13 (3) 41-48, Autumn 2021

Journal of Animal Environment
(AEJ)
Journal homepage: http://www.aejournal.ir

Original Research Paper

Study the molecular prevalence rate of *Toxoplasma gondii* in raw milk samples collected from Alborz province by PCR method

Mohammadreza Meftahi [1], Zohreh Mashak [2*], Marzieh Kefayat [3]

[1] *Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*
[2] *Clinical Care and Health Promotion Research Center, Karaj branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*
[3] *Department of parasitology, Faculty of Veterinary, Karaj Branch, Islamic Azad University, Karaj, Iran*

Key Words
Toxoplasma gondii
Raw milk
Molecular prevalence
Alborz province

Abstract

Introduction: Consumption of good unheated food of animal origin is one of the main causes of Toxoplasmosis. The present study was performed to evaluate the prevalence of *Toxoplasma gondii* in raw milk samples collected from Alborz province.

Materials & Methods: 350 samples of raw milk of cows, sheep and goats were collected and transferred to the laboratory. DNA extraction was performed from the samples and *Toxoplasma gondii* B1 gene was detected using a polymerase chain reaction.

Result: 30 samples out of 350 samples of raw milk evaluated contained *Toxoplasma gondii* B1 gene (8.57%). The molecular prevalence of *Toxoplasma gondii* in raw milk samples of cattle, sheep and goats was (5.33, 12.00 and 10) percent, respectively.

Conclusion: Raw and unpasteurized sheep milk is considered to be the highest risk source for *Toxoplasma gondii* transmission. Boiling raw milk and using pasteurized milk is recommended to reduce the risk of *Toxoplasma gondii*.

* Corresponding Author's email: zohreh_mashak@yahoo.com
Received: 3 June 2021; Reviewed: 24 July 2021; Revised: 8 September 2021; Accepted: 12 October 2021
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.297509.2593

مقاله پژوهشی

بررسی میزان شیوع مولکولی *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر دامی جمع‌آوری شده از استان البرز به‌روش PCR

محمدرضا مفتاحی[۱]، زهره مشاک[۲]، مرضیه کفایت[۳]*

[۱] *گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران*
[۲] *مرکز تحقیقات مراقبت‌های بالینی و ارتقا سلامت، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران*
[۳] *گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، واحد کرج، دانشگاه آزاد اسلامی، کرج، ایران*

کلمات کلیدی

توکسوپلاسما گوندی
شیر خام
شیوع مولکولی
استان البرز

چکیده

مقدمه: مصرف مواد غذایی خوب حرارت داده نشده با منشا دامی یکی از اصلی‌ترین دلایل ابتلا به بیماری توکسوپلاسموزیس است. پژوهش کنونی به‌منظور ارزیابی میزان شیوع توکسوپلاسما گوندی در نمونه‌های شیر خام جمع‌آوری شده از استان البرز انجام شد.

مواد و روش‌ها: ۳۵۰ نمونه شیر خام گاو، گوسفند و بز جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال داده شد. استخراج DNA از نمونه‌ها انجام و ردیابی ژن *B1* توکسوپلاسما گوندی با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلیمراز مورد استفاده قرار گرفت.

نتایج: ۳۰ نمونه از کل ۳۵۰ نمونه شیر خام ارزیابی شده، حاوی ژن *B1* توکسوپلاسما گوندی بودند (۸/۵۷ درصد). شیوع مولکولی توکسوپلاسما گوندی در نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز به‌ترتیب (۵/۳۳ ، ۱۲/۰۰ و ۱۰) درصد بود.

نتیجه‌گیری و بحث: شیر خام و پاستوریزه نشده گوسفند به‌عنوان بیش‌ترین منبع خطر برای انتقال توکسوپلاسما گوندی درنظر گرفته می‌شود. جوشش کامل شیر خام و استفاده از شیر پاستوریزه برای کاهش خطر ابتلا به توکسوپلاسما گوندی توصیه می‌شود.

* پست الکترونیکی نویسنده مسئول: zohreh_mashak@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳ خرداد ۱۴۰۰؛ تاریخ داوری: ۲ مرداد ۱۴۰۰؛ تاریخ اصلاح: ۱۷ شهریور ۱۴۰۰؛ تاریخ پذیرش: ۲۰ مهر ۱۴۰۰
(DOI): 10.22034/AEJ.2021.297509.2593

