض شروع آزمایش کلیه مراحل باید بدون توقف انجام پذیرند
- (۳) باید از نوک سمپلر یک بار مصرف برای هر نمونه استفاده شود
- (۴) پس از افزودن محلول متوقف کننده ، جذب نوری چاهک ها حداکثر تا نیم ساعت قابل قرائت می باشد
- (۵) برای کسب نتایج مطلوب باید شستشوی چاهک ها بصورت کامل صورت گرفته و آخرین قطرات پس از شستشو از چاهک ها تخلیه شوند
- (۶) در هنگام سمپلینگ تمام محلول ها و نمونه ها را وسط و ته چاهک ها بریزید
- (۷) از مهمترین فاکتورها در حصول نتیجه مطلوب، زمان انکوباسیون مناسب می باشد. بنابراین پیشنهاد می گردد قبل از شروع آزمایش تمام مواد و محلول های مورد نیاز را آماده نموده و درب آنها را باز کنید، این عمل با کاهش فاصله زمانی بین مراحل سمپلینگ باعث نتایج دقیق تر می شود (۲).

ارزشیابی آزمایش

- این آزمایش با داشتن شرایط زیر ارزشمند و قابل گزارش تلقی می گردد
- * جذب نوری کمتر از ۰/۱ برای بلانک، در صورت بیشتر بودن جذب نوری بلانک احتمالاً محلول رنگزا آلوده شده است
 - * جذب نوری کمتر از ۰/۱۵ برای کنترل منفی، در صورت بیشتر بودن این جذب نوری، احتمالاً شستشو به طور صحیح صورت نگرفته است ، آزمایش را دوباره انجام داده و در مراحل شستشو دقت کنید
 - * میانگین جذب نوری بیشتر از ۰/۱۵ برای سرم کنترل Cut- off

*جذب نوری بیشتر از ۰/۶ برای کنترل مثبت (۲).

محاسبه نتایج

از هر دستگاه الیزاریدر با قابلیت سنجش جذب نوری در طول موج 450 nm می‌توان استفاده نمود
(۱) جذب نوری کنترلها و نمونه‌ها را به کمک دستگاه الیزاریدر در طول موج 450 nm و در صورت امکان در مقابل فیلتر رفرانس 630nm بخوانید

(۲) جذب نوری بلانک را از کنترلها و نمونه‌ها کم کنید

(۳) جهت محاسبه مقدار Cut-off، میانگین جذب نوری سرم کنترل Cut-off را بدست آورید

$$\text{Cut-off value} = \text{Mean OD of Cut-off control}$$

برای تعیین جوابهای مثبت و منفی، مقدار ایندکس را از تقسیم جذب نوری نمونه بر مقدار Cut-off بدست آورید

$$\text{Cut-off Index (COI)} = \text{OD of sample} / \text{Cut-off value}$$

بر اساس این فرمول مقادیر بالاتر از ۱/۱ مثبت و پایین تر از ۰/۹ منفی قلمداد می‌شوند. نمونه هایی که مقدار ایندکس آنها بین ۱/۱ - ۰/۹ می‌باشد مشکوک بوده و باید پس از مدتی با استفاده از سرم یا پلاسمای تازه مجدداً آزمایش شوند (۲).

تجزیه و تحلیل یافته های پژوهش

جواب هایی که منفی گزارش می شوند نشان دهنده عدم وجود آنتی بادی IgM علیه توکسوپلازما می‌باشد.
جوابهای مثبت باید مجدداً تکرار شوند. نمونه‌های مثبتی که در تکرار مجدد منفی می‌شوند، باید منفی گزارش شوند. مثبت شدن آزمایش در مرتبه اول می‌تواند به دلیل خطای کاری در مراحل شستشو و یا نمونه برداری باشد (۲).
نتایج قرائت شده مربوط به هر نمونه، در برگه های اطلاعاتی ثبت گردید، سپس با استفاده از برنامه Excel و SPSS تجزیه و تحلیل گردید. فراوانی، درصدها و میزان شیوع سرمی توکسوپلاسموزیس تعیین و ارتباط (مورد تجزیه و تحلیل بین متغیرها با آزمون کای دو، توکی و آزمون t مستقل) قرار گرفت.

جهت تعیین (cut-off)، تست، ابتدا اقدام به تعیین میزان جذب (OD) پنج نمونه سرمی که منفی بودن آنها توسط آزمون پادتن درخشان غیر مستقیم (IFAT) ثابت شده بود، توسط الیزا شده سپس با فرمول زیر نقطه برش به دست آمد.

$$\text{Cut off} = \text{mean (OD)} + 3 \times \text{SD}$$

Mean OD: (Optical Density) برابر میانگین جذب نوری نمونه‌های منفی و SD نشانگر Standard Deviation (انحراف معیار) نمونه‌های منفی باشد.

سپس نمونه‌هایی که دارای OD بالاتر از نقطه برش بودند بعنوان مثبت و نمونه‌های دارای OD پایین تر بعنوان OD منفی در نظر گرفته شدند.

بر این اساس از تعداد ۳۸۲ نمونه مورد بررسی تعداد ۳۲۳ مورد منفی (۸۴/۵۵ درصد) و تعداد ۵۹ نمونه مثبت (۱۵/۴۴ درصد) بودند. از نمونه‌های مورد بررسی تنها ۷ مورد مربوط به موارد نر و مابقی ماده بودند و به همین دلیل امکان بررسی مقایسه‌ای آماری در این مورد نبود.

جدول ۱- نتایج حاصل از آزمایش الیزا

تعداد کل	موارد مثبت	موارد منفی
۳۸۲	۵۹ (۱۵/۴۴ درصد)	۳۲۳ (۸۴/۵۵ درصد)

نمونه‌ها بر اساس سن حیوان به سه دسته طبقه بندی شدند:

جدول ۲- تقسیم بندی سنی دام‌های مورد مطالعه

گروه اول	۰-۲۴ ماه
گروه دوم	۲۵-۳۶ ماه
گروه سوم	بالاتر از ۳۷ ماه

بر اساس گروه بندی مذکور در جدول فوق، از تعداد ۲۹ راس بز گروه اول تعداد ۲ مورد (۶/۸ درصد) مثبت و تعداد ۲۷ مورد منفی بودند. در گروه دوم از تعداد ۱۶۴ راس بز مورد بررسی تعداد ۲۷ مورد مثبت (۱۶/۴۶ درصد) و تعداد ۱۳۷ مورد منفی بودند. در گروه سوم از تعداد ۱۸۹ نمونه مورد بررسی تعداد ۳۰ نمونه مثبت (۱۵/۸۷ درصد) و تعداد ۱۵۹ مورد منفی بود.

