



### بررسی میزان زنده‌مانی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی در فرآیند پنیرسازی سنتی ليقوان با غلظت‌های مختلف در مدت‌زمان ۲۴ ساعت

روزبه امجدی<sup>۱\*</sup>، ناصر حاجی پور<sup>۲</sup>، میرحسن موسوی<sup>۳</sup>، احسان احمدپور<sup>۳</sup>، سیده مژگان موسوی بیدلی<sup>۱</sup>، مصطفی فغانی<sup>۴</sup>

۱. دانشجوی دکتری بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.
۲. گروه بهداشت و کنترل کیفی مواد غذایی و آبزیان، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.
۳. گروه انگل شناسی و قارچ شناسی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.
۴. گروه علوم دامی و شیلات، دانشکده کشاورزی و صنایع غذایی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران.



\*نویسنده مسئول: [Rouzbeh.amjadi@yahoo.com](mailto:Rouzbeh.amjadi@yahoo.com)

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۱۱/۲۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۱۰/۱۹

#### چکیده

توکسوپلازما گوندی عامل ایجادکننده بیماری توکسوپلاسموزیس، یک انگل اجباری داخل سلولی حیوانات خونگرم می‌باشد. هدف از این مطالعه، بررسی میزان زنده‌مانی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی در فرایند پنیرسازی سنتی ليقوان با غلظت‌های مختلف در مدت‌زمان ۲۴ ساعت بود. برای این منظور ابتدا ۲ لیتر شیر تازه گوسفند از مراکز جمع‌آوری شیر تهیه و به آزمایشگاه منتقل شد. سپس تعداد  $8 \times 10^7$  انگل توکسوپلازما گوندی سوش RH و سپس مایه پنیر یا رنت به شیر اضافه گردید. پس از آنگیری کامل پنیر، برش‌هایی ایجاد کرده و در ظروف جداگانه حاوی غلظت‌های مختلف نمک طعام شامل ۴، ۸، ۱۲، و ۱۶ درصد در مدت‌زمان‌های ۲۴ ساعت با سه بار تکرار قرار داده شد. بعد از مدت‌زمان‌های ذکر شده، هریک از پنیر ليقوان بیمار شده کاملاً با PBS هموژن شده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰ سانتریفیوژ و رسوب حاصله به‌صورت داخل صفاقی با سه بار تکرار به ۳ سر موش تزریق شد و هم‌زمان مقداری از پنیر ليقوان بیمار شده به‌صورت خوراکی به هریک از موش‌ها خوراند. میزان زنده‌مانی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی از طریق مرگ‌ومیر موش‌ها ارزیابی گردید. نتایج نشان داد که میزان زنده‌مانی موش‌ها در غلظت‌های ۱۲ و ۱۶ درصد در مدت‌زمان ۲۴ ساعت ۱۰۰ درصد بود. همچنین در غلظت ۴ درصد در مدت‌زمان ۲۴ ساعت، بیشترین میزان مرگ‌ومیر موش‌ها مشاهده گردید که نشان‌دهنده زنده ماندن انگل در این غلظت و مدت‌زمان می‌باشد. نتایج این مطالعه نشان داد که جهت غیرفعال‌سازی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی احتمالی در شیرهای آلوده مورداستفاده در صنعت پنیرسازی سنتی ليقوان، بهتر است پنیر تهیه شده را در غلظت‌های نمک ۱۲ درصد و ۱۶ درصد در مدت‌زمان بیش از ۲۴ ساعت قرار داد.

کلمات کلیدی: توکسوپلازما گوندی، تاکی زوئیت، شیر، پنیر.

مقدمه

در عصر حاضر، افزایش سطح بهداشت جامعه، هرچند می‌تواند در اپیدمی بیماری‌های انگلی تغییر ایجاد کند، ولی بیماری‌های عفونی از مهم‌ترین موارد بهداشتی در خیلی از کشورها به شمار می‌رود؛ یکی از این بیماری‌های انگلی توکسوپلاسموز<sup>۱</sup> است. عامل این بیماری توکسوپلازما گوندی<sup>۲</sup> تک‌یاخته‌ای از گروه اپی کمپلکسا<sup>۳</sup> و از خانواده کوکسیدیا<sup>۴</sup> می‌باشد و در سیتوپلاسم خیلی از سلول‌های بدن پستانداران خونگرم استقرار می‌یابد و تولید می‌شود. این انگل سهم ویژه‌ای از بیماری‌های بین انسان و حیوانات خونگرم اهلی و وحشی دارد (۱).