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی یک تک یاخته داخل سلولی اجباری از راسته کوکسیدیاها و شاخه اپی‌کمپلکسا است که سبب ایجاد بیماری توکسوپلاسموزیس در انسان و حیوانات می‌شود. بیماری در حیوانات و انسان با سقط جنین شناخته می‌شود. *توکسوپلاسما گوندی* حیوانات خونگرم ازجمله انسان را به‌دنبال تماس با گربه‌سانان (به‌خصوص گربه) و هم‌چنین استفاده از منابع خام یا نیم پخته دامی مانند گوشت، آلوده می‌کند متاسفانه تاکنون جنبه‌های اپیدمیولوژیکی *توکسوپلاسما گوندی* در شیر شناسایی نشده است. با این وجود در چندین تحقیق اقدام به ردیابی این تک یاخته در نمونه‌های شیر شده است. مطالعات نشان داده است که تاکی‌زوآیت *توکسوپلاسما گوندی* قابلیت ردیابی در نمونه‌های شیر را دارد. هر چند هنوز هیچ گزارشی مبنی بر بیماری‌زایی *توکسوپلاسما گوندی* از طریق شیر حیوانات ارائه نشده است (Belluco و همکاران، ۲۰۱۸؛ Hutchison، ۱۹۶۵؛ Boughattas، ۲۰۱۷).عفونت با *توکسوپلاسما گوندی* اغلب بدون علامت است اما در گروه‌های خاصی نظیر جنین‌هایی که به‌طور مادرزادی آلوده شده‌اند، نوزادان، افرادی با ضعف سیستم ایمنی، افراد مبتلا به ایدز و افرادی که عمل پیوند عضو انجام داده‌اند، بسیار خطرناک و حتی کشنده است. امروزه تخمین زده می‌شود که عفونت با *توکسوپلاسما گوندی* در یک سوم از جمعیت انسانی در جهان وجوددارد. میزان شیوع توکسوپلاسموزیس در مناطق و جوامع مختلف ایران بین ۱۸ تا ۸۵ درصد گزارش شده است (Boughattas، ۲۰۱۷؛ Powell و همکاران، ۲۰۰۱). تشخیص *توکسوپلاسما گوندی* از روی علایم بالینی بیماری، بسیار مشکل است. جداسازی تک یاخته از نمونه‌های آلوده با استفاده از کشت سلولی یکی از اصلی‌ترین راه‌های تشخیص بیماری به‌شمار می‌رود. تشخیص بر پایه تست‌های سرولوژیکی و ردیابی آنتی‌بادی‌های ضد*توکسوپلاسما گوندی* نیز از دیگر روش‌های تشخیصی تک یاخته می‌باشد.با این وجود تشخیص بر پایه کشت سلولی وقت‌گیر و پر هزینه است. تشخیص بر پایه سرولوژی نیز به‌دلیل امکان ایجاد واکنش‌های متقاطع، توصیه نمی‌شود. امروزه استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز (PCR) برای تشخیص *توکسوپلاسما گوندی* به شکل گسترده مورد تاییدقرار گرفته است. سرعت و دقت بالا، هم‌چنین حساسیت و ویژگی بالا و در نهایت ایمن بودن از مزایای استفاده از این روش تشخیصی هستند (Sabin، ۱۹۳۹؛ Dubey، ۱۹۸۵). با توجه به اهمیت بسیار زیاد *توکسوپلاسما گوندی* به‌عنوان یک عامل احتمالی منتقله از طریق شیر و هم‌چنین با توجه به این که شیر یکی از پر مصرف‌ترین مواد غذایی در سراسر جهان و در بین تمام اقشار و سنین مختلف جامعه است، مطالعه حاضر به‌منظور بررسی میزان شیوع مولکولی *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام جمع‌آوری شده از استان البرز با استفاده از روش PCR انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها

مجموعاً ۳۵۰ نمونه شیر خام شامل: شیر خام گاو (۱۵۰ نمونه)، شیر خام گوسفند (۱۰۰ نمونه) و شیر خام بز (۱۰۰ نمونه) از مراکز فروش شیر خام واقع در استان البرز به‌صورت تصادفی و در طی سال ۱۳۹۷ جمع‌آوری شد. نمونه‌های جمع‌آوری شده از نظر ظاهری و فیزیکی(رنگ و بو و pH و قوام) سالم بودند.نمونه‌ها درظروف شیشه‌ای استریل و در روز نمونه‌گیری در عرض ۲ تا ۴ ساعت در کنار یخ به آزمایشگاه انتقال داده شدند و تا زمان آزمایشگاه در یخچال ۴ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

استخراج DNA: ابتدا DNA ژنومی با استفاده از کیت استخراج DNAشرکت سیناژن ایران و با توجه به دستورالعمل شرکت سازنده، استخراج شد. سپس نمونه‌های DNA در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا انجام آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، قرار داده شدند.

ردیابی ژن B1 تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی*: نمونه‌های DNA استخراج شده از نمونه‌های شیر خام با استفاده از آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از نظر ژن *B1* تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* مورد ارزیابی قرار گرفتند(Guo و همکاران،۲۰۱۵).برای انجام‌واکنش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز، حجم نهایی واکنش ۲۵ میکرولیتر بود که شامل: ۲/۵میکرولیتر DNA الگو، ۱/۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۰/۵ میکرومول از هر پرایمر (پرایمر رفتی ’5-TGTTCTGTCCTATCGCAACG-3’ و پرایمر برگشتی -5’TGGGTCTACGTCGATGGCATGACAAC 3’ (۱۱۵ جفت باز)، ۱/۲۵ واحد آنزیم Taq DNA پلیمراز و ۲۰۰ میکرومولار dNTP Mix می‌باشد.برای انجام واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از دستگاه مسترسایکلر گرادینت شرکت Eppendorf استفاده شد. برنامه حرارتی مورد استفاده شامل: دناتوراسیون اولیه: ۹۶ درجه سانتی‌گراد ۳ دقیقه ۳۵ سیکل تکراری، دناتوراسیون: ۹۵ درجه سانتی‌گراد ۳۰ ثانیه، اتصال: ۶۰درجه سانتی‌گراد ۱ دقیقه، تکثیر: ۷۲ درجه‌سانتی‌گراد ۱ دقیقه، تکثیر نهایی: ۷۲ درجه سانتی‌گراد ۱۰ دقیقه. در این واکنش از grade water به‌عنوان کنترل منفی و از تک *یاخته توکسوپلاسما گوندی* (*ATCC 50174*) به‌عنوان کنترل مثبت استفاده شد. سپس الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز بر ژل آگارز ۲ درصد انجام گرفت و نتایج ثبت گردید.

