بررسی شیوع سرمی *توکسوپلاسما گوندی* در اسب های نژاد ترکمن استان خراسان شمالی

رزمی، غ.ر.[۱]، عابدی، و.[۱]، یغفوری، س.[۱].

دریافت: ۱۳۹۲/۰۷/۲۵ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۰۹

خلاصه

توکسوپلاسموز یکی از بیماری های مهم مشترک انسان و دام با انتشار جهانی می باشد. این بیماری قابلیت شیوع در طیف وسیعی از میزبانان واسط خونگرم ازجمله دام ها و انسان را دارد. مطالعات صورت گرفته در ایران نشان دهنده شیوع نسبتاً بالای توکسوپلاسموز در انسان و دام می باشد. در این مطالعه شیوع سرمی به تک یاخته *توکسوپلاسما* در اسب های نژاد ترکمن در منطقه راز و جرگلان واقع در استان خراسان شمالی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور طی سال های ۱۳۹۱-۱۳۹۲ ، تعداد ۱۰۰ اسب با همکاری اداره کل دامپزشکی استان خراسان شمالی خونگیری شدند و با روش سرولوژی ایمونو فلورسانس غیر مستقیم (IFAT) آزمایش گردید. نتایج بدست آمده نشان دهنده وجود عیار سرمی مثبت بر علیه *توکسوپلاسما* در۴۱٪ از نمونه های سرمی مورد آزمایش بود . برطبق نتایج بدست آمده دامنه عیار سرمی تعیین شده از رقت سرمی ۱:۲۰ تا رقت سرمی ۱:۱۶۰ متغیر بود. در این مطالعه پایین ترین میزان آلودگی در گروه سنی زیر یکسال و بالاترین میزان آلودگی در گروه سنی یک تا ۱۰ سال مشاهده گردید ($P<0.05$) . هیچگونه اختلاف معنی دار بین شیوع سرمی و فاکتورهای جنس و نوع فعالیت اسب مشاهده نگردید . با توجه به فراوانی بالای آلودگی در اسب های مورد مطالعه، لزوم توجه به نکات بهداشتی به منظور کنترل و پیشگیری بیماری مورد نیاز است .

واژه‌های کلیدی: *توکسوپلاسما* گوندی، سرولوژی، اسب، خراسان شمالی، ایران.

۱. گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوشی مشهد، مشهد، ایران.

*نویسنده مسؤول: **razmi@um.ac.ir**

مقدمه

توکسوپلاسما گوندی (*Toxoplasma gondii*) یکی از شایع ترین تک یاخته های زئونوز در دنیاست. گربه سانان میزبان نهایی و انسان و حیوانات اهلی و وحشی میزبان واسط انگل می باشند. این انگل قادر به ایجاد آلودگی تمام حیوانات خونگرم می باشد. آلودگی با خوردن اُوسیست یا گوشت حاوی کیست ویا بطور مادرزادی در میزبان نهایی و واسط ایجاد می شود (Dubey و Beattie، ۱۹۸۸). انتقال آلودگی ناشی از خوردن اووسیست در اسب ها به علت چرای آزاد بسیار بالاست (Dubey و Beattie، ۱۹۸۸ ;Tassi، ۲۰۰۷). مواردی نیز از انتقال آلودگی *توکسوپلاسما* از طریق جفت به جنین در اسب نیز گزارش شده است (Dubey و Porterfield ، ۱۹۸۶; Turner و Savva، ۱۹۹۰). میزان شیوع سرمی آلودگی *توکسوپلاسمایی* در اسب های مناطق مختلف جهان از صفر تا ۹۰٪ درصد تخمین زده می شود (Tassi، ۲۰۰۷). علل تفاوت در عدم آلودگی و یا میزان شیوع سرمی منفی می تواند ناشی از حساسیت روش های سرولوژی استفاده شده، سن حیوان، منطقه جغرافیایی، شرایط بهداشتی و مدیریت مزرعه باشد (Tassi، ۲۰۰۷). اسب نسبت به آلودگی به *توکسوپلاسما* مقاومت نسبی دارد و به‌همین دلیل موارد اندکی از بروز بالینی توکسوپلاسموز در اسب مشاهده شده است (Dubey و Beattie، ۱۹۸۸). تاکنون کیست های *توکسوپلاسما* از عضلات و چشم اسب جدا شده است (Savva و Turner، ۱۹۹۱; Ghazy و Shappan، ۲۰۰۷). مواردی از بروز توکسوپلاسموزیس در انسان ناشی از مصرف گوشت اسب در اروپا گزارش شده است (Pomares و همکاران ، ۲۰۱۱). همچنین مصرف گوشت های آلوده اسب توسط گربه سانان باعث بقا و گسترش انگل در طبیعت می شود (Beattie و Dubey، ۱۹۸۸ ; Tassi، ۲۰۰۷) مطالعات اندکی در باره آلودگی *توکسوپلاسمایی* در اسب های ایران وجود دارد. فقط در دو مطالعه، شیوع سرمی آلودگی *توکسوپلاسمایی* اخیرا در اسب های شهرستان های ارومیه و قزوین به ترتیب حدود ۱۱/۵٪ تا ۷۲٪ تعیین شده است (Hajialilo و همکاران ، ۲۰۱۰; Raeghi و همکاران ۲۰۱۱). اسب ترکمن یکی از نژاد های با ارزش در ایران بوده و در نواحی از استان های خراسان شمالی و گلستان پرورش داده می شود، اسب ها بصورت دستی و یا چرای آزاد در مراتع تغذیه می شوند که شانس آلودگی به *توکسوپلاسما* در آنها بالا می رود. با توجه به اهمیت بهداشتی آلودگی *توکسوپلاسما* در انسان و دام، هدف این مطالعه تعیین وضعیت سرمی شیوع آلودگی *توکسوپلاسمایی* در جمعیت اسب های نژاد ترکمن و نقش اسب بعنوان میزبان واسط در سیر تکاملی این انگل به عنوان یک عامل بیماری مشترک می باشد.

