




Semnan University



Research Article

## Genomic Investigation of *Toxoplasma Gondii* in Sheep Milk Collected From Sistan Region by PCR Method

Shahin Rashki <sup>1</sup>, Maryam Ganjali <sup>2\*</sup>, Mohammad Mohebbi <sup>3</sup>.

### 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. 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](https://doi.org/10.22075/jvlr.2024.34730.1122)

Received: 20.04.2024

Accepted: 08.09.2024

### How to Cite this Article:

Ganjali, M., & Rashki, Sh. & Mohebbi, M. (2024). Genomic Investigation of *Toxoplasma Gondii* in Sheep Milk Collected From Sistan Region by PCR Method. Journal of Veterinary Medicine & Laboratory, 16(1), 39-45. doi:10.22075/jvlr.2024.34730.1122



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

شهین راشکی<sup>۱</sup>، مریم گنجعلی<sup>۲\*</sup>، محمد محبی<sup>۳</sup>

### خلاصه

توکسوپلازما گوندی یک بیماری شایع در انسان و بسیاری از گونه های دیگر حیوانات خونگرم است. در بین حیوانات، گوسفند و بز بیشتر به توکسوپلازما گوندی مبتلا می شوند. انسان از راه های مختلف در معرض آلودگی به انگل قرار می گیرد. توکسوپلازما گوندی معمولاً از طریق مصرف گوشت خام یا نیم پز حیواناتی که آلوده به کیست توکسوپلازما هستند، شیر غیر پاستوریزه، تماس با گربه آلوده و یا آب و غذای آلوده به اووسیت گربه، به انسان منتقل می شود. اگر مادری در هنگام بارداری برای اولین بار مبتلا به توکسوپلازما گوندی شود احتمال دارد جنین نیز مبتلا شود. با توجه به اهمیت بسیار زیاد توکسوپلازما گوندی به عنوان یک عامل احتمالی منتقله از طریق شیر، هدف از مطالعه حاضر بررسی مولکولی میزان شیوع توکسوپلازما گوندی در نمونه های شیر گوسفندان جمع آوری شده از منطقه سیستان است. در این پژوهش از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) برای تشخیص DNA توکسوپلازما گوندی با بررسی ژن *BI* 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 نمونه ها انجام و ردیابی انگل با استفاده از واکنش زنجیره ای پلیمرز صورت گرفت. نتایج این مطالعه نشان داد که ۲ نمونه (۲/۲ درصد) آلوده به توکسوپلازما گوندی بود. وجود DNA توکسوپلازما گوندی در شیر گوسفند احتمال انتقال این انگل را از طریق مصرف شیر خام افزایش می دهد، لذا سالم سازی شیر قبل از مصرف، جهت کاهش احتمال ابتلا به توکسوپلازما گوندی امری کاملاً ضروری به نظر می رسد.

**واژه های کلیدی:** توکسوپلازما گوندی، شیر، سیستان و پی سی آر.

۱. دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

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

۳. کارشناس آزمایشگاه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه زابل، زابل، ایران.

\*نویسنده مسئول: maryam.ganjali021@gmail.com

DOI: [10.22075/jvlr.2024.34730.1122](https://doi.org/10.22075/jvlr.2024.34730.1122)

دریافت: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۱۸

## مقدمه

توکسوپلازما گوندی یک تک یاخته داخل سلولی اجباری از راسته کوکسیدیاها و شاخه اپی کمپلکسا می باشد که باعث ایجاد بیماری توکسوپلازموزیس در انسان و حیوانات می گردد. در سیر تکاملی این انگل گربه بعنوان میزبان نهایی و مهره داران خونگرم بعنوان میزبان واسط می باشند (Hunter & Sibley, 2012).

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

بیماری توکسوپلازموزیس اغلب بدون علامت است اما برای گروه های خاصی مانند جنین هایی با آلودگی مادرزادی، نوزادان و افراد دارای ضعف سیستم ایمنی خطرناک و حتی کشنده می تواند باشد. توکسوپلازموز اکتسابی در افراد دارای سیستم ایمنی سالم معمولاً بدون علامت می باشد و به طور خود به خود درمان می یابد، ولی در افراد دارای سیستم ایمنی ضعیف مانند؛ افراد مبتلا به ایدز، انسفالیت های بدخیم توکسوپلازمایی ایجاد می کند. بارزترین علائم بالینی توکسوپلازموز مادرزادی، کوریورتینیت، هیدروسفالی، کلسیفیکاسیون مغزی، عقب افتادگی ذهنی و میکروسفالی می باشد (Asgari et al., 2019). مطالعات اخیر وجود توکسوپلازما گوندی را در شیر گوسفند و بز به اثبات رسانده است (Amroabadi et al., 2021; Meftahi et al., 2021).

با توجه به اینکه تشخیص توکسوپلازموز بر اساس علائم بالینی بسیار مشکل است. امروزه استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمرز (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 پرمصرف ترین مواد غذایی در سراسر جهان و در بین تمام افراد در سنین مختلف جامعه است و با توجه به اهمیت بسیار زیاد توکسوپلازما گوندی به عنوان یک عامل احتمالی منتقله از طریق شیر، مطالعه حاضر به منظور بررسی میزان شیوع مولکولی توکسوپلازما گوندی در نمونه های شیر گوسفند جمع آوری شده از منطقه سیستان می باشد.

