Journal of Veterinary Medicine & Laboratory 16 (2024), Serial Number 25, 45-52

Journal of Veterinary Medicine & Laboratory

Journal homepage: https://jvlr.semnan.ac.ir/

Semnan University

ISSN: 2821-0506

Research Article

Genomic investigation of *Toxoplasma gondii* in sheep milk collected from Sistan region by PCR method

Shahin, Rashki.[1] , Maryam, Ganjali.[2*], Mohammad, Mohebbi.[3].

Abstract

Toxoplasmosis is a common disease in humans and other animals. Among animals, sheep and goats are more infected with Toxoplasma gondii. Humans can be infected with in various ways; Toxoplasmosis is usually transmitted to humans through consumption of raw or undercooked meat infected with Toxoplasma cysts, unpasteurized milk, contact with infected cats, or water and food contaminated with cat oocysts. If a person is exposed to toxoplasmosis in the first pregnancy, there is a possibility that the fetus will also be infected. Considering the great importance of Toxoplasma gondii as a possible agent transmitted through milk, the aim of this study is molecular investigation of toxoplasmosis in sheep milk samples collected from Sistan region. In this research, the polymerase chain reaction (PCR) method was used to detect Toxoplasma gondii DNA by examining the B1 gene in sheep milk. In the present study, 90 raw sheep milk from different regions were evaluated in the laboratory.In this way, the DNA extracted from the samples and the parasite was tracked using the polymerase chain reaction. The results of this study showed that 2 samples (2.2%) were infected with Toxoplasma gondii. The presence of Toxoplasma gondii DNA in sheep's milk increases the possibility of transmission of this parasite through consumption of raw milk. Therefore, proper pre-consumption of milk is recommended to reduce the possibility of toxoplasma gondii.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Milk, Sistan, PCR.

1. Graduated student of parasitology , Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran
3.Laboratory expert, Faculty of Veterinary Medicine, University of Zabol, Zabol, Iran.
*Corresponding author: maryam.ganjali021@gmail.com
DOI:10.22075/jvlr.2024.34730.1122
Received: 20.04.2024
Accepted: 08.09.2024

شماره پیاپی۲۵

مجله تحقیقات آزمایشگاهی دامپزشکی

صفحه خانگی مجله : https://jvlr.semnan.ac.ir/

شاپا : 2821-0506

مقاله پژوهشی

جستجوی ژنومی *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه های شیر گوسفند جمع آوری شده از منطقه سیستان به روش PCR

شهین ، راشکی.[۱] ، مریم، گنجعلی .[۲*]، محمد، محبی.[۳]

خلاصه

توکسوپلاسموز یک بیماری شایع در انسان و بسیاری از گونه‌های دیگر حیوانات خونگرم است. در بین حیوانات، گوسفند و بز بیشتر به *توکسوپلاسما گوندی* مبتلا می‌شوند. انسان از راه‌های مختلف در معرض آلودگی به انگل قرار می‌گیرد، توکسوپلاسموزیس معمولا از طریق مصرف گوشت خام یا نیم پز حیواناتی که آلوده به کیست توکسوپلاسما هستند، شیر غیر پاستوریزه، تماس با گربه آلوده و یا آب و غذای آلوده به اووسیست گربه، به انسان منتقل می‌شود. اگر مادری در هنگام بارداری برای اولین بار مبتلا به توکسوپلاسموز شود احتمال دارد جنین نیز مبتلا شود. با توجه به اهمیت بسیار زیاد توکسوپلاسموزیس به عنوان یک عامل احتمالی منتقله از طریق شیر، هدف از مطالعه حاضر بررسی مولکولی میزان شیوع *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه های شیر گوسفندان جمع آوری شده از منطقه سیستان است. در این پژوهش از روش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز (PCR) برای تشخیص DNA *توکسوپلاسما گوندی* با بررسی ژن *B1* در شیر گوسفند استفاده شد. در مطالعه حاضر تعداد ۹۰ نمونه شیر خام گوسفند از مناطق مختلف سیستان، در آزمایشگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. به این ترتیب که استخراج DNA از نمونه‌ها انجام و ردیابی انگل با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمراز صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که ۲ نمونه(۲/۲ درصد) آلوده به *توکسوپلاسما گوندی* بود. وجود DNA *توکسوپلاسما گوندی* در شیر گوسفند احتمال انتقال این انگل را از طریق مصرف شیر خام افزایش می‌دهد، لذا سالم سازی شیر قبل از مصرف، جهت کاهش احتمال ابتلا به *توکسوپلاسماگوندی* امری کاملاً ضروری به نظر می‌رسد.