مواد و روش کار:

منطقه مورد مطالعه

این بررسی طی سال های ۱۳۹۰- ۱۳۹۱ در استان خراسان شمالی انجام گرفت. این استان مساحتی در حدود ۲۸۰۰۰ کیلومتر مربع دارد و در شمال شرقی ایران و در جنوب کشور ترکمنستان قرار گرفته است. استان خراسان شمالی دارای آب و هوایی کوهستانی است و میانگین بارش، ۲۵۰ میلی لیتر در سال می باشد. پرورش اسب نژاد ترکمن در این مناطق رایج می باشد. این نژاد شبیه به اسب نژاد آخال تکه در کشور ترکمنستان است (Darper،۱۹۹۶; Holderness-Roddam، ۱۹۹۹).

روش نمونه برداری

به علت عدم وجود اطلاعاتی در باره میزان شیوع آلودگی *توکسو پلاسما* در اسب های استان خراسان، ابتدا مطالعه مقدماتی بر روی ۳۰ نمونه سرمی اسب با روش سرولوژی ایمونوفلورسانس غیر مستقیم در شهرستان مشهد انجام گرفت. حدود ۵٪ اسب ها نمونه برداری شده در این مطالعه، واجد عیار سرمی مثبت بر علیه *توکسوپلاسما* بودند. بدین ترتیب تعداد نمونه مورد نیاز بر مبنای فراوانی آلودگی بدست آمده، سطح اطمینان ۹۵٪ و سطح انتظاری با دقت ۵٪ ، ۱۰۰ نمونه تعیین گردید (محمد و صانعی، ۱۳۷۱). اسب های مورد آزمایش به صورت تصادفی ساده و با همکاری اداره کل دامپزشکی استان خراسان شمالی انتخاب شدند. پس از مراجعه به روستاهای منطقه راز و جرگلان و ثبت مشخصات اسب های انتخاب شده با هماهنگی صاحبان اسب، نسبت به خونگیری از ورید وداج اقدام شد. لوله های خون در کنار یخ به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی منتقل گردید. در آزمایشگاه، ابتدا با میله پلاستیکی خون لخته شده را از جدار لوله ونوجکت جدا کرده و سپس لوله ها با دور ۵۰۰۰ به مدت ده دقیقه سانتریفوژشدند. سپس سرم های بدست آمده، توسط سمپلر داخل لوله های درب دار جمع آوری گردید. نمونه های سرمی تا زمان آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

