Archive of SID

مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره۴، ۱۳۹۹، ۴۱۲-۴۰۷
مقاله پژوهشی

بررسی ملکولی و سرولوژی آلودگی *توکسوپلاسما* در گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد

نجمه مرتضی‌پور کوهبنانی[۱]، غلامرضا رزمی[۲]

[۱] *دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*
[۲] *گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران*

10.22059/jvr.2019.260337.2811

تاریخ دریافت: ۲۴ اردیبهشت ماه ۱۳۹۹، **تاریخ پذیرش:** ۳۱ تیر ماه ۱۳۹۹

چکیده

زمینهٔ مطالعه: بیماری توکسوپلاسموزیس یکی از بیماری‌های مهم مشترک انسان و دام در ایران و جهان می‌باشد.

هدف: با توجه به مصرف بالای گوشت گوسفند و آلودگی بالای *توکسوپلاسما* در گوسفندان ایران، هدف این مطالعه تعیین میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در گوسفندان کشتاری مشهد با روش‌های ملکولی و سرمی می‌باشد.

روش‌کار: بدین منظور از مرداد ۱۳۹۵ تا اردیبهشت ۱۳۹۶ به طور فصلی، ۲۵ نمونه خون و ۲۵ نمونه عضله قلب، از گوسفندان کشتارگاه طرقبه واقع در شهرستان مشهد جمع‌آوری شدند، نمونه‌های خون و عضله قلب به آزمایشگاه انگل‌شناسی منتقل گردیدند. ابتدا سرم نمونه‌های خون با استفاده ازدستگاه سانتریفیوژ جداسازی شدند. سپس نمونه‌های عضله قلب برای انجام آزمایش PCR مورد نمونه‌برداری قرارگرفتند. نمونه‌های سرم و عضله تا هنگام آزمایش در داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های سرم جهت یافتن آنتی‌بادی ضد *توکسوپلاسما* مورد آزمایش الایزا قرار گرفتند و نمونه‌های عضله قلب پس از استخراج DNA با استفاده از کیت‌های تجاری، باروش Nested-PCR جهت تشخیص آلودگی *توکسوپلاسما* آزمایش شدند.

نتایج: در این بررسی از مجموع ۱۰۰ نمونه سرمی گرفته شده، یک نمونه سرمی از گوسفندان کشتاری واجد آنتی‌بادی علیه *توکسوپلاسما با روش* الایزا بود، در حالی که از همین تعداد نمونه عضله قلب، ۲۲ نمونه عضله قلب گوسفندان واکنش مثبت درآزمایش Nested- PCR نشان‌دادند. در این مطالعه بیشترین میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در عضلات قلب در فصل بهار و کمترین میزان آلودگی در فصل تابستان گزارش‌گردید. همچنین نتایج مطالعه، نشان‌دهنده توافق ضعیف نتایج الایزا و روش مولکولی بود.

نتیجه‌گیری نهایی: با توجه به تعیین میزان آلودگی قابل توجه عضلات قلب گوسفندان کشتاری به *توکسوپلاسما*، به نظر می‌رسد خطر آلودگی انسان از طریق گوشت گوسفندان نسبتاً بالا می‌باشد.

کلمات کلیدی: *توکسوپلاسما گوندیی*، گوسفند، فراوانی، الایزا، واکنش زنجیره‌ای پلی مراز

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: غلامرضا رزمی، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران
پست الکترونیکی: razmi@um.ac.ir