## 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 جمع آوری شده از نظر ظاهری و فیزیکی (رنگ و بو و pH و قوام) سالم بودند. نمونه ها در ظروف شیشه ای استریل و در عرض ۲ تا ۴ ساعت در کنار یخ به آزمایشگاه منتقل شدند.

### استخراج DNA

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

### ردیابی مولکولی توکسوپلازما گوندی

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

F1: 5'-GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG-3'

R1: 5'-TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC-3'

وزن محصول PCR با استفاده از زوج پرایمر اول ۱۹۳ bp جفت باز می باشد. 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 پلیمرز، حجم نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که شامل: DNA الگو ۲/۵ میکرولیتر، 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 در بردارنده‌ی 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 پلیمرز بر ژل آگارز ۲ درصد انجام گردید و نتایج ثبت شد. مثبت بودن نمونه از نظر تک یاخته با حضور باندهای روشن به اندازه ۱۹۳ (شکل شماره ۱) و ۱۷۸۰ (شکل شماره ۲) جفت باز برای ژن BI 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 ژوئیت Strain RH به عنوان کنترل مثبت استفاده شد.

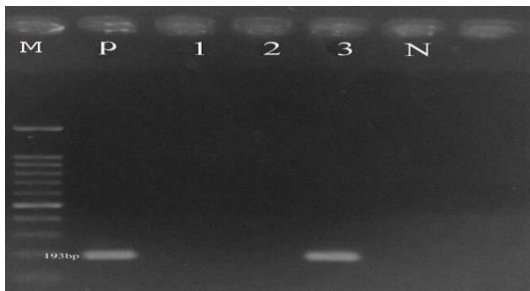
جدول ۱- توالی الیگونوکلوئیدی پرایمر های اختصاصی

نام پرایمر	ترادف نوکلئوتیدی	وزن محصول
F1	5'-GGAAGTGCATCCGTTTCATGAG-3'	193
R1	5'-TCTTTAAAGCGTTCGTGGTC-3'	
F2	5'-TGTTCTGTCCTATCGCAACG-3'	1780
R2	5'-TGGGTCTACGTCGATGGCATGAC AAC-3'	

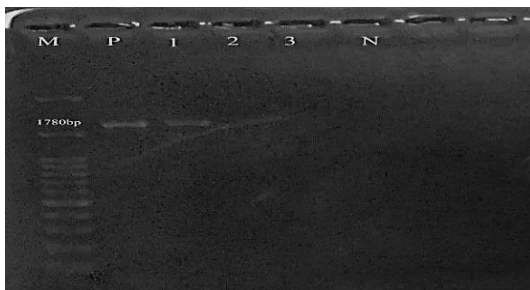
## نتایج

### نتایج حاصل از آزمون PCR

نتایج در مطالعه حاضر که به منظور ارزیابی شیوع ژنومی تک یاخته توکسوپلازما گوندی 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 پلیمرز ۲ نمونه (۲/۲ درصد) آلوده به توکسوپلازما 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 ۱ و ۲ نتایج به دست آمده از الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمرز را برای ردیابی ژن BI تک یاخته توکسوپلازما گوندی در نمونه‌های شیر خام نمایش می‌دهند. نتایج نشانگر حضور باند روشن به اندازه ۱۹۳ جفت باز برای ژن BI در حضور جفت پرایمر اول و باند روشن به اندازه ۱۷۸۰ جفت باز برای ژن BI در حضور جفت پرایمر دوم در الکتروفورز می‌باشد (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمرز برای ردیابی ژن BI تک یاخته توکسوپلازما گوندی در نمونه-های شیر خام M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، P: کنترل مثبت، N: کنترل منفی ۳: نمونه های مثبت از نظر ژن BI (۱۹۳ جفت باز).



شکل ۲- الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره ای پلیمرز برای ردیابی ژن BI تک یاخته توکسوپلازما 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 (۱۷۸۰ جفت باز)

## بحث

توکسوپلاسموز یکی از مهمترین بیماری های زئونوز بوده و حدود یک سوم جمعیت عمومی جهان واجد تیترا آنتی بادی ضد توکسوپلاسمای 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 می شود. خوردن محصولات گوشتی خام یا کم پخته آلوده به کیست های نسجی حاوی برادی زوایت، خوردن آب و غذای آلوده به اووسیت های عفونی انتقال مادرزادی (به ویژه در اولین بارداری) هنگامی که زن باردار تابحال با انگل مواجهه نداشته و فاقد آنتی بادی های اختصاصی در سرم است؛ در این صورت تاکی زوایت 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 راه های انتقال آلودگی اند (Asghari et al., 2022). توکسوپلاسموز در دامپزشکی به عنوان عاملی برای مرده زایی، سقط جنین و مومیایی شدن آن در نشخوارکنندگان 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 زوایت توکسوپلاسمای گوندی قابلیت ردیابی در نمونه های شیر را دارد (Meftahi et al., 2021). گوسفند یکی از میزبان های واسط مهم برای این انگل محسوب می شود که کیست های انگلی در عضلات، قلب و مغز این حیوان به کرات گزارش شده است (Armand et al., 2016).