جدول ۳- ارزیابی درون گروهی نتایج

گروه	مثبت (درصد)	منفی	مجموع
اول	۲ (۶/۸ درصد)	۲۷	۲۹
دوم	۲۷ (۱۶/۴۶ درصد)	۱۳۷	۱۶۴
سوم	۳۰ (۱۵/۸۷ درصد)	۱۵۹	۱۸۹

بر اساس اطلاعات جمع آوری شده تعداد ۱۴ مورد (۳/۶ درصد) از بزها دچار سقط جنین بوده‌اند که هیچ کدام از آنها دارای تیتیر پادتنی قابل اندازه گیری ضد تک یاخته توکسوپلازما گوندی نبودند. بررسی آماری میانگین جذب نوری (OD) نمونه‌های مورد بررسی در گروه‌های سنی مختلف انجام شد که نتایج آن به قرار زیر بود:

جدول ۴- بررسی آماری میانگین جذب نوری (OD) نمونه‌های مورد بررسی

گروه بندی	OD
گروه اول	0.45 ± 0.22
گروه دوم	0.57 ± 0.27
گروه سوم	0.58 ± 0.29

بر اساس آزمون آنالیز واریانس متوسط جذب نوری گروه اول به طور معنی داری کمتر از گروه دوم ($P=0.049$) و گروه سوم ($P=0.023$) بود. در حالیکه میانگین جذب نوری گروه‌های ۲ و ۳ تفاوت معنی داری نداشت ($P=0.59$). به منظور بررسی جنس از آزمون t مستقل استفاده شده است و تفاوت دو جنس معنی دار شده است.

جدول ۵- تفاوت میانگین OD داده‌ها از نظر جنس

جنس	۱	۲	سطح معنی داری
فاکتور			
OD	0.35 ± 0.03	0.58 ± 0.29	0.01^{**}

** تفاوت دو گروه معنی دار است ($p < 0.01$)

به منظور بررسی تفاوت میانگین OD داده‌ها از نظر گروه سنی از آزمون t در جدول تجزیه واریانس استفاده شده است و مقایسه میانگین‌ها با روش توکی انجام شده است. که تفاوت گروه ۱ با ۳ معنی دار بوده ولی گروه ۲ با هیچکدام اختلاف ندارد.

جدول ۶- تفاوت میانگین OD داده‌ها از نظر گروه سنی

گروه سنی	۱	۲	۳	سطح معنی داری
فاکتور				
OD	$0.45 \pm 0.22a$	$0.57 \pm 0.27ab$	$0.59 \pm 0.31b$	0.04

** تفاوت گروه‌ها معنی دار است ($p < 0.05$)

a, b: گروه‌ها با حروف لاتین متفاوت با هم اختلاف معنی دار دارند

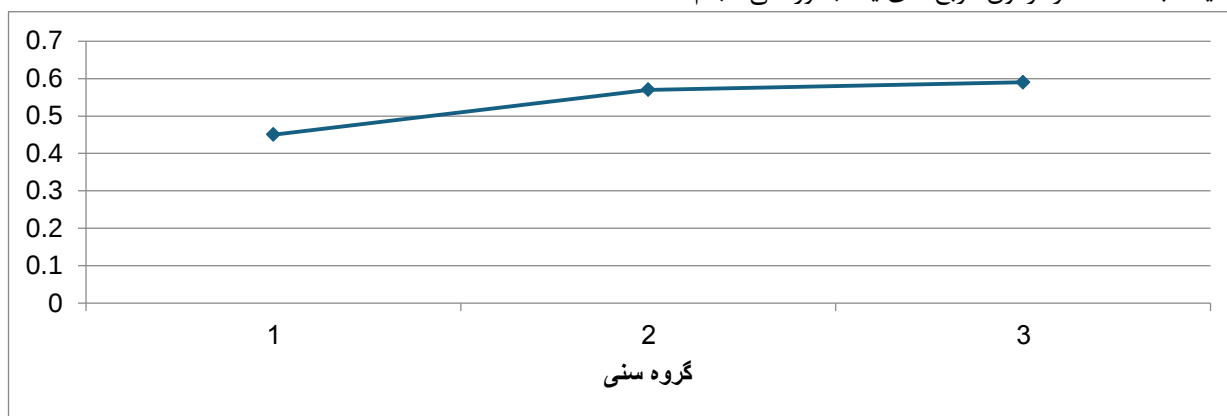
مقایسه فراوانی آلودگی در گروه‌های سنی با استفاده از آزمون مربع کای یا مجذور خی انجام شده است. تفاوت فراوانی گروه‌ها معنی دار نیست ($p > 0.05$).

جدول ۷- فراوانی آلودگی در گروه‌های سنی

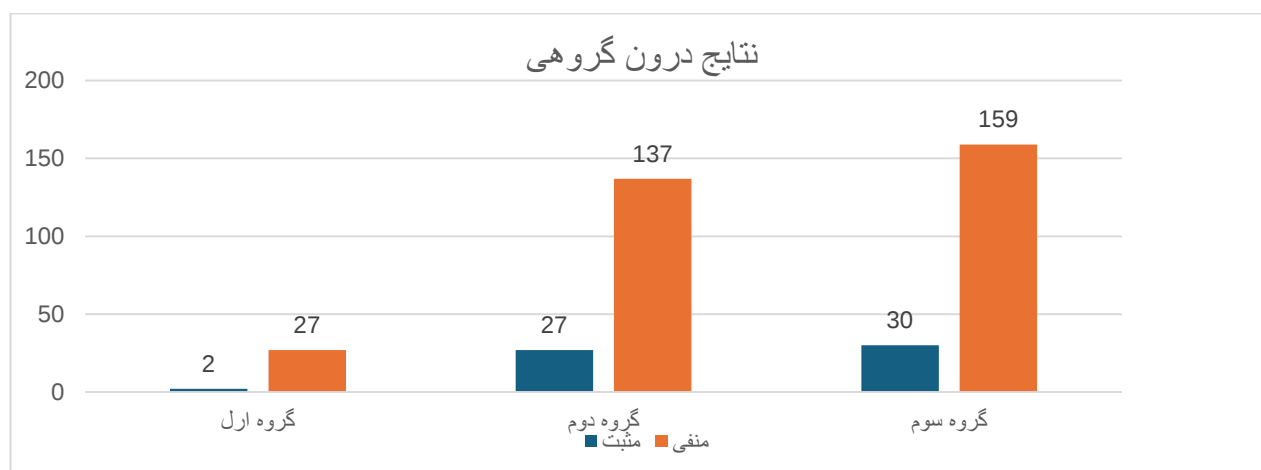
تعداد کل	آلودگی / گروه سنی	
	۱	۰
۲۸	۲ (۷/۱ درصد)	۲۶ (۹۲/۹ درصد)
۱۶۴	۲۷ (۱۶/۵ درصد)	۱۳۷ (۸۳/۵ درصد)
۱۸۸	۳۰ (۱۶ درصد)	۱۵۸ (۸۴ درصد)
	۰/۴۴ns	
	سطح معنی داری	

ns: تفاوت فراوانی گروه‌ها معنی دار نیست ($p > 0.05$).