مقدمه

تک‌یاخته‌ی *توکسوپلاسما گوندیی* انتشار جهانی داشته و قادر به آلوده کردن حیوانات خون گرم می‌باشد (۸). گربه سانان به‌عنوان تنها میزبانان نهایی این تک یاخته شناخته شده‌اند. مراحل گامتوگونی و اسپوروگونی *توکسوپلاسما* در روده گربه انجام شده و اووسیست‌های غیر اسپورله به همراه مدفوع دفع می‌شوند. سپس اووسیست‌ها در محیط زیست هاگدار شده و منبع اصلی عفونت برای میزبان واسط از جمله حیوانات علف‌خوار می‌باشند. در میزبان واسط *توکسوپلاسما* به دو شکل کیست کاذب حاوی تاکی‌زوآیت در داخل سلول‌های هسته‌دار و کیست واقعی حاوی برادی‌زوآیت، به طور عمده در مغز و ماهیچه دیده می‌شود (۸). دو راه اصلی در انتقال عفونت *توکسوپلاسما* به میزبانان واسط وجود دارد:۱-عفونت ممکن است با مصرف غذا یا آب آلوده به اووسیست هاگدار شده

www.SID.ir

Archive of SID

توکسوپلاسما رخ دهد. ۲-یا ممکن است با خوردن گوشت نپخته یا خام حاوی کیست‌های بافتی *توکسوپلاسما* منتقل شود (۸). در مطالعات اپیدمیولوژیک نشان داده‌اند که مصرف محصولات گوشت خام یا نپخته یکی از منابع عمده آلودگی به *توکسوپلاسما* در انسان است (۸). در میان حیوانات، گوشت گوسفند و بز و خوک دارای بالاترین میزان آلودگی به کیست‌های *توکسوپلاسما گوندیی* بوده و نقش عمده‌ای به عنوان منبع عفونت در انسان بازی می‌کنند (۸). در حال حاضر، مسیر اصلی آلودگی انسان به *توکسوپلاسما* از طریق خوردن گوشت خام یا نپخته آلوده به کیست می‌باشد (۸). مطالعات نشان داده است که انجماد و پخت و پز، به منظور کاهش آلودگی *توکسوپلاسما* در گوشت قابل اعتماد است در حالی که افزودن نیترات و یا نیتریت، ادویه، PH پایین و سردخانه‌گذاری تأثیری زیادی بر از بین رفتن کیست‌های بافتی *توکسوپلاسما* ندارد (۸). عفونت *توکسوپلاسما* درگوسفندان ایران نسبتاً بالا بوده و میزان شیوع کلی توکسوپلاسموز در گوسفندان ایران ۳۱ درصد و در بزها ۲۷ درصد می‌باشد (۲۱). با توجه به مصرف بالای گوشت گوسفند در ایران به نظر می‌رسد انتقال آلودگی *توکسوپلاسما* از طریق گوشت به انسان نسبتاً بالا باشد. هدف این بررسی تعیین میزان آلودگی گوسفندان کشتاری به *توکسوپلاسما* با روش‌های سرمی و مولکولی می‌باشد.

مواد و روش‌کار

نمونه‌برداری: در این مطالعه به‌صورت فصلی از مرداد ماه ۱۳۹۵ تا اردیبهشت ماه ۱۳۹۶ در هر فصل همزمان ۲۵ نمونه خون و ۲۵ نمونه عضله قلب از گوسفندان کشتاری کشتارگاه طرقبه که اغلب آن‌ها جنس نر و سن زیر یک سال داشتند گرفته شد. لوله‌های حاوی نمونه خون به آزمایشگاه انگل‌شناسی منتقل شد و به مدت یک شب در یخچال نگهداری شدند. سپس نمونه‌های خون به مدت ۶-۵ دقیقه با دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ شده و نسبت به جداسازی سرم و انتقال آن‌ها به داخل میکروتیوب‌ها با استفاده از سمپلر اقدام گردید. میکروتیوپ‌های حاوی سرم تا زمان آزمایش الایزا و نمونه‌های عضله قلب هم تا زمان آزمایش PCR داخل فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