تجزیه‌و تحلیل آماری داده‌ها: به‌منظور تجزیه‌و تحلیل داده‌های به‌دست آمده از انجام آزمایش، نتایج حاصل از کلیه آزمایشات جهت آنالیز، به صفحه گسترده Microsoft Excel، منتقل شدند. با استفاده

از نرم‌افزار آماری SPSS:21، تست Chi-Square و آنالیز تست دو جانبه فیشر (Fisher's exact two-taild test) مطالعه آماری انجام پذیرفت و در مقادیر P<۰/۰۵ تفاوت‌ها معنی‌دار شناخته شد.

نتایج

پژوهش کنونی به‌منظور ارزیابی شیوع مولکولی *تک یاخته توکسوپلاسما گوندی* در ۳۵۰ نمونه شامل شیر خام شامل انواع گاو (۱۵۰ نمونه)، گوسفند (۱۰۰ نمونه) و بز (۱۰۰ نمونه) که از مراکز فروش واقع در استان البرز به‌صورت تصادفی جمع‌آوری شده‌بودند،انجام شد.شکل ۱، نتایج به‌دست آمده از الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز را برای ردیابی ژن *B1* تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام نمایش می‌دهد.نتایج نشانگر حضور باند روشن به اندازه ۱۱۵ جفت باز برای ژن *B1* در الکتروفورز می‌باشد که حاکی از مثبت بودن نمونه از نظر تک یاخته است.

شکل ۱: الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز را برای ردیابی ژن B1 تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی، ۱: کنترل مثبت، ۲-۶: نمونه‌های مثبت از نظر ژن B1 (۱۱۵ جفت باز)، ۷: کنترل منفی

جدول ۱، فراوانی مولکولی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* را در نمونه‌های شیر خام جمع‌آوری شده از استان البرز، نشان می‌دهد. بر طبق نتایج به‌دست آمده از این جدول، ۳۰ نمونه از کل ۳۵۰ نمونه شیر خام ارزیابی شده، دارای ژن *B1* تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* بودند (۸/۵۷ ٪). به‌عبارت دیگر شیوع مولکولی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* درکل نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز ۸/۵۷ درصد بود که بسیار قابل توجه است. فراوانی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام گاو، شیر خام گوسفند و شیر خام بز به‌ترتیب ۵/۳۳ درصد، ۱۲/۰۰ درصد و ۱۰ درصد بود. در بین نمونه‌های شیر خام، شیر خام گوسفند (۱۲ درصد) فراوان‌ترین و شیر خام گاو (۵/۳۳ درصد) کم‌ترین شیوع مولکولی آلودگی به تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* را داشتند. اختلاف آماری معنی‌دار در حد P<۰/۰۵ بین نوع نمونه و شیوع مولکولی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* دیده شد.

جدول ۱: فراوانی مولکولی تک یاخته توکسوپلاسما گوندی در نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز جمع‌آوری شده از استان البرز

نوع نمونه‌ها	تعداد نمونه‌ها	فراوانی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* (٪)
شیر خام گاو	۱۵۰	۸ (۵/۳۳)
شیر خام گوسفند	۱۰۰	۱۲ (۱۲)
شیر خام بز	۱۰۰	۱۰ (۱۰)
کل	۳۵۰	۳۰ (۸/۵۷)

بحث

توکسوپلاسموزیس توسط تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* ایجاد می‌شود. اووسیست‌های این تک یاخته در مدفوع گربه‌های آلوده دفع می‌شود و افرادی که با گربه‌ها سر و کار دارند ممکن است به این بیماری مبتلا شوند. راه دیگر انتقال این بیماری، مصرف گوشت خام یا نیم پخته حیواناتی است که آلوده به این تک یاخته بوده‌اند. یکی دیگر از راه‌های آلوده شدن با این تک یاخته، که خیلی شایع می‌باشد، مصرف سبزیجات آلوده است. این عفونت شیوع فراوانی در سطح جهان دارد و در اکثر افراد، این عفونت هیچ‌گونه علایمی ایجاد نمی‌کند، زیرا کیست‌ها در حالت نهفته و غیرفعال می‌باشند ولی در افراد مبتلا به نوع مادرزادی عفونت و افراد دارای نقص سیستم ایمنی مشکلات جدی برای سلامتی در پی‌دارد و حتی می‌تواند کشنده باشد. درصورتی‌که یک خانم حامله برای اولین بار در طول حاملگی خود به این عفونت دچار شود، ممکن است جنین او نیز آلوده شده و باعث بروز ناهنجاری‌هایی مانند نابینایی در کودک شود. علایم این عفونت که یک تا سه هفته بعد از ابتلا به عفونت ایجاد می‌شوند شبیه عفونت سرماخوردگی است ولی در کل علامت‌ها مانند بزرگ‌شدن گره‌های لنفاوی بدون درد (اغلب در ناحیه گردن)، خستگی، تب و سردرد قابل مشاهده است. قلب، عضلات، پوست و چشم‌ها نیز ممکن است بر اثر این عفونت آسیب ببینند و در افرادی که دچار کاهش سطح ایمنی می‌باشند (مانند مبتلایان به ایدز) مغز نیز ممکن است دچار صدمه گردد. در چنین مواردی، علایم بیماری ممکن است سریعاً و یا این‌که در طی چند هفته بروز کند و شامل تب و سردرد، فلج یک دست و یک پا یا نیمی از بدن، از دست دادن قسمتی از بینایی، گیجی و خواب‌آلودگی می‌باشد. باانجام آزمایش خون یا مشاهده میکروسکوپی بافت مبتلا می‌توان توکسوپلاسموز را