مقایسه با استفاده از آزمون مربع کای یا مجذور خی انجام شده است.



نمودار ۱- میزان تیتراژ آنتی بادی در گروه‌های مختلف سنی



نمودار ۲- ارزیابی نتایج درون گروهی

بحث

هر ساله صنعت دامپروری با زیان‌های اقتصادی زیادی به علت بروز سقط جنین روبرو می‌شود. این خسارات به طور عمده ناشی از کاهش تولد بزغاله و بره و کاهش تولید شیر و عوارض پس از سقط جنین نظیر عفونت‌های رحمی، تأخیر در آبستنی بعدی، ناباروری و جفت ماندگی است. سقط جنین که از عوامل مهم زیان‌های اقتصادی در گله‌های نشخوارکنندگان به شمار می‌آید، توسط عوامل مختلف عفونی ایجاد می‌شود. طیف وسیعی از عوامل عفونی شامل انواع باکتری‌ها، ویروس‌ها و انگل‌ها و عوامل فیزیکی از عوامل سقط جنین هستند (۸۵). توکسوپلازما، مهم‌ترین علت سقط جنین‌های عفونی در دام‌های اهلی می‌باشد. توکسوپلازما گوندی انگل اجباری داخل سلولی است که همه‌ی پستانداران و پرندگان را درگیر می‌کند. عفونت ناشی

از این انگل وسیع بوده و دارای اهمیت اقتصادی و همچنین دارای اهمیت بهداشت عمومی است. انسان و حیوانات هم با خوردن غذای آلوده به اوووسیست اسپوریله انگل و هم با بلع گوشت خام یا نپخته حاوی کیست انگل دچار عفونت توکسوپلاسمایی می‌شوند (۵). توکسوپلاسموزیس سبب جذب جنین، سقط، دنیا آمدن نوزادان ناقص و یا ضعیف در گوسفند و بز می‌شود و یکی از علل عمده سقط جنین، مرگهای زودرس جنینی، له شدگی ها، تولد نوزادهای نارس و مرده‌زایی در گوسفند است که در نهایت خسارات اقتصادی چشمگیری را در صنعت دامداری به دنبال خواهد داشت (۵، ۹، ۱۷). ضایعات در جنین خیلی اختصاصی نبوده و شامل علائمی مثل ادم عمومی، تجمع مایعات در حفرات است که ممکن است ناشی از مرگ جنین در داخل رحم باشد (۳۲). دلیل سقط در توکسوپلاسموزیس به درستی مشخص نیست، عدم تعادل هورمونی در این بیماری ممکن است باعث سقط شود (۷). مطالعات نشان داده‌اند که میزان شیوع انگل توکسوپلاسم در جنین‌های سقط شده گوسفندان در دنیا بین ۵ تا ۲۴ درصد (۴، ۲۳، ۳۴، ۴۹، ۷۰، ۷۲) و همچنین میزان شیوع این انگل در جنین‌های سقط شده گوسفندان در ایران ۵ تا ۱۶ درصد تعیین شده است (۹، ۲۶، ۲۹، ۶۶).

استان چهارمحال و بختیاری با دارا بودن دو میلیون و پانصد هزار گوسفند و بز و حدود دویست هزار گاو، از استان های مهم کشور در تولید گوشت است. هوای استان چهار محال و بختیاری متنوع ولی در مجموع سرد کوهستانی است و شرایط بسیار مساعدی برای کشاورزی و دامپروری دارد و با توجه به شرایط آب و هوایی منطقه این استان، و از آنجایی که گوسفند یکی از مهمترین دام ها در این منطقه بوده و اصلی ترین منبع تامین گوشت و فراورده‌های لبنیاتی است که می‌تواند آلودگی را به انسان منتقل دهد لذا تصمیم به بررسی میزان شیوع توکسوپلاسموزیس در جنین‌های سقط شده‌ی گوسفندان این منطقه با روش سرولوژی گرفته شد تا اطلاعات کسب شده کمک به بهداشت ساکنین منطقه و در عین حال پیشگیری از خسارات ناشی از این عفونت در دام کرده باشد. در این مطالعه مشخص شد که ۱۵/۴۴ درصد بزها آلوده به انگل توکسوپلاسم گوندی بوده‌اند. همچنین نتایج نشان داد بر اساس اطلاعات جمع آوری شده تعداد ۱۴ مورد (۳/۶ درصد) از بزها دچار سقط جنین بوده‌اند که هیچ کدام از آنها دارای تیترا پادتنی قابل اندازه گیری ضد تک یاخته توکسوپلاسم گوندی نبودند. پژوهش‌های مختلفی در ایران و سایر کشورها انجام شده است. در مطالعه‌ای در عربستان مشخص شد که در ۹/۹ درصد جنین‌های سقط شده‌ی گوسفندان آنتی بادی ضد توکسوپلاسم را داشته‌اند (۳۲) که این نتیجه با محصل این تحقیق مطابقت ندارد. در آلمان و ایتالیا میزان شیوع این انگل در جنین‌های سقط شده گوسفندان و بز ۱۰ تا ۱۳ درصد (۴، ۷۶). در برزیل ۱۴ درصد (۲۳)، در اسپانیا وجود انگل توکسوپلاسم گوندی در جنین‌های سقط شده گوسفندان و بزها به ترتیب ۵/۴ و ۳/۸ درصد (۷۰) و در شمال مرکزی ایالات متحده ۲۰ درصد (۸) گزارش شده است. مطالعات مختلفی در مورد بررسی شیوع انگل توکسوپلاسم گوندی در بز و گوسفندان در شهرهای مختلف ایران انجام گرفته است و میزان آلودگی را از ۵ تا ۳۵ درصد تعیین کرده‌اند (۳، ۶، ۳۰، ۷۵). در مطالعه‌ای در تبریز نشان داده شد که شیوع آنتی بادی علیه این انگل در گوسفندان و بزها ۱۴/۵ درصد بوده است و مشاهده گردید که بین عفونت و سقط در جنین بز و گوسفندان به علت انگل توکسوپلاسم ارتباط معناداری وجود داشته است (۵۳). میزان آلودگی به انگل توکسوپلاسم در جنین‌های سقط شده گوسفندان استان خراسان رضوی ۵ تا ۱۶ درصد تعیین گردید (۳۰، ۶۶). در استان خراسان رضوی و استان خراسان شمالی به ترتیب ۳۱/۱۷ و ۳۰/۸ درصد خانم‌های باردار دارای آنتی بادی علیه این انگل بودند که این نشان دهنده این موضوع است که درصد زیادی از خانم‌های باردار این مناطق فاقد آنتی بادی علیه انگل توکسوپلاسم بوده و ابتلا به این انگل در حین بارداری یک نقطه خطر در این مناطق به حساب می‌آید (۲۵، ۳۵). در تحقیقی در رفسنجان (۸۳) و زنجان (۳۳) نشان داده شد که انگل توکسوپلاسم یکی از دلایل سقط در خانم‌های باردار است. در بابل نیز ۶۰ درصد خانم‌های باردار آنتی بادی ضد این انگل را دارا بودند (۳۲). بررسی‌های انجام شده در زاهدان و همدان نشان می‌دهد به ترتیب ۳۰/۸ و ۳۳/۵ درصد خانم‌های باردار آنتی بادی IgG بر علیه توکسوپلاسم را داشته‌اند (۲۲، ۵۱). شیوع عفونت توکسوپلاسم در مناطق معتدل شمالی سپس مناطق معتدل و خشک کوهپایه‌ای و پس از آن مناطق سرد کوهستانی شمال غرب و مرکز ایران، مناطق گرم و خشک مرکزی و گرم و مرطوب جنوب می‌باشد (۶۵). میزان شیوع انگل توکسوپلاسم گوندی در گوسفندان استان‌های خراسان، قزوین و آذربایجان شرقی بین ۱۳/۵ تا ۶۹ درصد