واژه‌های کلیدی: *توکسوپلاسما گوندی*، شیر، سیستان و پی سی آر.

---

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد انگل شناسی ، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه زابل.

۲. گروه پاتوبیولوژی، بخش انگل شناسی دانشکده دامپزشکی ،دانشگاه زابل.

۳. کارشناس آزمایشگاه، دانشکده دامپزشکی ، دانشگاه زابل.

*نویسنده مسئول:maryam.ganjali021@gmail.com

DOI:10.22075/jvlr.2024.34730.1122

دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی یک تک یاخته داخل سلولی اجباری از راسته کوکسیدیاها و شاخه اپی‌کمپلکسا می باشد که باعث ایجاد بیماری توکسوپلاسموزیس در انسان و حیوانات می‌گردد. در سیر تکاملی این انگل گربه بعنوان میزبان نهایی و مهره داران خونگرم بعنوان میزبان واسط می‌باشند (Hunter & Sibley, 2012).

بیماری توکسوپلاسموزیس در انسان و گوسفند با سقط جنین مشخص می‌شود. از بین حیوانات اهلی، آلودگی در گربه، خوک، بز، گوسفند و گاو بیشترین موارد را به خود اختصاص می‌دهند. توکسوپلاسموزیس در حقیقت نوعی بیماری انگلی است، که معمولا از طریق مصرف گوشت خام یا نیم پز حیواناتی که آلوده به کیست *توکسوپلاسما* هستند، شیر غیر پاستوریزه ، تماس با گربه آلوده و یا آب و غذای آلوده به اووسیست گربه، به انسان منتقل می‌شود. اگر مادری در هنگام بارداری برای اولین بار مبتلا به توکسوپلاسموز شود احتمال دارد جنیـــــن نیز مبتلا شود (Meftahi et al., 2021).

بیماری توکسوپلاسموزیس اغلب بدون علامت است اما برای گروه‌های خاصی مانند جنین‌هایی با آلودگی مادرزادی، نوزادان و افراد دارای ضعف سیستم ایمنی خطرناک و حتی کشنده می‌تواند باشد. توکسوپلاسموز اکتسابی در افراد دارای سیستم ایمنی سالم معمولا بدون علامت می‌باشد و به طور خود به خود درمان می‌یابد، ولی در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف مانند؛ افراد مبتلا به ایدز، انسفالیت های بدخیم توکسوپلاسمایی ایجاد می‌کند. بارزترین علائم بالینی توکسوپلاسموز مادرزادی، کوریورتینیت، هیدروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی، عقب افتادگی ذهنی و میکروسفالی می‌باشد(Asgari et al., 2019). مطالعات اخیر وجود *توکسوپلاسما گوندی* را در شیر گوسفند و بز به اثبات رسانده است (Amroabadi et al., 2021; Meftahi et al., 2021).

با توجه به اینکه تشخیص توکسوپلاسموز بر اساس علایم بالینی بسیار مشکل است. امروزه استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمراز (PCR) برای تشخیص آلودگی به شکل گسترده مورد تایید قرار گرفته است. دقت و سرعت بالا، همچنین حساسیت بالا و در نهایت ایمن بودن از مزایای استفاده از این روش تشخیصی می باشند.

با توجه به این که شیر یکی از پرمصرف‌ترین مواد غذایی در سراسر جهان و در بین تمام افراد در سنین مختلف جامعه است و با توجه به اهمیت بسیار زیاد *توکسوپلاسما گوندی* به عنوان یک عامل احتمالی منتقله از طریق شیر، مطالعه حاضر به منظور بررسی میزان شیوع مولکولی *توکسوپلاسما گوندی* درنمونه های شیر گوسفند جمع آوری شده از منطقه سیستان می‌باشد.

مواد و روش کار

نمونه گیری

استان سیستان و بلوچستان در جنوب شرق ایران واقع شده است و سیستان در شمال استان واقع شده است. جهت انجام این پژوهش، ۹۰ نمونه شیر خام گوسفند در منطقه به صورت تصادفی و در طی سال ۱۴۰۱ از مناطق مختلف سیستان جمع آوری گردید. نمونه های جمع‌آوری شده از نظر ظاهری و فیزیکی (رنگ و بو و pH و قوام) سالم بودند. نمونه‌ها درظروف شیشه ای استریل و در عرض ۲ تا ۴ ساعت در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

استخراج DNA

ابتدا DNA ژنومی با استفاده ازکیت اســتخراج DNA (کیت MBST, IRAN) و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج گردیده، سپس نمونه های DNA در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز، قرار داده شدند.