تشخیص داد (Grigg، ۱۹۹۸؛ Dubey، ۱۹۸۵؛ Haidinejat، ۲۰۰۸؛ Boothroyd و همکاران، ۲۰۰۸؛ Hill و همکاران، ۲۰۰۵؛ Jones و همکاران، ۲۰۰۱؛ Liu و همکاران، ۲۰۱۵؛ Tenter و همکاران، ۲۰۰۰). از این‌رو تشخیص صحیح و به موقع بیماری در این افراد و به‌دنبال آن دارو درمانی از عوارض بیماری کاسته و در نتیجه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. درحال کنونی شناسایی ایمونوگلوبولین‌های اختصاصی تک یاخته *توکسوپلاسما* به‌دلیل حضور آن‌ها از ۲-۱ هفته پس از ابتلا تا آخر عمر در سرم فرد مبتلا توسط تکنیک‌های مختلف اولین گام برای تشخیص در فرد مشکوک به عفونت می‌باشد. اغلب از تکنیک‌های مختلفی از جمله IFA, IgG ELISA , IgM ELISA, IgG Avidity ELISA و تست Dye Test برای تشخیص این تک یاخته استفاده می‌شود که مورد اخیر معتبرترین آزمایش و تست گلد استاندارد تشخیصی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* است. البته امروزه استفاده از تکنیک‌های مولکولی مانند واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز به شکل قابل توجهی برای تشخیص تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* مورد استفاده قرار می‌گیرد (Grigg، ۱۹۹۸؛ Dubey، ۱۹۸۵؛ Haidinejat، ۲۰۰۸؛ Boothroyd و همکاران، ۲۰۰۸؛ Hill و همکاران، ۲۰۰۵؛ Jones و همکاران، ۲۰۰۱؛ Liu و همکاران، ۲۰۱۵؛ Tenter و همکاران، ۲۰۰۰). در پژوهش کنونی از ردیابی ژن *B1* که در واقع از ژن‌های اصلی در تشخیص تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* است و در تمامی سویه‌های تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* حضور دارد استفاده شد. دلیل عدم استفاده از کشت سلولی برای رویت سلول‌های زنده تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی*، دیر رشد بودن، سخت رشد بودن، پر هزینه بودن و نیاز به تجهیزات اختصاصی برای رشد باکتری می‌باشد. در مطالعه Asgari Nasab و سایر همکاران (۱۳۹۰) نیز برای شناسایی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در اندام‌های قلب، کبد، مغز و ماهیچه‌های گاو و گوسفند به‌روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز از ژن B_1 استفاده شد (Asgari Nasab و همکاران، ۲۰۱۱). Lass و سایر همکاران (۲۰۱۲) به مطالعه امکان حضور ژن B_1 تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* از طریق آزمون واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز در میوه‌جات و سبزیجات پرداختند. در تحقیق آن‌ها تعداد ۲۱۶ میوه و سبزی از فروشگاه‌ها و باغچه‌های خانگی شمال لهستان جمع‌آوری شد نتایج این تحقیق نشان داد که در ۲۱ نمونه از نمونه‌های مورد پژوهش DNA تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* وجود دارد (Lass و همکاران، ۲۰۱۲). از آن‌جایی که تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* یک انگل ژئونوز به‌شمار می‌رود بنابراین با توجه به شیوع بالای آن در شیر خام می‌توان نتیجه گرفت که تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* از طریق واکنش متقاطع و توسط دست انسان‌های آلوده می‌تواند وارد شیر خام شود. از طرف دیگر خود حیوانات تولید کننده شیر خام نیز می‌توانند آلوده به تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* بوده باشند. بنابراین رعایت بهداشت فردی و واکسیناسیون گله‌های شیری در کاهش بار آلودگی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در شیر خام، موثر است. یک روش اصلاحی موثر برای جلوگیری از وارد شدن تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* به نمونه‌های شیر خام، اخذ تست سرولوژیکی از گله‌های شیری است و موارد دارای تیتر مثبت آنتی‌بادی برای درمان باید درنظر گرفته شود هم‌چنین شیر خام حیوانات دارای تیتر آنتی‌بادی مثبت به تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* باید کامل پخته و جوشیده و سپس استفاده شود (Grigg، ۱۹۹۸؛ Dubey، ۱۹۸۵؛ Haidinejat، ۲۰۰۸؛ Boothroyd و همکاران، ۲۰۰۸؛ Hill و همکاران، ۲۰۰۵؛ Jones و همکاران، ۲۰۰۱؛ Liu و همکاران، ۲۰۱۵؛ Tenter و همکاران، ۲۰۰۰). از جمله دلایل آلودگی نمونه‌های شیر خام به تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* می‌توان به موارد زیر اشاره کرد انتقال آلودگی از طریق مدفوع، قسمت‌های خارجی بافت پستان، پشم، پوست و بستر سالن شیردوشی. انتقال تک یاخته‌ها از دستان آلوده کارکنان سالن شیردوشی در زمان دوشیدن شیر دام‌ها، ظروف آلوده مورد استفاده جهت حمل و نقل و نگه‌داری شیر خام. نگه‌داری شیر خام در دمای نامناسب و در معرض عوامل آلودگی محیطی (Guo و همکاران، ۲۰۱۵). متاسفانه تولید شیر در برخی از مناطق ایران و جهان، به‌صورت سنتی و عمل شیردوشی با استفاده از دست انجام می‌پذیرد. علاوه بر این، محیط سالن‌های شیردوشی در بسیاری از گاوداری‌ها و واحدهای تولید شیر، از بهداشت کافی برخوردار نیست. هم‌چنین کارکنان سالن‌های شیردوشی معمولاً بهداشت فردی را رعایت نمی‌کنند. ورود حیوانات خارجی مانند گربه و پرندگان که بعضاً حامل برخی از عوامل بیماری‌زا هستند نیز یکی از فاکتورهای خطر عمده دیگر به‌شمار می‌رود. از طرف دیگر بسیاری از حیوانات خصوصاً گوسفند و بز خود منبع بسیاری از پاتوژن‌ها هستند و به‌راحتی می‌توانند عامل بیماری‌زا را در شیر خود دفع نمایند. از این‌رو امکان حضور توکسوپلاسما گوندی در شیر بسیار زیاد است. تاکی زوآیت *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 (Dubey و همکاران، ۲۰۱۴؛ Boughattas، ۲۰۱۷؛ Powell و همکاران، ۲۰۰۱). تحقیق کنونی به‌منظور ارزیابی میزان شیوع مولکولی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام انجام شد. پژوهش کنونی نشان داد که شیوع مولکولی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام گاو، گوسفند و بز به‌ترتیب ۵/۳۳ درصد، ۱۲ درصد و ۱۰ درصد بود که نمایش‌دهنده بروز یک مشکل بهداشتی جدی در رابطه با مصرف این ماده غذایی به شکل خام و کم پخته و ابتلا به بیماری توکسوپلاسموزیس و عواقب آن است. در سال‌های گذشته در ایران و سایر نقاط جهان روی حضور تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در شیر خام پژوهش‌هایی انجام پذیرفته است. Inpankaew و همکاران (۲۰۱۰)