گزارش شده است (۲۶، ۳۰، ۳۱). نتایج نشان داده است که شرایط رطوبت مناسب و مطلوب شرایط مناسبی را برای بقای انگل توکسوپلازما گوندی فراهم می‌کند ولی شرایط رطوبت کم و دمای نسبتاً بالا تواند شرایط را برای بقای آسیتها نامناسب کند (۲۶، ۳۰، ۳۱). در مطالعه دیگر در اردبیل و ایلام نشان داده شده است که شیوع انگل توکسوپلازما در این مناطق نسبت به شمال ایران کمتر است. یکی از دلایل این موضوع در شمال ایران، رطوبت بالای ۹۰ درصد و درجه حرارت متوسط ۱۵ تا ۲۵ سانتی گراد است که امکان عفونی شدن آسیت‌های دفع شده، فراهم تر است (۶، ۸۷). در مطالعه حاضر مشخص شد که اگرچه از نظر توکسوپلازما گوندی شیوع آنچنان بالایی حاکم نیست اما درصدی از آلودگی مشاهده می‌شود که پایش و توجه به آن امری ضروریست. در سال‌های ۱۳۹۵ و ۱۳۹۶ به ترتیب بیشترین و کمترین میزان آلودگی جنین‌های سقط شده بز و گوسفندان به توکسوپلازما گوندی مشاهده گردید. یکی از دلایل این موضوع شرایط اقلیمی مناسب در سال‌های ۱۳۹۵ بوده و شرایط آب و هوایی مساعد برای اسپورولاسیون آسیت‌ها در آن سال می‌باشد. مطالعات قبلی نیز نشان داده‌اند که هرچه میزان متوسط بارندگی سالانه بیشتر باشد میزان شیوع انگل توکسوپلازما افزایش می‌یابد (۶۸). در استان‌های مازندران و گیلان با متوسط بارش سالانه به میزان ۳۹۰ تا ۷۰۰ میلی متر، میزان شیوع این انگل ۲۰ تا ۹۰ درصد و در استان کرمان با متوسط بارش سالانه به میزان ۱۳۹ میلی متر، میزان شیوع انگل توکسوپلازما ۲۴/۷ درصد گزارش شده است (۶۸) میزان بارش در شهرهای استان خراسان شمالی در سال ۱۳۹۵ بیش از سال ۱۳۹۴ و ۱۳۹۶ بوده و با همان تناسب آلودگی جنین‌ها به انگل توکسوپلازما در سال ۱۳۹۵ بیش از دو سال دیگر (۱۳۹۴ و ۱۳۹۶) می‌باشد که می‌توان یکی از دلایل این موضوع را شرایط مناسب برای اسپورولاسیون آسیت‌ها ذکر کرد (۳، ۴، ۱۷).

توکسوپلازموزیس در سه ماهه اول بارداری بیشتر منجر به مرگ جنین بز و گوسفند می‌شود و این زمانی است که سیستم ایمنی جنین تقریباً نابالغ است. عفونت در میانه بارداری منجر به تولد بره ضعیف یا مرده شده و آلودگی در اواخر بارداری ممکن است باعث تولد بره عفونی زنده به ظاهر سالم گردد (۹). مطالعات دیگر نیز نشان داده‌اند که سقط در ارتباط با عفونت توکسوپلازما گوندی در میانه بارداری، زمانی که سن جنین بین ۱۱۰ تا ۱۳۰ روز است، اتفاق می‌افتد (۲۸) در تحقیقی نیز دانه چیان و همکاران نشان دادند که میزان عفونت توکسوپلازما در جنین‌های با گروه سنی بیشتر از ۱۲۰ روز بیش از گروه‌های سنی دیگر بوده است (۲۲)، در این تحقیق سن جنین‌های سقط شده گوسفندان، بالای ۱۲۰ روز بوده است که نتیجه مطالعه حاضر با نتیجه مطالعات قبلی نیز مطابقت دارد (۲۳). جهت تشخیص انگل توکسوپلازما گوندی از روش‌های مختلف PCR، الایزا، فلورسنت و غیره استفاده می‌شود و انجام روش مولکولی دارای هزینه بیشتری بوده و نیاز به زمان بیشتری دارد (۲۲، ۸۸).