آزمایش سرولوژی

نمونه ها با روش IFA مورد آزمایش قرار گرفتند (آسمار و همکاران ،۱۳۶۹). ابتدا از نمونه ها ی سرمی رقت ۱/۲۰ تهیه شد که برای این کار ۵۰ میکرولیتر سرم به ۹۵۰ میکرولیتر از PBS (pH. ۷.۲) داخل یک لوله آزمایش اضافه گردید. همزمان اسلاید های واجد تاکی زوئیت *توکسوپلاسما گوندی* (شرکت بیوژن، ایران) از داخل یخچال ۴ درجه سانتی گراد بیرون آورده و ۵ - ۱۰ دقیقه صبر

کرده تا به دمای محیط برسد. سپس توسط سمپلر، مقدار ۵ میکرو لیتر از رقت ۱/۲۰نمونه های سرمی برداشت کرده و برروی لکه های آنتی ژن روی اسلاید قرارگرفت، لکه های آنتی ژنی ابتدایی اسلاید، مخصوص نمونه سرمی کنترل مثبت و منفی در نظر گرفته شدند . اسلاید های مورد آزمایش را در اتاقک مرطوب قرار داده و به داخل انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل شدند. بعد از ۳۰ دقیقه اتاقک مرطوب را از انکو باتور خارج نموده و ۳ بار در ظروف حاوی(pH. ۷.۲) PBS به مدت ۱۵ دقیقه شستشو داده شد. آنگاه اسلاید ها از ظروف حاوی (pH. ۷.۲) PBS خارج شده و با تکه های کاغذ صافی رطوبت اضافه روی لام گرفته شد. قبل از خشک شدن کامل اسلایدها، مقدار ۵ میکرو لیتر از رقت ۱/۳۲کونژوگه ضد ایمونوگلوبولین اسبی نشاندار شده

(Goat anti-horse IgG conjugated to FITC : Fuller laboratories, Fullerton, California,) بوسیله سمپلر برداشته و روی هریک از لکه های آنتی ژنی قرار گرفت و دوباره اسلاید ها به مدت ۳۰ دقیقه داخل انکوباتور قرارگرفت. پس از ۳۰ دقیقه اسلاید ها مانند مرحله قبل دوباره، شستشو داده شدند. آنگاه بروی اسلاید چند قطره محلول گلیسیرین بافره ریخته، بعد از گذاشتن لامل با میکروسکوپ ایمونوفلورسانس مورد مشاهده قرار گرفتند. ابتدا با استفاده از نور مرئی محل لکه های واجد تاکی زوئیت را تعیین کرده و سپس نور مرئی میکروسکوپ خاموش می شد و آنگاه به لکه های مورد آزمایش اشعه UV تابانده می شد و سپس با عدسی شیئی ۱۰× و ۴۰× و جود و یا عدم وجود واکنش ایمونوفلورسانس مورد بررسی قرار می گرفتند. از نمونه های سرمی مثبت رقت های متوالی تهیه گردید و به مشابه روش بالا مورد آزمایش سرولوژی قرار گرفتند ، بالاترین رقت سرمی واجد واکنش مثبت ثبت می شد. نمونه کنترل مثبت ومنفی نمونه سرمی اسب هایی که در آزمایش مقدماتی به ترتیب واجد عیار بالا آنتی بادی بر علیه *توکسوپلاسما* و فاقد عیار آنتی بادی بودند، انتخاب گردید.

آزمون آماری

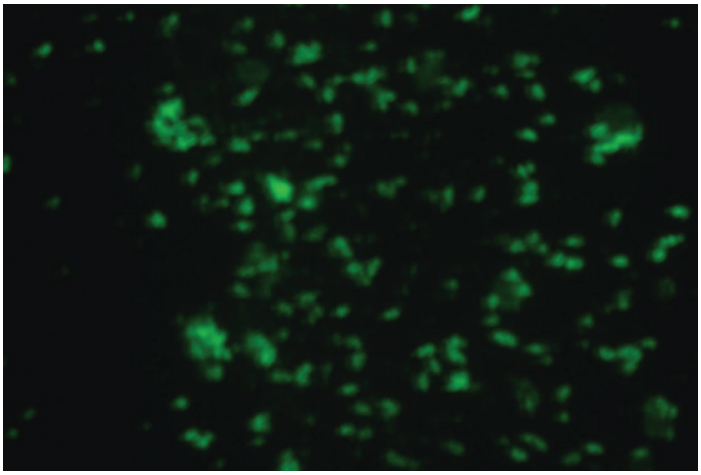
نتایج بدست آمده پس از جمع آوری با آزمون مربع کای مورد تجزیه وتحلیل آماری قرار گرفتند .