آزمایش الایزا: بررسی سرمی آلودگی *توکسوپلاسما گوندیی* نمونه‌های خون گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد با روش سرمی با استفاده از کیت الایزا (شرکت ID.vet، فرانسه) طبق دستورالعمل شرکت انجام شد. ابتدا نمونه‌های سرم از داخل فریزر بیرون گذاشته شدند تا به درجه حرارت محیط برسند، همزمان کیت الایزا نیز جهت انجام آزمایش از یخچال خارج شد. برای شروع آزمایش الایزا ۹۰ میکرولیتر از بافر شماره دو به همه چاهک‌ها میکروپلیت با سرسمپلر اضافه گردید. آنگاه به ترتیب در چاهک‌های A , B ۱۰ میکرولیتر نمونه‌های کنترل منفی و بعد کنترل مثبت اضافه گردید و پس از آن از هر نمونه سرمی ۱۰ میکرولیتر به داخل چاهک‌ها ریخته شدند. بعد از آن میکروپلیت مورد آزمایش در دمای اتاق (۲۱ تا ۲۶ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۵ دقیقه نگهداری شدند. بعد از این مرحله چاهک‌ها سه بار با اضافه نمودن ۳۰۰ میکرولیتر بافر شسته شدند. آنگاه ۱۰۰ میکرولیتر از کونژوگه آماده شده به هر یک از چاهک‌ها اضافه و به مدت ۳۰ دقیقه در همین شرایط نگهداری گردیدند. پس از اتمام این مرحله عمل شستشو و تخلیه چاهک‌ها به مانند مرحله قبل سه بار با محلول بافر تکرار گردید. بعد از تخلیه چاهک‌ها، ۱۰۰ میکرولیتر محلول سوبسترا به هر چاهک اضافه شده و به مدت ۱۵ دقیقه در اتاق تاریک مرطوب نگهداری شدند. پس از اتمام این مرحله، ۱۰۰ میکرولیتر محلول متوقف کننده واکنش به هر چاهک اضافه شد و بعد نتایج به‌دست آمده با استفاده از دستگاه الایزاریدر، در طول موج ۴۵۰ نانومتر خوانده و ثبت گردید.

آزمایش PCR: استخراج DNA نمونه‌های عضله قلب با استفاده از کیت تجاری (MBST، تهران) بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده انجام گرفت: نمونه‌های DNA استخراج شده با روش Nested PCR با روش Burg و همکاران درسال ۱۹۸۹ مورد آزمایش قرار گرفتند (۷). در مرحله اول روش Nested با استفاده از این پرایمرها مربوطه، محصول PCR مربوط به *توکسوپلاسما* بر روی ژل آگاروز ۱/۸ درصد، باندی به اندازه ۱۹۳ جفت باز تشکیل می‌دهند. در مرحله دوم، محصول نمونه‌های منفی به نسبت یک به ده رقیق شده و آنگاه به پرایمرهای اختصاصی و برنامه مشابه با مرحله اول مورد آزمایش PCR قرار می‌گیرند. در صورت نتیجه مثبت، باندی با سایز ۹۶ جفت باز روی ژل پس از انجام الکتروفورز ظاهر خواهد شد. در هر PCR حداقل DNA یک نمونه غیر آلوده به‌عنوان کنترل منفی و نمونه آلوده به‌عنوان کنترل مثبت استفاده می‌گردد.

آنالیز آماری: در این مطالعه نتایج بدست‌آمده با آزمون مربع کای جهت ارتباط فراوانی آلودگی با عامل فصل و آزمون کاپا جهت میزان همبستگی دو آزمون مورد استفاده قرارگرفتند.

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۱. مقایسه نتایج آزمایشPCR و الایزا در تعیین آلودگی *توکسوپلاسما* در گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد.