ردیابی مولکولی *توکسوپلاسما گوندی*

نمونه های DNA استخراج شده از نمونه‌های شیر خام با استفاده از آزمایش واکنش زنجیره ای پلیمراز از نظر ژن *B1* تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* مورد ارزیابی قرار گرفتند. جهت انجام واکنش PCR از دو سری پرایمر با توالی های زیر استفاده گردید:

F1: 5'-GGAACTGCATCCGTTCATGAG-3'
R1: 5'-TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC-3'

وزن محصول PCR با استفاده از زوج پرایمر اول ۱۹۳ bp جفت باز می‌باشد. جهت حصول اطمینان از زوج دوم پرایمر با توالی زیر استفاده شد:

F2:5 '-TGTTCTGTCCTATCGCAACG-3'
R2:5'-TGGGTCTACGTCGATGGCATGACAAC-3'

وزن محصول PCR با استفاده از زوج پرایمر دوم ۱۷۸۰ جفت باز می باشد (Amroabadi et al., 2021; Meftahi et al., 2021). برای انجام واکنش زنجیره ای پلیمراز، حجم نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که شامل: DNA الگو ۲/۵میکرولیتر، ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر (پرایمر رفتی و پرایمر برگشتی) و ۲۰۰ میکرومولار 2X Master Mix (شرکت پیشگام) و آب مقطر استریل تا حجم به ۲۵ میکرولیتر برسد. نمونه‌های کنترل منفی که دربردارنده‌ی همه ترکیبات فوق به‌جز DNA بود نیز آماده شد.

نمونه‌ها در دستگاه ترموسایکلر(MWG, Germany) قرار گرفت و با ۳۵ سیکل، زمان و درجه حرارت لازم، تکثیر مکرر DNA انجام گرفت.

برنامه حرارتی مورد استفاده شامل: دناتوراسیون اولیه: ۹۶ درجه سانتی گراد ۳ دقیقه، ۳۵ سیکل تکراری، دناتوراسیون: ۹۵ درجه سانتی گراد ۳۰ ثانیه، اتصال: ۶۰ درجه سانتیگراد ۱ دقیقه، تکثیر: ۷۲ درجه سانتی گراد ۱ دقیقه، تکثیر نهایی: ۷۲ درجه سانتی گراد ۱۰ دقیقه بود. سپس الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز بر ژل آگارز ۲ درصد انجام گردیده و نتایج ثبت شد. مثبت بودن نمونه از نظر تک یاخته با حضور باندهای روشن به اندازه ۱۹۳ (شکل شماره۱) و ۱۷۸۰ (شکل شماره۲) جفت باز برای ژن *B1* در الکتروفورز می باشد.

روند آماده سازی بر روی یخ انجام شد تا از واکنش‌های ناخواسته از جمله تأثیر حرارت اجتناب شود. در این آزمون، از آب مقطر استریل به عنوان کنترل منفی و از DNA استخراج شده از تاکی زوئیت Strain RH به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

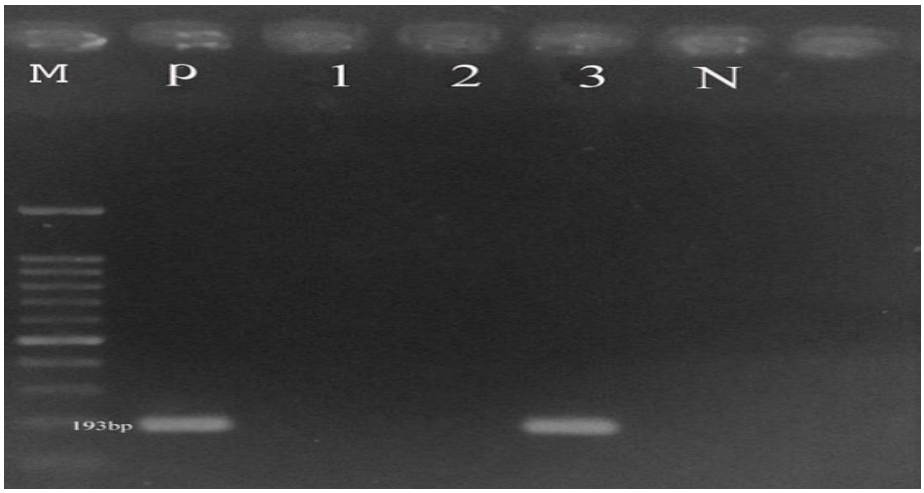
جدول – توالی الیگونوکلئوتیدی پرایمر های اختصاصی(Amroabadi et al., 2021; Meftahi et al., 2021)