نتایج

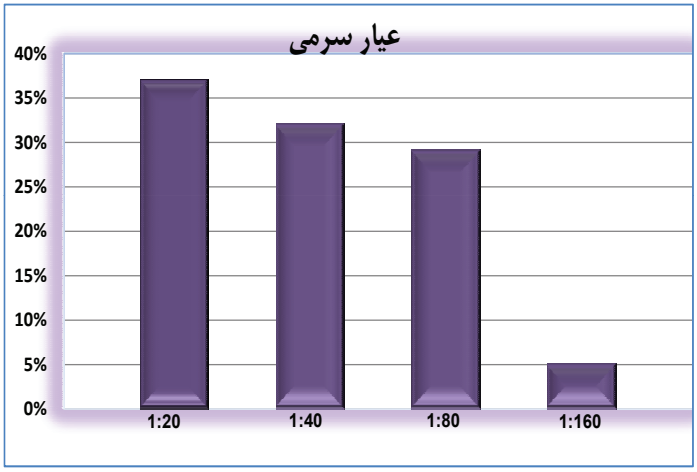
نتایج بدست آمده در این مطالعه از مجموع ۱۰۰ نمونه خون اسب نژاد ترکمن،۴۱٪ (۵۵/۶۲٪- ۲۹/۴۲ :۹۵٪, CI) نمونه های سرمی واجد عیار سرمی مثبت نسبت به *توکسوپلاسما* بودند (تصویر ۱). از مجموع ۴۱ نمونه مثبت، ۱۵ سرم واجد عیار ۱/۲۰، ۱۳ سرم واجد عیار ۱/۴۰، ۱۲ سرم واجد عیار ۱/۸۰ و دو سرم واجد عیار ۱/۱۶۰بودند (نمودار۱). در این مطالعه شیوع سرمی آلودگی توکسوپلاسمایی در ارتباط با فاکتورهای سن، جنس و نوع فعالیت اسب های نژاد ترکمن مورد بررسی و آنالیز آماری قرار گرفت. در این مطالعه کمترین میزان آلودگی در گروه سنی زیر یکسال و بالاترین میزان شیوع سرمی در گروه سنی یک تا ۱۰ سال مشاهده گردید (P<۰.۰۵) (جدول ۱). هبچگونه اختلاف معنی داری بین میزان شیوع سرمی آلودگی *توکسوپلاسمایی* در ارتباط با فاکتررهای جنس و نوع فعالیت اسب ها مشاهده نگردید (P>۰.۰۵) (جداول ۲ و ۳).

بحث

تاکنون روش های سرولوژی مختلفی جهت مطالعات سرولوژیک توکسوپلاسموز در انسان و حیوانات مورد استفاده قرار گرفته است . روش ایمنوفلورسانس غیرمستقیم در مقایسه با سایر روش ها از جمله روش های اگلوتیناسیون و روش الیزا از حساسیت و ویژگی بالاتری برخوردار بوده است (Piergili Fioretti، ۲۰۰۴; Wilson و همکاران، ۱۹۹۰). در این مطالعه نیز از روش ایمنوفلورسانس غیرمستقیم جهت یافتن آنتی بادی علیه *توکسوپلاسما* در اسب های نژاد ترکمن استفاده شد و فراوانی آلودگی *توکسوپلاسما* در اسب های نژاد ترکمن ۴۱٪ تعیین گردید. این میزان در مقایسه با فراوانی بدست آمده توسط Hajialilo و همکاران (۲۰۱۰) در سال ۱۳۸۹ بر روی اسب های سوارکاری شهرستان قزوین به میزان ۷۲٪ کمتر ودرمقایسه با مطالعه رائقی و همکاران در سال۱۳۹۰ در اسب های شهرستان ارومیه با میزان فراوانی ۱۱/۵٪ بیشتر است (Raeghi وهمکاران ۲۰۱۱). در هر دوی این مطالعات، نمونه های سرمی با روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفته بودند. اختلاف در میزان فراوانی آلودگی گزارش شده در این مطالعات می تواند در ارتباط با فاکتورهای مختلف چون نوع روش سرولوژی انجام شده (Ghazy و همکاران ۲۰۰۷) و منطقه جغرافیایی مورد مطالعه باشد. در کشورهای خاورمیانه همچون ترکیه فراوانی آلودگی *توکسوپلاسمایی* در اسب ها به میزان ۷/۲٪ تا ۲۸ ٪ (Karatepe وهمکاران، ۲۰۱۰; Zeynep وهمکاران ۲۰۰۷) و در عربستان به میزان ۳۱٪ تعیین شده است (Alyousif و Alanazi، ۲۰۱۱). مطالعات سرولوژیک در دیگر کشورها نشاندهنده آلودگی *توکسوپلاسما* در اسب های چکسلواکی به میزان ۲۴٪ (Bártová وهمکاران ۲۰۱۰) ، اسپانیا به میزان ۱۰/۸٪ (García-Bocanegra وهمکاران ۲۰۱۲) ، تونس