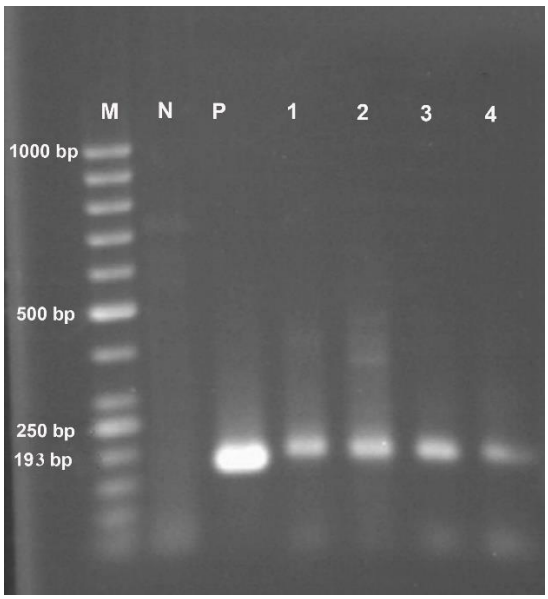
روش آزمایش	نتیجه آزمایش		تعداد
	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی	
PCR	۲۲ (۲۲درصد)	۷۸	۱۰۰
ELISA	۱ (۱درصد)	۹۹	۱۰۰

جدول ۲. فراوانی فصلی DNA *توکسوپلاسما* در نمونه‌های عضله قلب گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد.

نتیجه	نتیجه آزمایشPCR		تعداد
فصل	تعداد مثبت (درصد)	تعداد منفی	
بهار	۱۱ (۴۴ درصد)	۱۴	۲۵
تابستان	۰	۲۶	۲۶
پاییز	۶ (۲۵ درصد)	۱۸	۲۴
زمستان	۵ (۲۰درصد)	۲۰	۲۵
مجموع	۲۲ (۲۲ درصد)	۷۸	۱۰۰

جدول۳. مقایسه همبستگی نتایج آزمایش PCR و الایزا در تعیین آلودگی *توکسوپلاسما* در گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد.

		ELISA	
		مثبت	منفی
PCR	مثبت	۰	۲۲
	منفی	۱	۷۷



تصویر ۱. تکثیر DNA استخراج شده در Nested-PCR: M : مارکر ۵۰-۱۰۰۰DNA جفت باز، N: کنترل منفی، چاهک P: کنترل مثبت *توکسوپلاسما* (واجد باند ۱۹۳جفت باز) ا، چاهک ۴-۱ نمونه‌های مثبت.

نتایج

در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه خون و ۱۰۰ نمونه عضله قلب از گوسفندان کشتاری گرفته شد. نتایج سرمی نشان‌دهنده آلودگی یک درصد گوسفندان به *توکسوپلاسما* بود در حالی که نتایج آزمایش PCR نشان‌دهنده آلودگی ۲۲ درصد گوسفندان به *توکسوپلاسما* بوده است. در این مطالعه تمام گوسفندان نر و زیر یک سال بودند (جدول ۱) (تصویر ۱).

تعداد ۱۰۰ نمونه عضله قلب از گوسفندان کشتاری در فصول مختلف مورد آزمایش PCR قرارگرفتند که میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در فصل بهار بیشترین میزان و در فصل تابستان کمترین درصد آن گزارش‌گردید ($P<۰/۰۵$) (جدول۲). در این بررسی، میزان همبستگی دو آزمون سرمی و PCR با آزمون کاپا مورد ارزیابی قرارگرفت که میزان همبستگی دو آزمون بسیار پایین بود ($Kappa= -۰/۰۲$) (جدول ۳).

بحث

در این مطالعه از تعداد ۱۰۰ نمونه سرم خون گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد مورد آزمایش با روش الایزا فقط یک نمونه سرمی (۱ درصد) واجد آنتی‌بادی علیه *توکسوپلاسما* بود. مطالعات زیادی درباره میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در گوسفندان ایران با روش سرمی انجام شده است. Ghazaei در سال ۲۰۰۶ روی تعداد ۲۰۰ سرم گوسفند در شهرستان اردبیل آزمایش الایزا انجام داد که ۶۰ (۳۰ درصد) نمونه سرمی واجد آنتی‌بادی علیه