در مطالعه حاضر از روش الایزا استفاده شد که روش معتبری در تشخیص این انگل است و نسبت به سایر روش‌ها از حساسیت بالایی برخوردار است، ضمن اینکه ساده و ارزان است و در زمان کوتاه‌تر نتیجه آزمایش مشخص می‌شود (۲).

با توجه به اهمیت روش شناسایی این انگل، تحقیقات مختلفی در این باره در ایران و سایر کشورها انجام شده است. در یک بررسی در استان چهارمحال و بختیاری از ۱۰۰۰ نمونه خون اخذ شده از گوسفندان این استان ۲۹/۱٪ (۲۹۱) نمونه مثبت اعلام شدند. روش انجام شده در این بررسی پادتن درخشان غیرمستقیم می‌باشد (۲). در بررسی دیگری در کردستان ایران به روش الایزا از ۳۸۶ نمونه خونی ۲۱/۷۴٪ (۸۰) نمونه‌ها مثبت اعلام شدند (۹). در مطالعه‌ای که به روش آگلوتیناسیون تغییر یافته، در شمال غرب ایران - ارومیه انجام شد؛ ۲۱/۱٪ از نمونه‌های گوسفندی مورد نظر مثبت اعلام شدند (۲۳). Asgari و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی‌ای که به روش آگلوتیناسیون تغییر یافته در شیراز انجام شد نشان دادند که ۲۹/۵٪ (۹۵) نمونه‌ی خون گوسفندی مثبت می‌باشد (۶). در بررسی که در همدان به روش الایزا انجام شد، از ۳۶۰ نمونه‌ی خون گوسفندی با سابقه سقط؛ ۳/۱٪ (۶۰) نمونه‌ها آلوده به توکسوپلازما گوندی اعلام شدند (۸). در این بررسی که با روش Nested-PCR-RFLP در قزوین انجام شد؛ ۱۶٪ از میش‌های آبستنی که سقط داده‌اند آلوده به انگل توکسوپلازما گوندی نوع یک بوده‌اند (۶). نتایج این مطالعه و مطالعه حاضر مشابه است. Youssefi و همکاران در سال ۲۰۰۴ نشان دادند که شیوع سرمی آلودگی به توکسوپلازما گوندی در شهر بابل ۳۱/۲٪ می‌باشد. این مطالعه به روش پادتن درخشان غیرمستقیم می‌باشد (۷۳). در بررسی‌ای که در مازندران به روش پادتن درخشان غیرمستقیم انجام شده است، از ۵۸۸ نمونه

خون گوسفندی گرفته شده ۳۵٪ (۲۰۶) نمونه‌ها مثبت اعلام شده‌اند (۲۸). Hashemi Fesharki در سال ۱۹۹۴ در بررسی‌هایی که به روش‌های (LAT) و (IHAT) در مناطقی از ایران انجام داد، نشان داد که میانگین شیوع سرمی آلودگی به توکسوپلازما گوندی در گوسفند ۲۴/۵٪ می‌باشد (۶۵). Dubey در سال ۲۰۰۸ در مقاله‌ای مروری میزان شیوع سرمی توکسوپلازما سموزیز در گوسفندان برخی کشورها که به روش پادتن درخشان غیرمستقیم به دست آمده بود را بدین ترتیب بیان کرد: در آرژانتین (۴۱/۴٪)، در استرالیا (۶۶/۴٪)، در سائوپائولو (۳۷/۴٪)، شیلی (۲۸٪)، ایتالیا (۲۸/۵٪)، مکزیک (۳۷/۹٪)، لهستان (۵۳/۶٪)، عربستان سعودی (۵۲/۲٪)، سنگال (۴۶/۳٪)، آفریقای شمالی (۵/۶٪)، زیمبابوه (۴۷/۸٪)، اوروگوئه (۳۲/۵٪) و اسپانیا (۴۲/۷٪) می‌باشد (۲۷). تمامی این مطالعات حاکی از شیوع بالاتر توکسوپلازما گوندی در کشورهای مذکور نسبت به مطالعه حاضر است. در بررسی انجام شده توسط Raeghi و همکاران در سال ۲۰۱۱ به روش آگلوتیناسیون متغیر یافته در ارومیه؛ نشان داده شد که ۲۱/۱٪ (۳۳) نمونه‌ها مثبت اعلام شده است (۸۴). Fallah و همکاران در سال ۲۰۰۷ نشان دادند که در تهران ۶۱/۲۴٪ نمونه‌های خون گوسفندی به روش (DA) مثبت از (۳۷۸ نمونه‌ی خون)، در خوزستان ۱۳/۸٪ به روش (LAT) مثبت از (۱۳۸ نمونه‌ی خون) و در اردبیل به روش الیزا از ۲۰۰ نمونه‌ی خون گوسفندی گرفته شده (۳۱٪) نمونه‌ها مثبت اعلام شده است (۲۴، ۵۱). این مطالعه درصد بالاتری نسبت به مطالعه حاضر می‌باشد.

نتیجه گیری و پیشنهادات

با توجه به مطالب عنوان شده میتوان چنین نتیجه گرفت که اگرچه شیوع توکسوپلازما گوندی در منطقه مورد مطالعه بعضاً پایینتر از برخی نقاط جهان میباشد، اما لزوم پیشگیری از شیوع انگل توکسوپلازما گوندی بسیار ضروری به نظر می‌رسد. چرا که در صورت عدم پیشگیری شاهد روند رو به رشد آلودگی خواهیم بود و نکته مورد توجه اینست که آلودگی در این سطح نیز موجب بروز خسارات و خطرات بالقوه ای که به تفصیل در طول این مطالعه بدان اشاره شد، خواهد گردید. اقدامات پیشگیرانه شامل آموزش دامداران، کاهش آلودگی محیط بوسیله آووسیست‌ها، کاهش جمعیت گربه‌هایی که قادر به پخش آووسیست هستند، کاهش تولید مثل گربه‌ها به منظور باقی گذاشتن گربه‌های بالغ غیر آلوده، کنترل تولید مثل‌های آینده و برنامه‌های کنترلی منظم و پیوسته عقیم سازی گربه ها میباشدند. تغذیه گربه‌ها با غذاهای تجاری آماده و یا با غذاهایی که بوسیله پختن یا انجماد فرآوری شده اند می‌تواند نقش بسزایی در کاهش احتمال انتقال آلودگی داشته باشد. امروزه واکسن زنده در بازار برخی کشورها به منظور کاهش خسارات به صنعت پرورش بز و گوسفند بوسیله توکسوپلازما سموز مادرزادی ارایه شده است. همچنین پایش، آموزش و اهتمام در راستای بهداشت دامداری‌ها در جهت پیشگیری از خسارات ناشی از این عفونت در دام بایستی در دستور کار قرار گیرد. توصیه میشود مطالعات گسترده تری در خصوص میزان شیوع این انگل، پراکندگی جغرافیایی و شیوع فصلی آن و همچنین میزان ابتلا به بیماری و ارتباط آن با جنس، سن و نوع دام مورد پژوهش قرار گیرد.