تصویر ۱. مشاهده تاکی زوییت های واجد واکنش ایمنوفلورسانس درنمونه سرمی مثبت اسب با بزرگنمایی (۴۰۰×)



نمودار۱. فراوانی عیار سرمی بر علیه *توکسوپلاسما گوندیی* در نمونه های سرمی اسب های آلوده

سن برحسب سال	مثبت (٪)	جمع	منفی
کمتر از یک سال	۰	۷	۷
۱تا ۱۰ سال	۳۷(٪۴۷)	۴۱	۷۸
بالاتر از ۱۰ سال	۴ (٪۲۶)	۱۱	۱۵
جمع	۴۱ (٪۴۱)	۵۹	۱۰۰

جدول ۱. شیوع سرمی آلودگی توکسوپلاسمایی در ۴۱ راس از اسب های نژاد ترکمن بر حسب سن

سن برحسب سال	مثبت (٪)	جمع	منفی
نر	۱۰ (٪۴۷)	۱۱	۲۱
ماده	۳۱ (٪۳۹)	۴۸	۷۹
جمع	۴۱ (٪۴۱)	۵۹	۱۰۰

جدول ۲. فراوانی آلودگی توکسوپلاسمایی در اسب های نژاد ترکمن بر حسب جنس

نوع فعالیت	مثبت (٪)	جمع	منفی
سوارکاری	۲۹ (٪۴۳)	۳۸	۶۷
کره گیری	۱۲ (٪۳۶)	۲۱	۳۳
جمع	۴۱ (٪۴۱)	۵۹	۱۰۰

جدول ۳. فراوانی آلودگی توکسوپلاسما یی در اسب های نژاد ترکمن بر حسب نوع فعالیت اسب