www.SID.ir

Archive of SID

توکسوپلاسما بودند (۱۰). Hashemzadeh-Farhang و همکاران در سال ۲۰۱۱ روی تعداد ۱۰۱ سرم گوسفند در استان آذربایجان آزمایش الایزا انجام داد که ۲۵ (۲۴/۸درصد) نمونه سرمی واجد آنتی بادی علیه *توکسوپلاسما* بودند (۱۱). Khezri و همکاران در سال ۲۰۱۲ روی تعداد ۳۶۸ سرم گوسفند در استان کردستان آزمایش الایزا انجام داد که ۸۰ (۷۴/ ۲۱درصد) نمونه سرمی واجد آنتی بادی علیه *توکسوپلاسما* بودند (۱۵). Asghari و همکاران در سال ۲۰۰۹ با روش IFAT در ۲۶/۹ درصد نمونه‌های سرم مثبت در گوسفندان استان فارس گزارش نمودند (۲). نتایج سرمی مطالعه حاضر نسبت به دیگر مطالعات با درصد بسیار کم گزارش گردیده است به‌نظر می‌رسد اقلیم آب و هوایی، پایین بودن سن گوسفندان در این مطالعه که عمدتاً زیر یک سال و نر بودند و زمان خون‌گیری در میزان پایین آلودگی گزارش شده نقش داشته باشند. در سایر مطالعات نیز میزان شیوع توکسوپلاسموز در گوسفندان و بزهای زیر یک سال کمتر از حیوانات بالغ گزارش شده است (۱۴،۲۱،۲۲). همچنین مطالعات سرمی انجام شده جهت تشخیص توکسوپلاسموز در انسان نشان می‌دهد که خونگیری در اوایل آلودگی به‌علت پایین بودن عیار آنتی بادی معمولاً منفی گزارش می‌شود (۱۳). در این مطالعه تعداد ۱۰۰ نمونه گوشت عضله قلب از گوسفندان کشتاری شهرستان مشهد نیز مورد آزمایش PCR قرارگرفت که تعداد ۲۲ نمونه (۲۲درصد) از نظر آلودگی به *توکسوپلاسما* در این آزمایش واکنش مثبت نشان دادند. در بررسی مشابه ملکولی انجام شده توسط Rahdar و همکاران در سال ۲۰۱۲، میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در گوشت گوسفندان به میزان ۱۴ درصد گزارش نمودند (۱۹). در مطالعه انجام شده توسط Azizi و همکاران درسال ۲۰۱۴، روی تعداد ۵۶ نمونه عضله گوسفندان در استان چهار محال بختیاری با آزمایش PCR ۳۸ درصد نمونه‌ها از نظر آلودگی به *توکسوپلاسما* مثبت بودند (۳). در مطالعه دیگری توسط Mahami-Oskouei و همکاران در سال ۲۰۱۷ میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در نمونه‌های گوشت در شهرستان تبریز با روش ملکولی ۲۸ درصد گزارش شده است (۱۸). در سایر کشورها میزان آلودگی گوشت گوسفند به *توکسوپلاسما* با روش ملکولی به ترتیب از سوئیس به میزان ۴ درصد (۴)، از ترکیه به میزان ۲۰ درصد (۹) و کشور تونس به میزان ۵۰ درصد (۶) گزارش شده است. در این مطالعه همچنین بالاترین میزان آلودگی فصلی در فصل بهار و کمترین آن در فصل تابستان مشاهده گردید. در فصل بهار بعلت بارندگی و دمای معتدل هوا انجام اسپوروالاسیون اووسیست‌ها *توکسوپلاسما* در خاک نسبت به سایر فصول بهتر انجام شده و ضمن بقا بیشتر اووسیست‌های در خاک، شانس خوردن اووسیست‌های اسپوروله به‌همراه علوفه توسط گوسفندان بیشتر می‌شود. نتایج فصلی بدست آمده در این بررسی با نتایج بدست آمده در یک مطالعه مشابه انجام شده از کشور چین همخوانی دارد (۲۳). در این بررسی ارتباط ضعیفی بین آزمایش سرمی و مولکولی بدست آمد. به‌نظر می‌رسد خونگیری از گوسفندان جوان در اوایل آلودگی *توکسوپلاسما* که واجد عیار پایین انتی بادی IgG بر علیه *توکسوپلاسما* هستند، سبب کاهش قابل ملاحظه فراوانی آلودگی *توکسوپلاسما* با روش الایزا در مقایسه با نتایج واکنش زنجیره‌ای پلیمراز در عضله قلب شده است. این نتایج همچنین نشان داد که روش‌های ملکولی به‌دلیل حساسیت بالا در مقایسه با روش‌های سرمی، کاربرد بهتری در تشخیص *توکسوپلاسما* در بافت‌ها و لاشه دارند (۱). در مطالعات زیادی استفاده همزمان روش‌های سرمی و ملکولی جهت تشخیص آلودگی *توکسوپلاسما* مادرزادی در انسان انجام شده است. نتایج این مطالعات نشان داده است در اوایل آلودگی امکان منفی بودن آزمایش سرمی به‌علت پایین بودن عیار سرمی IgG بسیار زیاد است، برعکس به علت حساسیت بالای روش‌های ملکولی، امکان یافتن DNA *توکسوپلاسما* در خون و بافت زیاد است (۵،۱۲،۱۷). امروزه انجام آزمایش ملکولی در اوایل بیماری به عنوان بهترین روش تشخیص توکسوپلاسموز در انسان توصیه می‌شود (۱۶).