طی پژوهشی به مطالعه عفونت تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در شیر خام گاوها در تایلند پرداختند. در کل شیر خام ۷۰۰ گاو از ۵۵ دامداری کوچک جمع‌آوری و آنالیز شد. آنتی‌بادی تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* توسط تست‌های ELISA، IFAT و LAT مورد مطالعه قرار گرفت. نتایج نمایش داد که ۹/۴ درصد از گاوها با آزمون LAT و ۱۷ درصد با آزمون ELISA دارای عفونت تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* بودند و ۶۳ نمونه مثبت آزمون LAT و ۱۰۷ نمونه مثبت آزمون ELISA با آزمون IFAT مورد تایید قرار گرفت. Tavassoli و همکاران (۲۰۱۳) به مطالعه حضور DNA تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در شیر خام بز و گوسفندان شمال‌شرقی ایران با استفاده از روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز پرداختند. در این پژوهش ۶۲۵ نمونه شیر خام گوسفند و ۲۸۰ نمونه شیر خام بز مورد مطالعه قرار گرفتند و نتایج به‌دست 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، که نتایج این پژوهش با مطالعه اخیر مشابه بود. Spisak و همکاران (۲۰۱۰) به مطالعه آنتی‌بادی‌های ضد تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* و حضور DNA تک یاخته در شیر خام بز در یک مزرعه در شرق اسلواکی پرداختند. آنتی‌بادی‌های ضد تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در ۴۳ تا نمونه از ۸۷ نمونه شیر خام بز مورد آزمایش تشخیص داده شد که فراوان‌ترین شیوع در بزهای بیش از ۷۲ ماه و کم‌ترین شیوع در بزهای بین ۱۲ تا ۳۶ ماه گزارش گردید. در پژوهش Costa و Langoni (۲۰۱۰) رت‌های ماده وستر به‌طور تجربی با خوراندن برادی‌زوئیت‌های توکسوپلاسما آلوده شدند. حضور تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در شیر رت‌های مورد آزمایش از طریق آزمون PCR تایید شد. هم‌چنین انتقال تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* نیز به بچه رت‌ها از طریق IFAT، MAT و PCR تایید گردید. در پژوهش Dubey و همکاران (۲۰۱۴) هشت بز به‌طور تجربی با اووسیست *توکسوپلاسما* آلوده شدند و حضور تک یاخته در شیر و احتمال انتقال آن به گربه و موش از طریق خوراندن پنیر و شیر بزها به آن‌ها بررسی شد. نتایج این مطالعه حضور تک یاخته توکسوپلاسما گوندی را در شیر بزها و در پنیرهای تازه به‌روش PCR تایید کرد. Ossani و همکاران (۲۰۱۷) با حضور تک یاخته توکسوپلاسما در شیر میش‌های استان سانتا کاتارینای برزیل پرداختند. ۳۰/۹۵٪ (۱۳ از ۴۲ مورد) نمونه شیر میش‌هایی که از لحاظ سرمی مثبت بودند، به تک یاخته توکسوپلاسما گوندی هم آلوده بودند. Amairia و همکاران (۲۰۱۶) شیوع مولکولی توکسوپلاسما گوندی را در شیر خام بز در تونس بررسی نمودند. شیوع مولکولی انگل در شیر ۷/۸٪ تعیین گردید. در مقاله Boughattas و همکاران (۲۰۱۷) ارتباط مثبت نوشیدنی شیر و انتقال عفونت توکسوپلاسما به انسان گزارش شده است. داده‌های جدید در مورد تولید انگل در بافت شیر از میزبان‌های مختلف به‌دست آمده است. محصولات گاوی، فرهنگ اجتماعی بالا و کشورهای آفریقایی، اروپایی و آسیای جنوب‌شرقی با قابل انتقال بودن توکسوپلاسموز از طریق شیر ارتباط کم‌تری داشتند و فاکتورهایی هم‌چون محصولات بزی، جمعیت‌های دچار نقص ایمنی و کشورهای آمریکای شمالی، خاورمیانه و نواحی آمریکای لاتین ارتباط بیش‌تری با شیوع توکسوپلاسموز از طریق شیر داشتند. در مطالعه‌ای که در گربه‌ها انجام شده بود شیوع عفونت در حد ۳۰ تا ۸۰ درصد بوده است که بالاتر از مقاد یر جهانی آن می‌باشد. این مسأله نشان می‌دهد که ابتلای گربه‌ها در مناطق مختلف آب و هوایی ایران در حد به نسبت بالایی می‌باشد. در مطالعات انجام شده بر میزبانان واسطه، شیوع در گوسفند از بقیه حیو انات بیش‌تر و در حد ۳۳ درصد بود. شیوع در بز در حد ۲۱ درصد، در گاو حدود ۸/۹ درصد و در مرغ نیز در حد ۰ تا ۳۶ درصد بود (Mostafavi و Jalali monfared، ۲۰۱۲). براساس پژوهشی از Dubey (۱۹۸۵) در مونتانا در ایالات متحده مشخص شد که بیش‌تر گاوهایی که به‌طور طبیعی آلوده شده‌اند، فقط عیار پایینی از آنتی‌بادی ضد تک‌یاخته توکسوپلاسما را نمایش داده و گوسفند و گاو حساسیت وعکس‌العمل هومورال مغایری را نسبت به تک‌یاخته از خود نشان دادند. نتایج این دو مطالعه با یافته‌های پژوهش کنونی از لحاظ بالاتر بودن تیتر پادتن ضد توکسوپلاسما در گوسفند نسبت به سایر حیوانات مشابه بود. در مطالعات محققین دیگر در کشورهای زیمبابوه، مصر، اتیوپی، ایران، ترکیه و صربستان شیوع آلودگی گوسفندان به تک‌یاخته توکسوپلاسما گوندی به‌ترتیب ۴۷/۸، ۴۱/۷، ۵۶، ۷۲/۶، ۵۵/۶۷ و ۶۸/۳ گزارش شده است که با مطالعه حاضر هم‌خوانی دارد (Hamidinejat و همکاران، ۲۰۰۸؛ Hove و همکاران، ۲۰۰۵؛ Klun و همکاران، ۲۰۰۷؛ Negash و همکاران، ۲۰۰۴؛ Sevgili و Shapan، ۲۰۰۵؛ Babur و همکاران، ۲۰۰۸)، از جمله مطالعات دیگر بر حضور تک یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در سایر حیوانات به مطالعات زیر می‌توان اشاره کرد. Van der puije و سایر همکاران (۲۰۰۰) به مطالعه وجود آنتی‌بادی تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در گوسفندان و بزهای غنا پرداختند. در این پژوهش آنتی‌بادی ۱۲۵۸ نمونه شامل ۷۳۲ گوسفند و ۵۲۶ بز از ۲۸ منطقه مختلف از سه منطقه اکولوژیکی غنا از طریق آزمون الایزا مورد مطالعه قرار گرفت. در کل ۳۰/۵ درصد از نمونه‌ها مثبت بودند. میزان آلودگی در نمونه‌های گوسفند ۳۳/۲ درصد و در نمونه‌های بز ۲۶/۸ درصد گزارش شد. وجود آنتی‌بادی در حیوانات ماده ۳۵/۸ درصد و در حیوانات نر ۲۱/۱ درصد بود. Daryayi و همکاران (۲۰۰۶) در پژوهشی به مطالعه سرولوژی آنتی‌بادی ضد تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در گاو، گوسفند و بز در کشتارگاه‌های دام استان مازندران پرداختند. در این پژوهش تعداد ۶۳۹ نمونه خون گاو، گوسفند و بز از سه منطقه غربی، مرکزی و