به میزان ۱۷٪ (Boughattas وهمکاران ۲۰۱۱) و در مصر به میزان ۳۰ تا ۵۰٪ (Raeghi و همکاران ۲۰۱۱) می باشند. در مطالعه حاضر کمترین و بیشترین عیار آنتی بادی سرمی به میزان ۱:۲۰ و۱:۱۶۰ تعیین شدند. این نتایج با میزان عیار سرمی گزارش شده مطالعه رائقی وهمکاران در شهرستان ارومیه و حاجی علیلو در شهرستان قزوین مشابهت دارد (Hajialilo و همکاران ، ۲۰۱۰; Raeghi و همکاران ۲۰۱۱). اگرچه در مطالعه سرولوژی انجام شده در کشور تونس عیار سرمی تا ۱:۶۴۰ نیز بر علیه *توکسوپلاسما* در اسب گزارش شده است (Boughattas وهمکاران ۲۰۱۱). در مطالعه دیگر توسط Dubey و همکاران (۱۹۹۹)، بالاترین عیار سرمی برعلیه *توکسوپلاسما* در اسب های آراژنتین ۱:۲۰۰بوده است. همچنین در مطالعه انجام شده در کشور کره با روش مشابه، بالاترین عیار سرمی بر علیه *توکسوپلاسما* ۱:۱۰۰گزارش گردید (Gupta و همکاران ۲۰۰۲). در این بررسی در بین سه گروه سنی زیر یکسال، یک تا ده سال و بالاتر از ده سال، بیشترین میزان آلودگی در گروه سنی یک تا ده سال مشاهده شد. طبیعی است با افزایش سن امکان آلودگی اسب ها با بلع اووسیست انگل از طریق چرا در مراتع آلوده افزایش می یابد، اگرچه کاهش فراوانی آلودگی در گروه سنی بالای ده سال ممکن است ناشی از کمی تعداد نمونه گرفته شده در مقایسه با گروه یک تا ده سال باشد. در مطالعه سرولوژیک توسط Boughattas و همکاران (۲۰۱۰)، از کشور تونس، فراوانی آلودگی *توکسوپلاسما* در اسب های بالاتر از ۱۰ سال بیشتر از اسب های جوان تر گزار ش شده است. در مطالعه مشابه انجام شده توسط Karatepe و همکاران (۲۰۱۰)، در کشور ترکیه و Finger و همکاران (۲۰۱۳)، از کشور برزیل ارتباط معنی داری بین فراوانی آنتی بادی علیه *توکسوپلاسما* در گروه های سنی مختلف پیدا نکردند. در این بررسی تفاوت معنی داری بین جنس و آلودگی *توکسوپلاسمایی* در اسب های مورد مطالعه مشاهده نگردید. نتایج بدست آمده از مطالعات سرولوژیک انجام شده در ترکیه و یرزیل، آنها نیز هیچگونه ارتباطی بین میزان آلودگی و فاکتور جنس گزارش ننمودند (Karatepe وهمکاران، ۲۰۱۰; Finger و همکاران، ۲۰۱۳). در مطالعه انجام شده در کشور مصر فراوانی آنتی بادی برعلیه *توکسوپلاسما* با سه روش الیزا، لاتکس آگلوتیناسیون و آگلوتیناسیون مستقیم در تعداد ۲۴۰ نمونه سرمی اسب مورد آزمایش قرار گرفت. فراوانی آلودگی در اسب های جنس ماده بیشتر از نر ها گزارش شده است (Shappan و همکاران ۲۰۱۲). در مطالعه سرولوزیک انجام شده توسط Boughattas و همکاران (۲۰۱۱)، در کشور تونس تعداد ۱۵۸ نمونه سرمی با روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفتند و فراوانی آلودگی *توکسوپلاسما* در اسب های جنس نر بیشتر از جنس ماده گزارش شده است. در مطالعه انجام شده در کشور مکزیک میزان شیوع آلودگی سرمی *توکسو پلاسما* در ۴۹۵ اسب با روش آگلوتیناسیون مستقیم مورد آزمایش قرار گرفت و ارتباط میزان شیوع با فاکتور های مختلف اپیدمیولوژیکی همچون سن، جنس و نحوه تغذیه مورد آنالیز آماری قرار گرفت، نتایج بدست آمده فقط اختلاف معنی داری در میزان آلودگی*توکسو پلاسما* در اسب های مرتع و اسب ها ی اصطبل نشان داد (Alvarado-Esquivel و همکاران، ۲۰۱۲). در بررسی حاضر هیچگونه اختلاف معنی داری بین میزان آلودگی *توکسوپلاسمایی* و نوع فعالیت اسب مشاهده نگردید. در حالیکه در مطالعه انجام شده در کشور یونان ۷۷۳ نمونه سرم اسب با روش الیزا مورد آزمایش قرار گرفت و اختلاف معنی دار در میزان آلودگی توکسوپلاسمایی با نوع فعالیت اسب گزارش شد (Kouam و همکاران ۲۰۱۰). در این مطالعه، دلیل این اختلاف را ناشی از نوع تغذیه و دسترسی اسب ها به چرای آزاد ذکر کرده اند. باتوجه به نتایج این مطالعه، میزان آلودگی *توکسوپلاسما* در اسب های نژاد ترکمن بالا بوده، بهمین دلیل احتمال آلودگی میزبانان واسط و نهایی به *توکسوپلاسما* از طریق مصرف گوشت اسب بسیار زیاد می باشد. اگرچه امکان انتقال آلودگی *توکسوپلاسما* به انسان از طریق مصرف گوشت اسب در کشور ایران وجود ندارد ولی دسترسی گربه سانان به گوشت اسب می تواند سبب برقراری سیکل انگل و شیوع بالاتر بیماری در انسان و دام شود. بهمین دلیل لازم است دامپزشکان توجه لازم در خصوص عدم دسترسی گربه ها به لاشه اسب های تلف شده را داشته باشند.