این مطالعه اگرچه در آزمایش سرمی میزان آلودگی پایینی از *توکسوپلاسما* در گوسفندان گزارش‌گردید ولی با توجه به میزان آلودگی بالای *توکسوپلاسما* با روش ملکولی در عضلات قلب گوسفندان کشتاری، به‌نظر می‌رسد امکان انتقال آلودگی *توکسوپلاسما* از طریق گوشت به انسان بالا باشد.

سپاسگزاری

از آقای حمید عشرتی که در مراحل انجام نمونه‌برداری و عملیات آزمایشگاهی با این تحقیق همکاری داشتند تشکر می‌گردد. این پایان‌نامه با کد ۳/۴۱۴۶۵ با کمک مالی معاونت پژوهشی دانشگاه مشهد انجام‌گرفت.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

www.SID.ir

Archive of SID

References

1. 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. Vet World, 9, 850-5. https://doi: 10.14202/vetworld.2016.850-855 PMID: 27651673
2. Asghari, Q., Mehrabani, D., Moazzeni, M., Akrami-Mohajeri, F., Kalantari, M., Hatam, G.R. (2009). The seroprevalence of ovine toxoplasmosis in Fars Province, southern Iran. Asian J Anim Vet Adv, 4, 332–336.
3. Azizi, H., Shiran, B., Boroujeni, A.B., Jafari, M. (2014). Molecular survey of *Toxoplasma gondii* in sheep, cattle and meat products in Chaharmahal VA Bakhtiari Province, Southwest of Iran. Iran J Parasitol, 9, 429-34.
4. Berger, A.E., Herrmann, D.C., Schares, G., Muller, N., Bernet, D., Gottstein, B., Frey, C.F. (2011). Prevalence and genotypes of *Toxoplasma gondii* in feline faeces (oocysts) and meat from sheep, cattle and pigs in Switzerland. Vet Parasitol, 177, 290–297. https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2010.11.046 PMID: 21183278
5. Berredjem, H., Aouras, H., Benlaifa, M., Becheker, I., Djebar, M.R. (2017). Contribution of IgG avidity and PCR for the early diagnosis of toxoplasmosis in pregnant women from the North-Eastern region of Algeria. Afr Health Sci, 17, 647-656. http://dx.doi.org/10.4314/ahs.v17i3.7 PMID: 29085392
6. Boughattas, S., Ayari, K., Sa, T., Aoun, K., Bouratbine, A. (2014). Survey of the parasite *Toxoplasma gondii* in human consumed ovine meat in Tunis City. PLoS One, 10; 9(1), e85044. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0085044 PMID: 24427300
7. Burg, J.L., Grover, C.M., Pouletty, P., Boothroyd, J.C. (1989). Direct and sensitive detection of a pathogenic protozoan, *Toxoplasma gondii*, by polymerase chain reaction. J Clin Microbiol, 27, 1787-92.
8. Dubey, J.P. (2016). Toxoplasmosis of Animal and Humans. (2nd ed.) CRC Press Taylor & Francis group. Boca Raton, USA.
9. Ergin, S., Ciftcioglo, G., Midilli, K., Lassa, G., Gargili, A. (2009). Detection of *Toxoplasma gondii* from meat and meat product the Nested PCR method and ITS relationship with seroprevalence in slaughtered animals. Bull Vet Institute Pulawy, 53, 657–66.
10. Ghazaei, C. (2006). Serological survey of antibodies to *Toxoplasma gondii*. African J Health Sci, 13, 131–134.
11. Hashemzadeh-Farhang, H., Nozari, N., Moazeni, F. (2011). Serologic survey of Toxoplasmosis in sheep and goats in Tabriz with ElisaIran. J Tabriz Azad Univ Med Sci, 4, 753–757.