منابع

1. Esch GW. Toxoplasmosis of animals and humans. Journal of Parasitology. 2010;96(5):940-.
۲. بهادری ا، صدرائی ج، مرصوصی م. روش الیزا اویدیتی در تشخیص توکسوپلازما سموزیس مادرزادی، مجله علوم پزشکی رازی. ۲۰۱۳؛ ۹۲.
۳. غروی م ج، اورمزدی ه، قره‌گزلو ب، روئین تن ا. مقایسه حساسیت و ویژگی روش‌های تشخیصی توکسوپلازما سموز بر اساس سنجش IgG و IgM مجله دانشگاه علوم پزشکی ایران. ۱۳۸۶؛ ۵۷.
۴. فرانکلین ن، هارولد ب. انگل شناسی پزشکی ترجمه دکتر عمید اطهری. انتشارات آبیژ، تهران. ۱۳۸۹؛ بهار ۱۳۸۹.
5. Abu-Dalbouh MA-a, Ababneh MM, Giadinis ND, Lafi SQ. Ovine and caprine toxoplasmosis (Toxoplasma gondii) in aborted animals in Jordanian goat and sheep flocks. Tropical animal health and production. 2012;44:49-54.

6. Asgari Q, Sarkari B, Amerinia M, Panahi S, Mohammadpour I, Sarvestani AS. Toxoplasma infection in farm animals: a seroepidemiological survey in Fars Province, south of Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*. 2013;6(3):269-72.
7. Bonyadian M, Hematzade F, Manuchehri K. Seroprevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep in center of Iran. *Pakistan Journal of Biological Sciences: PJBS*. 2007;10(18):3228-30.
8. Chessa G, Chisu V, Porcu R, Masala G. Molecular characterization of *Toxoplasma gondii* Type II in sheep abortion in Sardinia, Italy. *Parasite*. 2014;21.
9. Salehi M, Nezami H. A Survey of *Toxoplasma Gondii* Infection in Aborted Fetuses of Sheep Using ELISA Method in Different Cities of North Khorasan Province. *J Vet Res*. 2019;74(3):304-10.
10. Dubey JP. *Toxoplasmosis of animals and humans*: CRC press; 2016.
11. Frenkel J. Pursuing toxoplasma. *The Journal of infectious diseases*. 1970;122(6):553-9.
12. Dubey JaB, CP. *Toxoplasmosis of Animal and Man*. Florida. CRC Press. 1989;pp:105-106.
13. Bogitsh BaC, TC. *Human Parasitology*. Academic Press, San Diego. 1998;2nd ed.
14. Wolf A, Cowen D, Paige B. Human toxoplasmosis: occurrence in infants as an encephalomyelitis verification by transmission to animals. *Science*. 1939;89(2306):226-7.
15. Pinkerton H, Weinman D. *Toxoplasma* infection in man. *Arch Pathol*. 1940;30(1).
16. Ansari-Lari M, Farashbandi H, Mohammadi F. Association of *Toxoplasma gondii* infection with schizophrenia and its relationship with suicide attempts in these patients. *Tropical Medicine & International Health*. 2017;22(10):1322-7.
۱۷. غروی م ج. آزمایشهای معمولی و اختصاصی. انتشارات تیمورزاده نوین، آزمایشگاه انگل شناسی پزشکی دانشگاه تهران. فروردین ۱۳۹۱.
18. Behzadi R, Razavi M, Hovanessian A, Asmar M, Rouhvand F. Genotyping of *Toxoplasma gondii* strains isolated from patients and mice by PCR-RFLP assay. 2003.
19. Akuffo H, Ljungstrm I, Linder E, Wahlgren M. *Parasites of the colder climates*: CRC Press; 2002.
20. Sharif M, Gholami S, Ziaei H, Daryani A, Laktarashi B, Ziapour S, et al. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in cattle, sheep and goats slaughtered for food in Mazandaran province, Iran, during 2005. *The Veterinary Journal*. 2007;174(2):422-4.
21. Robert-Gangneux F, Dardé M-L. Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clinical microbiology reviews*. 2012;25(2):264-96.
22. Danehchin L, Razmi G, Naghibi A. Molecular detection of *Toxoplasma gondii* infection in aborted fetuses in sheep in Khorasan Razavi province, Iran. *Iranian Journal of Veterinary Medicine*. 2017;11(2).
23. Darwich L, Cabezón O, Echeverria I, Pabón M, Marco I, Molina-López R, et al. Presence of *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* DNA in the brain of wild birds. *Veterinary Parasitology*. 2012;183(3-4):377-81.
24. Fallah M, Rabiee S, Matini M, Taherkhani H. Seroepidemiology of toxoplasmosis in primigravida women in Hamadan, Islamic Republic of Iran, 2004. *EMHJ-Eastern Mediterranean Health Journal*, 14 (1), 163-171, 2008. 2008.
25. Khezri M, Mohammadian B, Esmailnia K, Khezri O. Toxoplasmosis in sheep from Kurdistan province, Iran. *Afr J Microbiol Res*. 2012;6(18):3989-92.
26. Dubey J, Kirkbride C. Toxoplasmosis and other causes of abortions in sheep from north central United States. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1990;196(2):287-90.