شرقی از ۹ کشتارگاه استان مازندران به‌صورت استریل اخذ گردید. نتایج نشان داد که از کل نمونه‌های مورد مطالعه ۴۶۳ نمونه (۷۲/۵ درصد) از نظر تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* منفی و ۱۷۶ نمونه (۲۷/۵ درصد) مثبت بودند. فراوان‌ترین میزان آلودگی در گوسفند و کم‌ترین میزان در گاو مشاهده شد. آن‌ها نتیجه گرفتند که با توجه به بالا بودن شیوع تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در گوسفند و بز و اهمیت مصرف گوشت این حیوانات، امکان انتقال این تک‌یاخته از طریق خوردن گوشت خام یا خوب پخته نشده این حیوانات بیش‌تر از گوشت گاو است. در پژوهشی Zhou و همکاران (۲۰۱۲) به مطالعه سرولوژیکی تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در گله‌های شیری در جنوب چین پرداختند. در این تحقیق ۳۵۰ نمونه سرمی از گله‌های شیری ۵ مزرعه در گوانجو چین در سال‌های ۲۰۰۹ و ۲۰۱۰ جمع‌آوری شد و از نظر آنتی‌بادی تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* از طریق تست غیر مستقیم آنتی‌بادی هماگلوتنین مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج نشان داد که آلودگی به تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* ۵/۷ درصد است. نتایج این پژوهش مشخص کرد که تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در بین همه گروه‌های سنی دام‌های مورد مطالعه در این منطقه وجود دارد. پژوهش Dubey و همکاران (۲۰۰۸) در آمریکا (Maryland و Virginia) بر روی ۳۸۳ بره نشان داد که ۲۷/۱ درصد نمونه‌ها به تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* آلوده‌اند که نتایج ان تا حدودی با پژوهش کنونی مشابهت دارد.