وزن محصول	ترادف نوکلئوتیدی	نام پرایمر
193	5'-GGAACTGCATCCGTTCATGAG-3'	F1
	5'-TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC-3'	R1
1780	5'-TGTTCTGTCCTATCGCAACG-3'	F2
	5'-TGGGTCTACGTCGATGGCATGACAAC-3'	R2

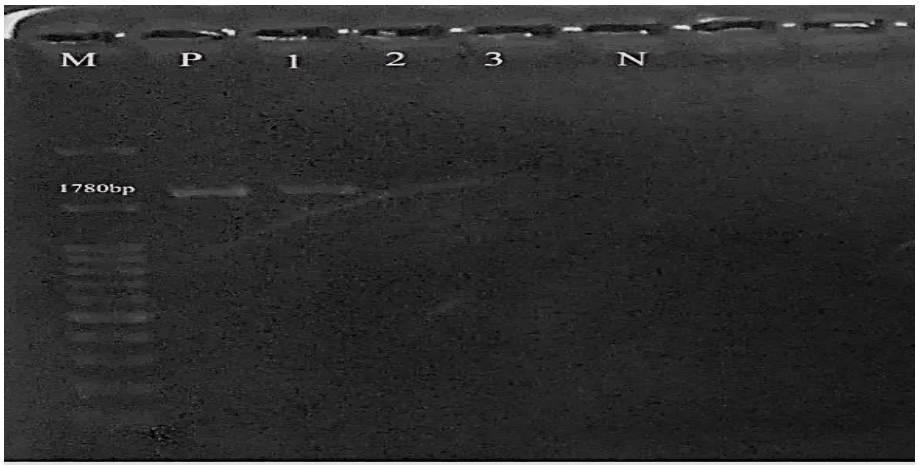
نتایج

نتایج حاصل از آزمونPCR

نتایج در مطالعه حاضر که به منظور ارزیابی شیوع ژنومی تک یاخته *توکسوپلاسماگوندی* در ۹۰ نمونه شیر خام گوسفند که از دامداری‌های موجود در منطقه سیستان به صورت تصادفی جمع آوری شده بودند، از مجموع ۹۰ نمونه شیر گوسفند مورد آزمایش با واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۲نمونه (۲/۲ درصد) آلوده به *توکسوپلاسما گوندی* بود. در این پژوهش از دو جفت پرایمر استفاده گردید که هر دو جفت تایید کننده وجود دو مورد مثبت در نمونه‌ها بودند و شکل های ۱و ۲ نتایج به دست آمده از الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز را برای ردیابی ژن *B1* تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام نمایش می‌دهند. نتایج نشانگر حضور باند روشن به اندازه ۱۹۳ جفت باز برای ژن *B1* در حضور جفت پرایمر اول و باند روشن به اندازه ۱۷۸۰ جفت باز برای ژن *B1* در حضور جفت پرایمر دوم در الکتروفورز می‌باشد (شکل ۱و۲).



شکل ۱- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز برای ردیابی ژن *B1* تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، p: کنترل مثبت، N: کنترل منفی ۳: نمونه های مثبت از نظر ژن *B1* (۱۹۳ جفت باز).