Journal of Veterinary Laboratory Research 5 (2013) 105-112

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Turkoman breed horses in the North Khorasan Province

Razmi, G.R.*[1], Abedi, V.[1], Yaghfoori, S.[1].

Received: 25.10.2013 Accepted: 30.12.2013

Abstract

Toxoplasmosis is an important zoonotic disease with worldwide distribution. It is capable of infecting an unusually wide range of warm-blooded animals including most livestock, and humans. Many studies were shown high prevalence of *Toxoplasma* infection in man and animals in Iran. The present study was conducted to investigate a serological survey of antibodies in Turkoman breed horses in Raz and Jarglan area, the North Khorasan Province. One hundred blood samples were collected with cooperation of the Veterinary Office from 2011 to 2012. The sera samples were tested for antibodies against *T. gondii* using Indirect Immunoflurescent Antibody Test (IFAT). The seropositive reaction against *T. gondii* were detected in 41 (41%) sera. The antibodies tites were detected in the range of 1:20 dilution and 1:160 dilution. In the present study, the lowest and highest seroprevalence of *T.gondii* infection were observed in the age groups of <1 year old and 1 -10 years old, respectively (P<0.05). There was no significant difference between the seroprevalence of *Toxoplasma* infection with gender and kind of activity factors in sampled horses. Regards to high seroprevalence of *Toxoplasma* infection in sampled horse; it needs to pay attention to animal health for control and prophylaxis of disease.

Key words: *Toxoplsama gondii*, Serology, Horse, The North Khorasan Province, Iran.

1. Department of Pathbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

*Corresponding author: **razmi@um.ac.ir**

منابع

آسمار، م.، کریمی، ی.، پورمنصور، م. ۱۳۶۹ توکسوپلاسموز، تولارمی و لیستریوز. انتشارات انستیتو پاستور ایران .صفحات : ۵۶-۶۳.

محمد، ک.، صانعی، ح. ۱۳۷۱. تعیین حجم نمونه در مطالعات بهداشتی . انتشارات معاونت پژوهشی وزارت بهداشت درمان و آموزش پزشکی. صفحات ۷-۴۰

Alanazi, A.D., Alyousif, M.S. 2011. Prevalence of antibodies to Toxoplasma *gondii* in horses in Riyadh Province, Saudi Arabia. Journal of Parasitology. **97**, 943-945.

Alvarado-Esquivel, C., Rodríguez-Peña, S., Villena, I., Dubey, J.P. 2012. Seroprevalence of Toxoplasma *gondii* infection in domestic horses in Durango State, Mexico. Journal of Parasitology**. 98**, 944-945.

Bártová, E., Sedlák, K., Syrová, M., Literák, I. 2010. *Neospora spp.* and Toxoplasma *gondii* antibodies in horses in the Czech Republic. Parasitology Research, **107**, 783–785.

Boughattas, S., Bergaoui, R., Essid, R., Aoun, K., Bouratbine, A. 2011. Seroprevalence of Toxoplasma *gondii* infection among horses in Tunisia. Parasite and Vectors. **4**, 218-220

Draper, J. 1996. The book of horses and horse care: a complete guide to riding, horse care and equestrian. 1th ed. New York: Smithmark.

Dubey, J.P., Porterfield, M.L. 1986. Toxoplasma-like sporozoa in an aborted equine fetus. Journal of American Veterinary Medical Association. **188**, 1312-1313.

Dubey, J.P., Beattie C.P. 1988. Toxoplasmosis of animal and man. Bocaraton, Florida, USA. CRC press, Inc.

Dubey, J.P., Venturini, M.C., Venturini, L., McKinney, J., Pecoraro, M. 1999. *Prevalence of antibodies to Sarcocystis neurona,* Toxoplasma *gondii and Neospora caninum in horses from Argentina. Veterinary Parasitology***. 86,** 59-62.