آلودگی شیر خام و فرآورده های لبنی سنتی به توکسوپلاسمای گوندی می تواند به شکل مستقیمی از حیوانات آلوده صورت پذیرد و یا اینکه نتیجه عدم رعایت اصول بهداشتی در طول فرایند شیردوشی، حمل و نقل، نگهداری و آلودگی متقاطع باشد (Amroabadi et al., 2021). تاکی زوایت توکسوپلاسمای گوندی که معمولاً در شیر دامها دفع می شود، 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 تاکی زوایت توکسوپلاسمای گوندی می تواند در نمونه های 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 تکنیک های مولکولی مانند واکنش زنجیرهای پلیمرز به شکل قابل توجهی برای تشخیص تک یاخته توکسوپلاسمای گوندی مورد استفاده قرار می گیرد (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 جمع آوری و با استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمرز مشخص گردید ۳۰ (۸/۵۷ درصد) نمونه از کل ۳۵۰ نمونه شیر خام ارزیابی شده، حاوی ژن B1 توکسوپلاسمای گوندی بودند. شیوع توکسوپلاسمای 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 استان های اصفهان، چهارمحال و بختیاری، خوزستان و فارس جمع آوری و انجام واکنش-nested PCR، نتایج نشان داد که ۲۶ نمونه (۵/۹ درصد) آلوده به توکسوپلاسمای گوندی بود. بالاترین میزان آلودگی در شیر گوسفند ۸ درصد و پایین ترین آن در شیر گاو ۴/۲۸ درصد مشاهده شد (Amroabadi et al., 2021).

در مطالعه توسلی حضور DNA تک یاخته توکسوپلاسمای گوندی در شیر خام بز و گوسفندان شمال شرقی ایران با استفاده از واکنش زنجیرهای پلیمرز ۶۲۵ نمونه شیر خام گوسفند و ۲۸۰ نمونه شیر خام 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 توکسوپلاسمای گوندی بودند (Tavassoli et al., 2013).

در تحقیق انجام شده جهت بررسی توکسوپلاسمای گوندی در شیر انسان و بز جمع آوری شده از مناطق کویری مرکز ایران نتایج حاکی از این بود که از ۳۰۰ نمونه شیر انسان، ۱ نمونه (۰/۳ درصد) آلوده توکسوپلاسمای گوندی بود. از ۲۰۰ نمونه شیر بز، ۱۱ نمونه (۵/۵ درصد) عفونت با توکسوپلاسمای 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 واسطه، شیوع در گوسفند از بقیه حیوانات 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 نمونه‌های شیر گوسفند از نظر حضور توکسوپلاسمای گوندی مثبت ارزیابی شد (da Silva et al., 2015).

در مطالعه تشخیص مولکولی DNA انگل توکسوپلاسمای در نمونه شیر در مصر به ترتیب از نمونه‌های IgG مثبت توکسوپلاسمای 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 نمونه‌های شیر شتر شناسایی نشد (Saad et al., 2018).

در مطالعه دیگری در کشور برزیل تک یاخته توکسوپلاسمای گوندی در ۱۳ نمونه از ۴۲ مورد شیر میش که از لحاظ سرمی مثبت بودند، شناسایی گردید (Ossani et al., 2017). در مطالعه فیروزی جهان تیغ و همکاران در سال ۲۰۲۰ در بررسی سروولوژی توکسوپلاسموز در زنان باردار، گوسفند و بز جمع‌آوری 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 توکسوپلاسمای گوندی در شیر گوسفند سطح پایین تری را نسبت به بررسی سرمی نشان می‌دهد.

با توجه به مطالعات انجام شده و مقایسه نتایج نسبتاً نتایج مطالعه حاضر، بعضی از پژوهش‌ها آلودگی نسبتاً بالاتری را نشان می‌دهند و بعضی با نتایج مطالعه حاضر

هم‌سو است، مسلماً 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 توکسوپلاسمای گوندی یکی از متداولترین انگل‌های زئونوز با شیوع جهانی بوده که به خصوص واجد اهمیت بالینی در زنان باردار و افراد دچار ضعف سیستم ایمنی می‌باشد و از طرفی به علت ایجاد سقط جنین در دام‌ها از لحاظ اقتصادی در صنعت دامپروری هم واجد اهمیت است. با توجه به ردیابی آلودگی به توکسوپلاسمای گوندی 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 امراض توکسوپلاسمای گوندی کاملاً ضروری به نظر می‌رسد. از طرفی انجام مطالعات بیشتر در زمینه تعیین میزان شیوع آلودگی توکسوپلاسمای گوندی در سایر میزبان‌ها و سطح وسیع‌تر 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 منافی 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., Esmailnejad, 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).