شکل ۲- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمراز برای ردیابی ژن B1 تک یاخته توکسوپلاسما گوندی در نمونه های شیر خام M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، p: کنترل مثبت، N: کنترل منفی ۱: نمونه های مثبت از نظر ژن B1 (۱۷۸۰جفت باز)

بحث

توکسوپلاسموز یکی از مهمترین بیماری‌های زئونوز بوده وحدود یک سوم جمعیت عمومی جهان واجد تیتر آنتی بادی ضد *توکسوپلاسما گوندی* هستند. از نقطه نظر دامپزشکی و بهداشت عمومی، بیماری منجر به سقط جنین در زنان باردار و نشخوارکنندگان کوچک و نیز عوارض مغزی در افراد دچار نقص سیستم ایمنی می‌شود. خوردن محصولات گوشتی خام یا کم پخته آلوده به کیست‌های نسجی حاوی برادی زوآیت، خوردن آب و غذای آلوده به اووسیست‌های عفونی انتقال مادرزادی (به ویژه در اولین بارداری) هنگامی که زن باردار تابحال با انگل مواجهه نداشته و فاقد آنتی بادی‌های اختصاصی در سرم است؛ در این صورت تاکی زوآیت ها با عبور از جفت وارد جنین شده و بسته به زمان رخداد آلودگی طی دوره بارداری، عوارض جبران ناپذیری در جنین پدید می آورند جزء راههای انتقال آلودگی‌اند (Asghari et al., 2022). توکسوپلاسموز در دامپزشکی به عنوان عاملی برای مرده‌زایی، سقط جنین و مومیایی شدن آن در نشخوار کنندگان کوچک مانند گوسفند و بز بوده که خسارات اقتصادی قابل توجهی به صنعت دامپروری وارد می کند (Asghari et al., 2022). مطالعات نشان داده است که تاکی زوآیت *توکسوپلاسما گوندی* قابلیت ردیابی در نمونه‌های شیر را دارد (Meftahi et al., 2021). گوسفند یکی از میزبان‌های واسط مهم برای این انگل محسوب می‌شود که کیست های انگلی در عضلات، قلب و مغز این

حیوان به کرات گزارش شده است (Armand et al., 2016).

آلودگی شیرخام و فرآورده‌های لبنی سنتی به *توکسوپلاسما گوندی* می‌تواند به شکل مستقیمی از حیوانات آلوده صورت پذیرد و یا اینکه نتیجه عدم رعایت اصول بهداشتی در طول فرایند شیردوشی، حمل ونقل، نگهداری و آلودگی متقاطع باشد (Amroabadi et al., 2021). تاکی‌زوآیت *توکسوپلاسما گوندی* که معمولاً در شیر دام‌ها دفع می‌شود، مقاومت بالایی نسبت به شرایط محیطی دارد. از اینرو امکان بقا آن در شیر حیوانات زیاد است (Boughattas, 2017). در مطالعات آزمایشگاهی مشخص شده است که تاکی‌زوئیت *توکسوپلاسما گوندی* می‌تواند در نمونه‌های شیر در دمای ۴ درجه سلسیوس بین ۳ تا ۷ روز و در پنیر تازه و فرآورده های لبنی سنتی مانند ماست و خامه تا ۱۰ روز زنده باقی بماند (Inpankaew et al., 2010).

امروزه استفاده از تکنیک‌های مولکولی مانند واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به شکل قابل توجهی برای تشخیص تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* مورد استفاده قرار می‌گیرد (Liu et al., 2015). در این راستا تحقیقات بسیاری در ایران و خارج از ایران انجام شده است. در استان البرز ۳۵۰ نمونه شیر خام گاو، گوسفند و بز جمع‌آوری و با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مشخص گردید ۳۰ (۸/۵۷ درصد) نمونه از کل ۳۵۰ نمونه شیر خام ارزیابی شده، حاوی ژن *B1 توکسوپلاسما گوندی* بودند. شیوع *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه های شیر خام گاو، گوسفند و بز به ترتیب ۵/۳۳، ۱۲، ۱۰ درصد بود (Meftahi et al., 2021).

در بررسی تعداد ۴۴۰ نمونه شیر خام ۵ گونه دام طی چهار فصل سال از استان‌های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، خوزستان و فارس جمع‌آوری و انجام واکنش-nested PCR ، نتایج نشان داد که ۲۶ نمونه(۵/۹ درصد) آلوده به *توکسوپلاسماگوندی* بود. بالاترین میزان آلودگی در شیر گوسفند ۸ درصد و پایین ترین آن در شیر گاومیش ۴/۲۸ درصد مشاهده شد (Amroabadi et al., 2021).