12. Hashoosh, D.A., Majeed, I.A. (2014). Comparison of two assays in the diagnosis of toxoplasmosis: immunological and molecular. East Mediterr Hlth J, 20, 46-50.
13. Iqbal, J., Khalid, N. (2007). Detection of acute *Toxoplasma gondii* infection in early pregnancy by IgG avidity and PCR analysis. J Med Microbiol, 56, 1495-9.
14. Kamani, J., Mani, A.U., Egwu, G.O. (2010). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in domestic sheep and goats in Borno state, Nigeria. Trop Anim Health Prod. 42,793-7. https://doi.org/10.1007/s11250-009-9488-3 PMID: 19882227
15. Khezri, M., Mohammadian, B., Esmailnia, K., Khezri, O. (2012). Toxoplasmosis in sheep from Kurdistan Province, Iran. Asian J Anim Sci, 6, 182–188.
16. Lévêque, M.F., Chiffré, D., Galtier, C., Albaba, S., Ravel, C., Lachaud, L., Iemmi, A., Flori, P., Sterkers, Y. (2019). Molecular diagnosis of toxoplasmosis at the onset of symptomatic primary infection: A straightforward alternative to serological examinations. Int J Infect Dis, 79, 131-133. https://doi.org/10.1016/j.ijid.2018.11.368 PMID: 30529368
17. Matin, S., Shahbazi, G., Namin, S.T., Moradpour, R., Feizi, F., Piri-Dogahe, H. (2017). Comparison of placenta PCR and maternal serology of aborted women for detection of *Toxoplasma gondii* in Ardabil, Iran. Korean J Parasitol, 55, 607-611. https://doi.org/10.3347/kjp.2017.55.6.607 PMID: 29320815
18. Mahami-Oskouei, M., Moradi, M., Fallah, E., Hamidi, F., Rahnamaye Akbari, NA. (2017). Molecular detection and genotyping of *Toxoplasma gondii* in chicken, beef, and lamb meat consumed in Northwestern Iran. Iran J Parasitol, 12, 38-45.
19. Rahdar, M., Samarbaf-Zadeh, A., Arab, L. (2012). Evaluating the prevalence of *Toxoplasma gondii* in meat and meat products in Ahvaz by PCR method. Jundishapur J Microbiol, 5, 570-573.
20. Rahman, M., Azad, M.T., Nahar, L., Rouf, S.M., Ohya, K., Chiou, S.P., Baba, M., Kitoh, K, Takashima, Y. (2014). Age-specificity of *Toxoplasma gondii* seroprevalence in sheep, goats and cattle on subsistence farms in Bangladesh. J Vet Med Sci, 76, 1257-9. https://doi.org/10.1292/jvms.14-0171
21. Sharif, M., Sarvi, Sh., Shokri, A., Hosseini Teshnizi, S., Rahimi, M.T., Mizani, A., Ahmadpour, E., Daryani, A. (2014). *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goat in Iran: A systematic review and meta-analysis, J Parasitol Res, 114, 1-16. https://doi.org/10.1007/s00436-014-4176-2 PMID: 25378258
22. Xu, P., Li, X., Tang, F., Liu, Y.H., Kou, X., Zhao, M.L., Li, B., Guo, L., Liu, X.G., Zhao, Q.(2015). Seroprevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* in sheep and goats in Jinzhou, Northeastern China. Trop Biomed, 32, 563-7.
23. Yin, M.Y., Wang, J.L., Huang, S.Y., Qin, S.Y., Zhou, D.H., Liu, G.X., Tan, Q.D., Zhu, X.Q. (2015). Seroprevalence and risk factors of *Toxoplasma gondii* in Tibetan Sheep in Gansu province, Northwestern China. BMC Vet Res, 11, 41. https://doi.org/10.1186/s12917-015-0358-0 PMID: 25889907