پژوهش کنونی نشان داد که نمونه‌های شیر خام گاو و خصوصاً گوسفند و بز از شیوع فراوانی از نظر تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* برخوردار می‌باشند. بالاتر بودن میزان شیوع در شیر خام گوسفند (۱۲ درصد) و با توجه به اهمیت مصرف شیر این حیوانات، امکان انتقال این تک‌یاخته از طریق خوردن شیر خام یا خوب پخته نشده این حیوانات بیش‌تر از شیر گاو است. نتایج این تحقیق می‌تواند شروعی برای ارائه تحقیقات کاربردی بعدی در زمینه حضور تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* در نمونه‌های شیر خام باشد. واکسیناسیون بهینه گله‌های شیری و خصوصاً گله‌های گوسفند بر علیه تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* نه تنها جلوی درگیری این تک‌یاخته را در گله و بروز سقط جنین در دام‌ها را می‌گیرد بلکه باعث جلوگیری از انتقال این تک‌یاخته به شیر خام نیز می‌گردد. به‌نظر می‌رسد که مصرف شیر خام یا نیم جوشیده گوسفند دلیل احتمالی شیوع بالای تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* است. با این‌وجود بررسی‌های بیش‌تری برای اثبات منبع دقیق آلودگی نمونه‌های شیر خام به تک‌یاخته *توکسوپلاسما گوندی* نیاز است.

منابع

1. **Amairia, S.; Rouatbi, M.; Rjeibi, M.R.; Nouasri, H.; Sassi, L.; Mhadhbi, M. and Gharbi, M., 2016.** Molecular prevalence of *Toxoplasma gondii* DNA in goats' milk and seroprevalence in Northwest Tunisia. Veterinary Medicine and Science. Vol. 2, pp: 154-160.
2. **Asgari Nasab, M.; Mortazavi, A.; Namazi, J. and Kazemi, S., 2011.** Identification of the B1 gene of *Toxoplasma gondii* in heart, liver, brain and muscles of cow and sheep by PCR. . 20TH National Conference on Food science and technology.
3. **Belluco, S.; Simonato, G.; Mancin, M.; Pietrobelli, M. and Ricci, A., 2018.** *Toxoplasma gondii* infection and food consumption: a systematic review and meta-analysis of case-controlled studies. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 58, pp: 3085-3096.
4. **Boughattas, S., 2017.** *Toxoplasma* infection and milk consumption: Meta-analysis of assumptions and evidences. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. Vol. 57, pp: 2924-2933.
5. **Costa, V. and Langoni, H., 2010.** Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected Wistar female rats. Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases. Vol. 16, pp: 368-374.
6. **Daryayi, A.; Sharif, M.; Lakterashi, B.; Ziyayi, H. and Ajmi, A., 2006.** *Toxoplasma gondii* infection in livestock. J Mazandaran Univ Med Sci. Vol. 16, pp: 60-66.
7. **Dubey, J., 1985.** Serologic prevalence of toxoplasmosis in cattle, sheep, goats, pigs, bison, and elk in Montana. Journal of the American Veterinary Medical Association. Vol. 186, pp: 969-970.
8. **Dubey, J., 1998.** Advances in the life cycle of *Toxoplasma gondii*. International journal for parasitology. Vol. 28, pp: 1019-1024.
9. **Dubey, J.; Sundar, N.; Hill, D.; Velmurugan, G.; Bandini, L.; Kwok, O.; Majumdar, D. and Su, C., 2008.** High prevalence and abundant atypical genotypes of *Toxoplasma gondii* isolated from lambs destined for human consumption in the USA. International journal for parasitology. Vol. 38, pp: 999-1006.

10. **Dubey, J.; Verma, S.; Ferreira, L.; Oliveira, S.; Cassinelli, A.; Ying, Y.; Kwok, O.; Tuo, W.; Chiesa, O. and Jones, J., 2014.** Detection and survival of *Toxoplasma gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats. Journal of food protection. Vol. 77, pp: 1747-1753.

11. **Grigg, M.E. and Boothroyd, J.C., 2001.** Rapid identification of virulent type I strains of the protozoan pathogen *Toxoplasma gondii* by PCR-restriction fragment length polymorphism analysis at the B1 gene. Journal of clinical microbiology. Vol. 39, pp: 398-400.

12. **Guo, M.; Dubey, J.P.; Hill, D.; Buchanan, R.L.; Gamble, H.R.; Jones, J.L. and Pradhan, A.K., 2015.** Prevalence and risk factors for *Toxoplasma gondii* infection in meat animals and meat products destined for human consumption. Journal of food protection. Vol. 78, pp: 457-476.