در مطالعه توسلی حضور DNA تک‌یاخته *توکسوپلاسماگوندی* در شیرخام بز و گوسفندان شمال شرقی ایران با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز ۶۲۵ نمونه شیر خام گوسفند و ۲۸۰ نمونه شیرخام بز مورد بررسی قرار گرفت و نتایج به دست آمده حاکی از آن بود که ۱۹ نمونه شامل ۴/۶۳ درصد یعنی ۱۶ نمونه از نمونه شیر خام گوسفندی و ۱/۰۷ درصد یعنی ۳ نمونه از نمونه شیر خام بز مورد مطالعه آلوده به تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* بودند (Tavassoli et al., 2013).

در تحقیق انجام شده جهت بررسی *توکسوپلاسما گوندی* در شیر انسان و بز جمع‌آوی شده از مناطق کویری مرکز ایران نتایج حاکی از این بود که از ۳۰۰ نمونه شیر انسان، ۱ نمونه (۰/۳ درصد) آلوده *توکسوپلاسما گوندی* بود. از ۲۰۰ نمونه شیر بز، ۱۱ نمونه (۵/۵درصد) عفونت با *توکسوپلاسما گوندی* را نشان دادند (Khamsian et al., 2021).

در مرور نظام‌مند مطالعات منتشر شده در زمینه اپیدمیولوژی توکسوپلاسموز در ایران عنوان شده در بررسی شیوع عفونت در میزبانان واسط،، شیوع در گوسفند از بقیه حیو انات بیشتر و در حد ۳۳ درصد بود. شیوع در بز ۲۱ درصد و در گاو حدود ۸/۹ درصد می‌باشد (Mostafavi & Jalali Monfared, 2012). در مطالعه‌ای در برزیل ۱۵/۷۸ درصد از نمونه‌های شیر بز و ۳/۷۶ درصد از نمونه های شیر گوسفند از نظر حضور *توکسوپلاسما گوندی* مثبت ارزیابی شد (da Silva et al., 2015).

در مطالعه تشخیص مولکولی DNA انگل *توکسوپلاسما* در نمونه شیر در مصر به ترتیب از نمونه هایIgG مثبت *توکسوپلاسما گوندی*، DNA انگلی تنها در دو نمونه شیر بررسی شده، یکی در نمونه شیر بز و دیگری در نمونه شیر گوسفند شناسایی شد. از سوی دیگر، انگل در نمونه های شیر شتر شناسایی نشد (Saad et al., 2018).

در مطالعه دیگری در کشور برزیل تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در ۱۳ نمونه از ۴۲ مورد شیر میش که از لحاظ سرمی مثبت بودند، شناسایی گردید (Ossani et al., 2017). در مطالعه فیروزی جهان‌تیغ و همکاران در سال ۲۰۲۰ در بررسی سرولوژی توکسوپلاسموز در زنان باردار ، گوسفند و بز جمع آوی شده از سیستان نتایج نشان داد که ۱۴ درصد زنان باردار، ۲۴ درصد گوسفندان و ۶/۵ درصد بزها از لحاظ سرمی مثبت بودند، که شیوع ژنومی توکسوپلاسما گوندی در شیر گوسفند سطح پایین تری را نسبت به بررسی سرمی نشان می‌دهد.

با توجه به مطالعات انجام شده و مقایسه نتایج نسبت به نتایج مطالعه حاضر، بعضی از پژوهش‌ها آلودگی نسبتاً بالاتری را نشان می‌دهند و بعضی با نتایج مطالعه حاضر هم‌سو است، مسلما شاخص‌هایی چون منطقه جغرافیایی، نوع آب و هوا، نحوه چرای و نوع تغذیه دام، تکنیک

آزمایشگاهی مورد استفاده، نوع روش کار و زمان مطالعه باعث حصول نتایج مختلف در مطالعات مختلف می‌شود.
بی‌شک *توکسوپلاسماگوندی* یکی از متداولترین انگل‌های زئونوز با شیوع جهانی بوده که به خصوص واجد اهمیت بالینی در زنان باردار و ا فراد دچار ضعف سیستم ایمنی می- باشد و از طرفی به علت ایجاد سقط جنین در دام‌ها از لحاظ اقتصادی در صنعت دامپروی هم واجد اهمیت است. با توجه به ردیابی آلودگی به *توکسوپلاسماگوندی* در شیر گوسفند در منطقه سیستان و عنایت به این مهم که این بیماری زئونوز می‌باشد جلوگیری از آلودگی متقاطع و سالم سازی شیر قبل از مصرف، جهت کاهش احتمال ابتلا به امری *توکسوپلاسماگوندی* کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی انجام مطالعات بیشتر در زمینه تعیین میزان شیوع آلودگی *توکسوپلاسما گوندی* در سایر میزبان‌ها و سطح وسیع تر در استان پیشنهاد می‌گردد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان بر خود لازم می‌دانند مراتب تشکر صمیمانه خود را از مسئولین دانشکده دامپزشکی دانشگاه زابل برای حمایت مالی از پژوهش حاضر به عمل آورند.