27. Dubey J. Toxoplasmosis in sheep—the last 20 years. *Veterinary parasitology*. 2009;163(1-2):1-14.
28. de Moraes ÉPBX, da Costa MM, Dantas AFM, da Silva JCR, Mota RA. *Toxoplasma gondii* diagnosis in ovine aborted fetuses and stillborns in the State of Pernambuco, Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2011;183(1-2):152-5.
29. Heidari H, Gharekhani J, Tavoosidana G. Role of toxoplasmosis in abortion of ewes in western Iran: a serological study. *Sci Parasitol*. 2013;14(2):99-103.
30. Hoghooghi-Rad N, Afraa M. Prevalence of toxoplasmosis in humans and domestic animals in Ahwaz, capital of Khoozestan Province, south-west Iran. *The Journal of tropical medicine and hygiene*. 1993;96(3):163-8.
31. Gondim LS, Abe-Sandes K, Uzêda RS, Silva MS, Santos SL, Mota RA, et al. *Toxoplasma gondii* and *Neospora caninum* in sparrows (*Passer domesticus*) in the Northeast of Brazil. *Veterinary Parasitology*. 2010;168(1-2):121-4.
32. Frenkel J. Pathophysiology of toxoplasmosis. *Parasitology Today*. 1988;4(10):273-8.
33. Kavari A, Nowzari N, Moazeni Jula G, Moazeni Jula F, Hashemizadeh H. A serological and molecular study on *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goat in Tabriz. *Archives of Razi Institute*. 2013;68(1):29-35.
34. Ebrahimzadeh A, Mohammadi S, Davoodi T, Salimi Khorashad A, Jamshidi A. Seroepidemiology of toxoplasmosis among pregnant women referring to the reference laboratory of Zahedan, Iran (2011). *Medical Laboratory Journal*. 2013;7(3):61-8.
35. Farhang HH. Studying Serologic incidence of toxoplasmosis using ELISA in sheep and goats in Tabriz city and its relation to abortion. *Entomology and Applied Science Letters*. 2017;3(2):49-51.
36. Rassouli M, Razmi G, Bassami M, Movassaghi A, Azizzadeh M. 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*. 2011;138(6):691-7.
37. Soulsby E. Helminths. Arthropods and Protozoa of domesticated animals. 1982;291.
38. Dubey J, Mattix M, Lipscomb T. Lesions of neonatally induced toxoplasmosis in cats. *Veterinary pathology*. 1996;33(3):290-5.
39. Pavesio C, Chiappino M, Setzer P, Nichols B. *Toxoplasma gondii*: differentiation and death of bradyzoites. *Parasitology research*. 1992;78:1-9.
40. Arene F. The prevalence and public health significance of *Toxoplasma gondii* in indigenous meat animals in the Niger Delta. *Tropenmedizin und Parasitologie*. 1984;35(2):133-5.
41. Dubey J. Tachyzoite-induced life cycle of *Toxoplasma gondii* in cats. *Journal of Parasitology*. 2002;88(4):713-7.
42. Schares G, Pantchev N, Barutzki D, Heydorn A, Bauer C, Conraths F. Oocysts of *Neospora caninum*, *Hammondia heydorni*, *Toxoplasma gondii* and *Hammondia hammondi* in faeces collected from dogs in Germany. *International Journal for Parasitology*. 2005;35(14):1525-37.
43. Lindsay DS, Dubey J, Toivio-Kinnucan M, Michiels J, Blagburn BL. Examination of extraintestinal tissue cysts of *Isospora belli*. *The Journal of parasitology*. 1997:620-5.
44. Etheredge G, Frenkel J. Human *Toxoplasma* infection in Kuna and Embera children in the Bayano and San Blas, eastern Panama. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 1995;53(5):448-57.

۴۵. محب علی م. بیماری های تک یاخته ای مشترک بین انسان و دام. انتشارات نادیان. ۱۳۷۵: ۱۲۳-۱۴.

۴۶. راد م. بیماری های مشترک بین انسان و دام. چاپ دوم، انتشارات دانشگاه تهران. ۱۳۷۸: ۱۷۹-۴۳.

۴۷. ذوقی ا. ترجمه توکسوپلاسموز در انسان و حیوانات. چاپ اول انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی. ۱۳۷۲: ۶۹-۵.
48. Jg M. Liesenfeld O. Toxoplasmosis. The lancet. 2004;363(9425):1965-76.
۴۹. ادیسیان غ، رضائیان م، قربانی م، کشاورز ح و محبعلی م. تکیاخته شناسی پزشکی. دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تهران. ۱۳۸۶.
۵۰. صالحی، نظامی. بررسی میزان آلودگی به توکسوپلاسمای گوندی در جنین های سقط شده گوسفندان با استفاده از روش الایزا در شهر های مختلف استان خراسان شمالی. مجله تحقیقات دامپزشکی. ۱۳۹۴: ۷۴(۳): ۳۰-۱۰.
۵۱. سقا، دریانی، احمد . Seroepidemiology of toxoplasmosis in women referring to the laboratory of health center in Ardabil for premarital medical examinations. دانشگاه علوم پزشکی اردبیل. ۲۰۰۴: ۴(۱۳): ۱۹-۲۵.
52. Unzaga JM, Moré G, Bacigalupe D, Rambeaud M, Pardini L, Dellarupe A, et al. Toxoplasma gondii and Neospora caninum infections in goat abortions from Argentina. Parasitology International. 2014;63(6):865-7.
53. Dubey JP. Toxoplasmosis—a waterborne zoonosis. Veterinary parasitology. 2004;126(1-2):57-72.
54. Jameson JL, Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Harrison's principles of internal medicine: McGraw-hill education; 2018.
۵۵. کارگاه ها. کلونینگ و تعیین توالی ژن کد کننده آنتی ژن اصلی سطحی (SAG1) توکسوپلاسمای گونده ای.
56. Dubey JP. The history and life cycle of Toxoplasma gondii. Toxoplasma gondii: Elsevier; 2020. p. 1-19.
57. Howe DK, Sibley LD. Toxoplasma gondii comprises three clonal lineages: correlation of parasite genotype with human disease. Journal of infectious diseases. 1995;172(6):1561-6.
58. Saeij JP, Boyle JP, Boothroyd JC. Differences among the three major strains of Toxoplasma gondii and their specific interactions with the infected host. Trends in parasitology. 2005;21(10):476-81.
59. Ayi I, Edu S, Apea-Kubi K, Boamah D, Bosompem K, Edoh D. Sero-epidemiology of toxoplasmosis amongst pregnant women in the greater Accra region of Ghana. Ghana medical journal. 2009;43(3).
60. Gilbert RE, Stanford MR. Is ocular toxoplasmosis caused by prenatal or postnatal infection? British Journal of Ophthalmology. 2000;84(2):224-6.
61. Dubey J, Murrell K, Fayer R, Schad G. Distribution of Toxoplasma gondii tissue cysts in commercial cuts of pork. Journal of the American Veterinary Medical Association. 1986;188(9):1035-7.
62. Holliman R. Congenital toxoplasmosis: prevention, screening and treatment. journal of Hospital Infection. 1995;30:179-90.
63. Braunwald E, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL. Harrison's principles of internal medicine. Harrison's principles of internal medicine: McGraw Hill; 2001.
64. Giblin PT, Poland ML, Sachs BA. Pregnant adolescents' health-information needs: Implications for health education and health seeking. Journal of Adolescent Health Care. 1986;7(3):168-72.
65. Hashemi-Fesharki R. Seroprevalence of Toxoplasma gondii in cattle, sheep and goats in Iran. Veterinary parasitology. 1996;61(1-2):1-3.
66. Hurtado A, Aduriz G, Moreno B, Barandika J, García-Pérez AL. Single tube nested PCR for the detection of Toxoplasma gondii in fetal tissues from naturally aborted ewes. Veterinary parasitology. 2001;102(1-2):17-27.