میزبان اصلی این انگل گربه‌ها هستند که با تشکیل کیست در بافت‌های میزبان‌های واسط، مثل حیوانات نشخوارکننده، سبب ضررهای اقتصادی از قبیل مرگ سریع جنین، سقط جنین، زایمان نارس و مرگ نوزادان مبتلا به انگل شود. این انگل توسط خوردن آب و غذای آلوده به وسیله گربه به میزبان‌های واسط انتقال می‌یابد. مطالعات حاضر نشان داده که حداقل بیشتر از یک سوم افراد بالغ، آنتی‌بادی ضد این انگل را در سرم خون خودشان دارند که این نشان از پخش با وسعت زیاد این انگل برای ایجاد آلودگی است (۲).

توکسوپلازما گوندی دارای سه مرحله عفونی است که شامل: تاکی زوئیت<sup>۵</sup>، برادی زوئیت<sup>۶</sup> و اووسیت<sup>۷</sup> است. تاکی زوئیت‌ها و برادی زوئیت‌ها در بافت‌های میزبانان اصلی و واسط دیده می‌شود ولی اووسیت‌ها تنها در سلول‌های اپیتلیال پوششی روده باریک گربه وجود دارد (۳ و ۴).

روش‌های پیشگیری در افرادی که سیستم ایمنی قوی دارند، کافی به نظر نمی‌رسد؛ اما با توجه به ضایعه‌های توکسوپلاسموز مادرزادی در خانم‌های باردار و کسانی که دارای نقص ایمنی سلولی می‌باشند، پیشگیری بسیار لازم است (۵). خوردن گوشت نیم‌پز از مهم‌ترین عوامل آلودگی با توکسوپلازما گوندی در خانم‌های آبستن در زمان بارداری است (۶). در صورتی که میزان آلودگی با این تک‌یاخته بالا باشد، امکان دارد که به سقط در دام و انسان منجر شود. همچنین توکسوپلازما گوندی، از مهم‌ترین عوامل سقط جنین‌های دارای عفونت در دام‌های اهلی است (۷).

بر اساس آزمایش‌های هیستوپاتولوژیک، تست‌های سرولوژی و جداکردن انگل توکسوپلازما گوندی به وسیله تلقیح به موش آلودگی به این انگل صورت می‌گیرد. (۸). با توجه به استفاده زیاد شیر خام حیوانات من جمله شیر گوسفند، شیر بز و شیر الاغ به عنوان یک منبع مهم پروتئینی توسط انسان، مطالعه میزان آلودگی انگل توکسوپلازما گوندی در شیر این حیوان‌ها، به عنوان یک فاکتور اساسی امری ضروری به نظر می‌آید. یکی دیگر از مهم‌ترین منابع توکسوپلاسموزیس انسانی، گوشت و شیر دام‌های آلوده به شکل مزمن می‌باشد (۹).

هدف اصلی این مقاله بررسی میزان شیوع و زنده مانی تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی در فرآیند پیرسازی سنتی لیقوان با غلظت‌های مختلف در مدت‌زمان ۲۴ ساعت است. در این تحقیق کلیدواژه‌های توکسوپلازما گوندی، تاکی زوئیت، شیر، پنیر و ... در پایگاه‌های معتبر علمی جست و جو گردید و مورد بحث و بررسی قرار گرفت.

<sup>1</sup> Toxoplasmosis

<sup>2</sup> *Toxoplasma gondii*

<sup>3</sup> Apicomplexa

<sup>4</sup> Coccidia

<sup>5</sup> Tachyzoite

<sup>6</sup> Bradyzoite

<sup>7</sup> Oocyst



## مجله بیماری‌های قابل انتقال بین انسان و حیوان

### مواد و روش‌ها

جهت بررسی تأثیر تاکی زوئیت‌های توکسوپلازما گوندی در این تحقیق، تعدادی موش سوری بدون هرگونه بیماری با جنسیت ماده از دانشگاه ارومیه خریداری شد. برای انجام این تحقیق در فاصله زمانی آبان‌ماه ۱۳۹۹ تا دی‌ماه ۱۳۹۹، ۲ لیتر شیر گوسفند از مراکز عرضه شیر جمع‌آوری شد و سپس به آزمایشگاه بهداشت مواد غذایی و آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز منتقل گردید و داخل یخچال در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار داده شد.