Finger, M.A., Villalobos, E.M., Lara, M.D., Cunha, E.M., De Barros Filho, I.R., Deconto, I., Dornbusch, P.T., Ullmann, L.S., Biondo, A.W. 2013. Detection of anti-Toxoplasma *gondii* antibodies in carthorses in the metropolitan region of Curitiba, Paraná, Brazil. Revista Brasileiro de Parasitologia Veteterinaria. 1:0. (Epub ahead of print)

García-Bocanegra, I., Cabezón, O., Arenas-Montes, A., Carbonero, A., Dubey, J.P., Perea, A., Almería S. 2012. Seroprevalence of Toxoplasma *gondii* in equids from Southern Spain. Parasitology International. **61**, 421-424.

Ghazy, A.A., Shaapan, R.M., Abdel-Rahman, E.H. 2007. Comparative serological diagnosis of toxoplasmosis in horses using locally isolated Toxoplasma *gondii*. Veterinary Parasitology. **145**, 31-36.

Gupta, G.D**.,** Lakritz, J., Kim, J.H., Kim, D.Y., Kim, J.K., Marsh, A.E. 2002. Seroprevalence of *Neospora*, Toxoplasma *gondii* and Sarcocystis neurona antibodies in horses from Jeju island, South Korea. Veterinary Parasitology. **106**, 193-201.

Hajialilo, E., Ziaali, N., Fasihi Harandi, M ., Saraei, M., Hajialilo, M. 2010. Prevalence of anti-Toxoplasma *gondii* antibodies in sport horses from Qazvin, Iran. Tropical Animal Health.Production. **42,** 1321-1322.

Holderness-Roddam, J. 1999. The life of horses. 1th ed. New York: Howell book house.

Karatepe, B., Babür, C., Karatepe, M., Kılıçm, S. 2010. Seroprevalence of toxoplasmosis in horses in Niğde Provinceof Turkey. Tropical Animal Health.Production. **42**, 385–389.

Kouam, M.K., Diakou, A., Kanzoura, V., Papadopoulos, E., Gajadhar, A.A., Theodoropoulos G. 2010. *Seroepidemiological study of exposure to* Toxoplasma*, Leishmania, Echinococcus and Trichinella* in equids in Greece and analysis of risk factors. Veterinary Parasitology. **170**, 170-175.

Piergili Fioretti, D. 2004. Problems and limitations of conventional and innovative methods for the diagnosis of Toxoplasmosis in humans and animals. Parassitologia. **46**, 177-181.

Pomares, C., Ajzenberg, D., Bornard, L., Bernardin, G., Hasseine, L., Darde, M.L., Marty P. 2011. Toxoplasmosis and horse meat, France. Emerging Infectious Diseases. **17**, 1327-1328.

Raeghi, S., Akbari, A., Sedghi, A. 2011. Seroprevalence of Toxoplasma *gondii* in Sheep, Cattle and Horses in Urmia North-West of Iran. Iranian Journal of Parasitology. **6**, 90-94.

Shappan, R.M., Ghazy, A.A. 2007. Isolation of Toxoplasma *gondii* from horse meat in Egypt. Pakistan Journal of Biology Science**. 10 ,**174-177.

Shappan, R.M., Abo-Eimaty, A.M., Abd-Eirazik, K.A., Abd- Eihafez, S,M. 2012. PCR and serological assay for detection of Toxoplasma *gondii* infection in sport horses in Cairo,Egypt. Asian Journal of Animal Veterinary Advance **7,** 158-165.

Tassi, P. 2007. Toxoplasma *gondii* infection in horses (A review). Parassitologia. **49**, 7-15.

Turner, C.B, Savva, D. 1990. Evidence of *Toxoplasma gondii* in an equine placenta. Veterinary Record**. 127,** 96.

Turner, C.B., Savva, D. 1991. Detection of Toxoplasma *gondii* in equine eyes Veterinary Record. **129(6)**, 128.

Wilson, M., Ware, D.A., Juranek, D.D. 1990. Serologic aspect of toxoplasmosis . Journal of American Veterinary Medical Association. **196**, 277-280.

Zeynep, G., Zafer, K., Cahit, B., Selçuk, K. 2007. Investigation of Toxoplasma *gondii* antibodies in sport horses breed in Ankara Province. Türkiye Parazitoloji Dergisi**. 31,** 264-367