67. Hussein M, Almufarrej S, Aljumaah R, Al-Saiady M, Elnabi AGA, Zaid AT. Serological prevalence of *Toxoplasma gondii* and its association with abortion in sheep in Saudi Arabia. *Acta veterinaria*. 2011;61(4):405-14.
68. Jalai N, Olfatian Gilan, B., Tavasoli, A., Tanomand, A., Reaghi, S. Seroepidemiology of Toxoplasmosis among pregnant women referring to health center laboratories of bojnurd in 2013. *North Khorasan Univ Med Sci*(5). 2013:1101-5.
69. Zakeri S, Khorami N, Ganji ZF, Sepahian N, Malmasi A-A, Gouya MM, et al. *Leptospira wolffii*, a potential new pathogenic *Leptospira* species detected in human, sheep and dog. *Infection, Genetics and Evolution*. 2010;10(2):273-7.
70. Habibi G, Imani A, Gholami M, Hablolvarid M, Behroozikhah A, Lotfi M, et al. Detection and identification of *Toxoplasma gondii* type one infection in sheep aborted fetuses in Qazvin Province of Iran. *Iranian Journal of Parasitology*. 2012;7(3):64-72.
71. Weiss LM, Dubey JP. Toxoplasmosis: A history of clinical observations. *International journal for parasitology*. 2009;39(8):895-901.
72. Moreno B, Collantes-Fernández E, Villa A, Navarro A, Regidor-Cerrillo J, Ortega-Mora L. Occurrence of *Neospora caninum* and *Toxoplasma gondii* infections in ovine and caprine abortions. *Veterinary Parasitology*. 2012;187(1-2):312-8.
73. Youssefi M, Sefidgar S, Ghaffari S. Seroepidemiology of sheep toxoplasmosis in Babol northern Iran 2004. *Pakistan journal of biological sciences: PJBS*. 2007;10(7):1147-8.
74. Tavassoli M, Ghorbanzadehghan M, Esmaeilnejad B, editors. Foll Detection of *Toxoplasma gondii* in sheep and goats blood samples by PCR-RFLP in Urmia. *Veterinary research forum: an international quarterly journal*; 2013: Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
75. Kalantari N, Ghaffari S, Bayani M, Agapour R, Zeinalzadeh M, Gavipanjeh F, et al. Serological study of toxoplasmosis in pregnant women in Babol, northern Iran 2012-2013. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*. 2014;22(4):102-8.
76. Amirkhani A, Aghighi Z. Seroepidemiology and risk factors of toxoplasmosis in high school girls of Ilam in the year 2012. *Journal of Advanced Biomedical Sciences*. 2014;4(3):301-10.
77. Razmi GR, Ghezi K, Mahooti A, Naseri Z. A serological study and subsequent isolation of *Toxoplasma gondii* from aborted ovine fetuses in Mashhad area, Iran. *Journal of Parasitology*. 2010;96(4):812-4.
78. Steuber S, Niu A, Bauer C, Reetz J, Roth A, Janitschke K. The detection of *Toxoplasma gondii* in abortion tissues of sheep using the polymerase chain reaction. *DTW Deutsche Tierärztliche Wochenschrift*. 1995;102(2):91-3.
79. Shahmoradi A, Rezaeian M, ASLE AHD. Sheep an important reservoir of human toxoplasmosis in Iran. *Med J IR Iran*. 1993;7(3):173-4.
80. Sharma S, Sandhu K, Bal M, Kumar H, Verma S, Dubey J. Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii* in sheep, cattle, and buffaloes in Punjab, India. *Journal of Parasitology*. 2008;94(5):1174-5.
81. Munday B, Corbould A. The application of the *Toxoplasma* indirect fluorescent-antibody test to sheep sera. *Aust J Med Technol*. 1971;2:3-6.
82. Shaddel M, Mehbod A, Karamy M. *Toxoplasma gondii* infection in neonates. *Iranian Journal of Parasitology*. 2007;2(3):34-7.
83. Nourmohammadi M, Hamidinejat H, Tabandeh M, Goraninejad S, Bahrami S. Genotyping of zoonotic *Toxoplasma gondii* isolated from aborted fetuses of ewes of Lorestan Province based on SAG2, SAG3 and GRA6 molecular markers. *Journal of Ardabil University of Medical Sciences*. 2017;17(3):343-52.

84. Raeghi S, Akaberi A, Sedeghi S. Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in sheep, cattle and horses in Urmia North-West of Iran. *Iranian journal of parasitology*. 2011;6(4):90.
85. Firouzvand Y, Ahmadi BK, Afsari M. Evaluation of the Effects of Toxoplasmosis in Small Ruminants on the Epidemiology of Human Toxoplasmosis by Indirect ELISA in Kaleybar Region, North West of Iran. *International Journal of Medical Parasitology and Epidemiology Sciences*. 2020;1(3):65-9.
۸۶. جلالی ن. ترجمه انگل شناسی پزشکی مارکل. انتشارات تیمورزاده. ۱۳۸۵: ۲۴۰-۱۳۹ و ۴۰۸-۳۴۶.
87. Giadinis ND, Terpsidis K, Diakou A, Siarkou V, Loukopoulos P, Osman R, et al. Massive toxoplasma abortions in a dairy sheep flock and therapeutic approach with different doses of sulfadimidine. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*. 2011;35(3):207-11.
88. Zavari T, Mirzaei S, Rezaeian M, Zainodini N, Zare-Bidaki M. A study of the seroprevalence of IgG and IgM immunoglobulins against *Toxoplasma gondii* in pregnant women referred to niknafs maternity ward of Rafsanjan city and in umbilical cord of their infants in 2013. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*. 2015;14(6):507-18.