تضاد منافع

در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافعی توسط نویسندگان گزارش نشده است.

References

Amroabadi, M. A., Rahimi, E., & Shakerian, A. (2021). Study of the seasonal and geographical prevalence of Toxoplasma gondii in milk of ruminants by nested-PCR .

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 .

Asgari, Q., Mikaali, F., Ahmadi, B., & Saleh, B. M. (2019). Effects of Lawsonia inermis Extract on Toxoplasma gondii in In-Vitro and In-Vivo Environments .

Asghari, A., Yousefi, A., & Majidiani, H. (2022). Toxoplasmosis and its current status in Iran: A narrative review. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences*, *20*(11), 1253-1278 .

Boughattas ,S. (2017). Toxoplasma infection and milk consumption: Meta-analysis of assumptions and evidences. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, *57*(13), 2924-2933 .

da Silva, J. G., Alves, B. H. L., Melo, R. P. B., Kim, P. C. P., Neto, O. L. S., Bezerra, M. J. G., Sá, S. G., & Mota, R. A. (2015). Occurrence of anti-Toxoplasma gondii antibodies and parasite DNA in raw milk of sheep and goats of local breeds reared in Northeastern Brazil. *Acta tropica*, *142*, 145-148 .

Hunter, C. A., & Sibley, L. D .(۲۰۱۲) .Modulation of innate immunity by Toxoplasma gondii virulence effectors. *Nature Reviews Microbiology*, *10*(11), 766-778.

Inpankaew, T., Pinyopanuwut N Fau - Chimnoi, W., Chimnoi W Fau - Kengradomkit, C., Kengradomkit C Fau - Sununta, C., Sununta C Fau - Zhang, G., Zhang G Fau - Nishikawa, Y., Nishikawa Y Fau - Igarashi, I., Igarashi I Fau - Xuan, X., Xuan X Fau - Jittapalapong, S., & Jittapalapong, S. (2010). Serodiagnosis of Toxoplasma gondii infection in dairy cows in Thailand. (1865-1682 (Electronic)) .

Jahantigh, F. F., Rasekh, M., Ganjali, M., & Sarani, A. (2020). Seroprevalence of Toxoplasma gondii infection among pregnant women and small ruminant populations in Sistan region, Iran .

Khamsian, E. M., Hajimohammadi, B., Eslami, G., Fallahzadeh, M. H & ,.Hosseini, S. S. (2021). Toxoplasma gondii in Milk of Human and Goat from the Desert Area in Central Iran. (1735-7020 (Print)) .

Liu, Q., Wang, Z. D., Huang, S. Y., & Zhu, X. Q. (2015). Diagnosis of toxoplasmosis and typing of Toxoplasma gondii. (1756)-(Electronic).

Meftahi, M., Mashak, Z., & Kefayat, M. (2021). Study the molecular prevalence rate of Toxoplasma gondii in raw milk samples collected from Alborz province by PCR method. *Journal of Animal Environment*, *13*(3), 41-48 .

Mostafavi, S. N & ,.Jalali Monfared, L. (2012). Toxoplasmosis epidemiology in Iran: a systematic review. *Journal of Isfahan Medical School*, *30*.(176).

Ossani, R., Borges, H., Souza, A., Sartor, A., Miletti, L., Federle, M., & Moura, A. (2017). Toxoplasma gondii in milk of naturally infected dairy ewes on west mesoregion of Santa Catarina state, Brazil. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, *69*(05), 1294-1300 .

Saad, N. M., Hussein, A. A., & Ewida, R. M. (2018). Occurrence of Toxoplasma gondii in raw goat, sheep, and camel milk in Upper Egypt. *Veterinary world*, *11*(9), 1262 .

Tavassoli, M., Esmaeilnejad, B., Malekifard, F., Soleimanzadeh, A., & Dilmaghani, M. (2013). Detection of Toxoplasma gondii DNA in Sheep and Goat Milk in Northwest of Iran by PCR-RFLP. *Jundishapur Journal of Microbiology*, *6* (10).