www.SID.ir

Archive of SID

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 75, Number 4, 2020
Original Article

A Molecular and Serological Study of *Toxoplasma gondii* Infection in Slaughtered Sheep in Mashhad Area

Najmeh Mortezapour Kouhbanani[1], Gholamreza Razmi[2]

[1] *Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*
[2] *Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran*

10.22059/jvr.2019.260337.2811
Received: *13 May 2020,* ***Accepted:*** *21 July 2020*

Abstract

BACEKGROUND: Toxoplasmosis is one of the most important zoonotic diseases in Iran and the world.
OBJCTIVES: Due to the high consumption of lamb meat and the high frequency of *Toxoplasma* infection in sheep in Iran, the aim of study was to determine frequency of *Toxoplasma* infection in the slaughtered sheep of Mashhad area.
METHODS: In order to do this study, from summer 2015 to spring 2016, 25 blood and 25 heart muscle samples were seasonally collected from Torghabae slaughterhouse in Mashhad area. The samples were transferred to parasitology laboratory. First, the blood samples were centrifuged and the serum samples were isolated, then a portion of the heart muscles sample was taken for PCR examination. The sera and muscles samples were kept at -20 ºC in freezer until examination time. The sera samples were examined to detect antibody against *T.gondii* by ELISA method. DNA of heart muscle was extracted by commercial extraction kit and was examined to detect *Toxoplasma* DNA by nested – PCR.
RESULTS: In the present study, of 100 sampled sheep, only 1 (1%) of the serum samples was seropositive, while 22 (22%) of the DNA samples were PCR positive. In this study, the highest frequency of *Toxoplsma* PCR-Positive was seen in spring and the lowest in summer in sheep. Also, the result of this study showed that the agreement between the molecular and EISA method was “fair”.
CONCLUSIONS: Based on the high frequency of *Toxoplasma* infection in heart muscle of sheep, it seems that the risk of transmission of *Toxoplasma* infection from sheep meat is high.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, Sheep, Frequency, ELISA, PCR

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author’s email: razmi@um.ac.ir Tel/Fax: 051-3878944/051-38763853

How to cite this article:

Mortezapour Kouhbanani, N., Razmi, G. (2021). A Molecular and Serological Study of *Toxoplasma gondii* Infection in Slaughtered Sheep in Mashhad Area. J Vet Res, 75(4), 407-412. https://doi.org/10.22059/jvr.2019.260337.2811

Figure Legends and Table Captions

Table 1. The comparison of frequency *Toxoplasm* infection in slaughtered sheep in Mashhad area by PCR and Elisa by PCR and Elisa method.
Table 2. The seasonal frequency of *Toxoplasma* DNA in heart samples of slaughtered sheep in Mashhad area.
Table 3. The correlation rate between ELISA and PCR in determining *Toxoplasma* infection.in slaughtered sheep in Mashhad area.
Figure 1. The Nested- PCR amplified products: Lane (M), 50-1000 bp DNA ladder marker; Lane (N), negative control, Lane (P), positive control (193 bp); Lane 3-7: positive samples.

www.SID.ir