13. **Hamidinejat, H.; Goraninejad, S.; Ghorbanpoor, M.; Nabavi, L. and Akbarnejad, F., 2008.** Role of *Toxoplasma gondii* in abortion of ewes in Ahvaz (South-West Iran). Bull Vet Inst Pulawy. Vol. 52, pp: 369-371.

14. **Hill, D.E.; Chirukandoth, S. and Dubey, J.P., 2005.** Biology and epidemiology of *Toxoplasma gondii* in man and animals. Animal health research reviews. Vol. 6, pp: 41-61.

15. **Hove, T.; Lind, P. and Mukaratirwa, S., 2005.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in goats and sheep in Zimbabwe. Onderstepoort Journal of Veterinary Research. Vol. 72, pp: 267-272.

16. **Hutchison, W., 1965.** Experimental transmission of *Toxoplasma gondii*. Nature. Vol. 206, pp: 961-962.

17. **Inpankaew, T.; Pinyopanuwut, N.; Chimnoi, W.; Kengradomkit, C.; Sununta, C.; Zhang, G.; Nishikawa, Y.; Igarashi, I.; Xuan, X. and Jittapalapong, S., 2010.** Serodiagnosis of *Toxoplasma gondii* infection in dairy cows in Thailand. Transboundary and emerging diseases. Vol. 57, pp: 42-45.

18. **Jones, J.L.; Kruszon-Moran, D.; Wilson, M.; McQuillan, G.; Navin, T. and McAuley, J.B., 2001.** *Toxoplasma gondii* infection in the United States: seroprevalence and risk factors. American journal of epidemiology. Vol. 154, pp: 357-365.

19. **Klun, I.; Djurković-Djaković, O. and Thulliez, P., 2007.** Comparison of a commercial ELISA with the modified agglutination test for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally exposed sheep. Zoonoses and public health. Vol. 54, pp: 165-168.

20. **Lass, A.; Pietkiewicz, H.; Szostakowska, B. and Myjak, P., 2012.** The first detection of *Toxoplasma gondii* DNA in environmental fruits and vegetables samples. European journal of clinical microbiology & infectious diseases. Vol. 31, pp: 1101-1108.

21. **Liu, Q.; Wang, Z.D.; Huang, S.Y. and Zhu, X.Q., 2015.** Diagnosis of toxoplasmosis and typing of *Toxoplasma gondii*. Parasites & vectors. Vol. 8, pp: 1-14.

22. **Mostafavi, S. and Jalali Monfared, L., 2012.** Toxoplasmosis epidemiology in Iran: a systematic review. J Isfahan Med School. Vol. 176, pp: 1-15.

23. **Negash, T.; Tilahun, G.; Patton, S.; Prevot, F. and Dorchies, P., 2004.** Serological survey on toxoplasmosis in sheep and goats in Nazareth, Ethiopia. Revue de medecine veterinaire. Vol. 155, pp: 486-488.

24. **Ossani, R.A.; Borges, H.A.T.; Souza, A.P.; Sartor, A.A.; Miletti, L.C.; Federle, M. and Moura, A.B., 2017.** *Toxoplasma* in milk of naturally infected dairy ewes on west Mesiregion of santa catarina State , Brazil. Arg. Bras. Med. Vet. Zoote C. Vol. 69, pp: 1294-1300.

25. **Powell, C.C.; Brewer, M. and Lappin, M.R., 2001.** Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. Veterinary parasitology. Vol. 102, pp: 29-33.

26. **Sabin, A.B., 1939.** Biological and immunological identity of *Toxoplasma* of animal and human origin. Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine. Vol. 41, pp: 75-80.

27. **Sevgili, M. and Babur, C., 2005.** Determination of seropositivity for *Toxoplasma gondii* in sheep in Sanliurfa province. Turk. J. Vet. Anim. Sci. Vol. 29, pp: 107-111.

28. **Shaapan, R.; El-Nawawi, F. and Tawfik, M., 2008.** Sensitivity and specificity of various serological tests for the detection of *Toxoplasma gondii* infection in naturally

infected sheep. Veterinary Parasitology. Vol. 153, pp: 359-362.

29. **Spišák, F.; Turčeková, Ľ.; Reiterová, K.; Špilovská, S. and Dubinský, P., 2010.** Prevalence estimation and genotypization of *Toxoplasma gondii* in goats. Biologia. Vol. 65, pp: 670-674.

30. **Tavassoli, M.; Esmaeilnejad, B.; Malekifard, F.; Soleimanzadeh, A. and Dilmaghani, M., 2013.** Detection of *Toxoplasma gondii* DNA in Sheep and Goat Milk in Northwest of Iran by PCR-RFLP. Jundishapur Journal of Microbiology. Vol. 6, pp: 189-198.

31. **Tenter, A.M.; Heckeroth, A.R. and Weiss, L.M., 2000.** *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. International journal for parasitology. Vol. 30, pp: 1217-1258.

32. **Van der Puije, W.; Bosompem, K.; Canacoo, E.; Wastling, J. and Akanmori, B., 2000.** The prevalence of anti-*Toxoplasma gondii* antibodies in Ghanaian sheep and goats. Acta tropica. Vol. 76, pp: 21-26.

33. **Zhou, D.H.; Zhao, F.R.; Lu, P.; Xia, H.Y.; Xu, M.J.; Yuan, L.G.; Yan, C.; Huang, S.Y.; Li, S.J. and Zhu, X.Q., 2012.** Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in dairy cattle in southern China. Parasites & vectors. Vol. 5, pp: 1-4.