ابتدا سوش RH انگل توکسوپلازما گوندی از گروه انگل‌شناسی دانشکده علوم پزشکی دانشگاه تبریز تهیه گردید. سپس برای بدست آوردن تعداد بیشتری از این سویه، تاکی زوئیت‌های انگل توسط سرنگ انسولین به روش درون صفاقی به ۳ سر موش تزریق شد. بعد از گذشت ۳ روز از تزریق، موش‌ها را داخل ظرفی پلاستیکی در بسته قرار داده و به‌وسیله مقداری اتر آن‌ها بیهوش شدند. بعد از بیهوش شدن موش‌ها، ناحیه تزریق شده (صفاق) توسط فیچی برش داده شد به‌طوری‌که به پرده صفاق آسیبی نرسید سپس توسط سرنگ ۱ میلی‌لیتر، ۳ میلی‌لیتر سدیم کلرید به موش‌ها تزریق شد و تاکی زوئیت انگل توکسوپلازما از ۳ سر موش آسپیره شد و به داخل فالكون‌های پلاستیکی انتقال و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد داخل یخچال قرار داده شد. پس از انتقال شیر خام تازه به آزمایشگاه، ابتدا شیر از صافی توری گذرانده شد تا در صورت وجود، اجسام خارجی از شیر گرفته شوند. سپس شیر را در یک ظرف (بشر) ریخته و داخل بن ماری گذاشتیم و دمای آن به ۲۱ درجه سانتی‌گراد رساندیم. بعد از آن شیر با همزن هم زده شد.

در حین درست کردن پنیر ليقوان تعداد  $10^7 \times 8$  انگل توکسوپلازما گوندی سوش RH و سپس ۰/۲ گرم مایه پنیر قارچی میتو به شیر اضافه شد. روی ظرف حاوی شیر لحاف کشیده و به مدت ۲-۱ ساعت به حال خود رها شد تا لخته ایجاد شود. پس از تخلیه دلمه به داخل پارچه صافی و بعد از چندین بار تکان دادن آب پنیر خارج شد. برای تهیه غلظت‌های ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ درصد به ترتیب ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ گرم از نمک طعام را به‌صورت جداگانه با ترازوی دیجیتال وزن کرده و در ارن ریخته و سپس با کمی با آب مقطر حل و حجم هر یک از آن‌ها را به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد.

پس از آگیری کامل با قراردادن یک وزنه سنگی بر روی پارچه حاوی دلمه به مدت ۲-۱ ساعت، برش‌هایی را به‌اندازه ۳-۲ سانتی‌متر با ضخامت ۲ سانتی‌متر با استفاده از کارت استریل ایجاد و سپس پنیر را به تکه‌های کوچک تقسیم کرده و در داخل تعدادی ظرف پلاستیکی حاوی آب‌نمک با غلظت‌های ۴، ۸، ۱۲ و ۱۶ درصد در مدت‌زمان ۲۴ ساعت قرار داده شدند. این مرحله با سه بار تکرار انجام گرفت. پنیر تیمار شده با توکسوپلازما گوندی را بعد از مدت‌زمان ذکر شده در یک لوله‌آزمایش ریخته و سپس به هر لوله، سرم فیزیولوژی به‌اندازه ۳ میلی‌لیتر اضافه شد و لوله‌ها را بهم زده سپس لوله‌ها را داخل دستگاه سانتریفیوژ قرار داده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۲۰۰۰، لوله‌ها سانتریفیوژ شد تا پنیر خوب حل بشود. پس از سانتریفیوژ، آب سرم فیزیولوژی را خالی و دوباره به آن مقدار کمی سرم فیزیولوژی اضافه شد. رسوب تشکیل شده به‌صورت داخل صفاقی توسط سرنگ انسولین، به موش‌ها تزریق شد و در آخر هریک از رسوب‌های حاصل از شستشوی نمونه‌های پنیر تیمار شده با انگل توکسوپلازما گوندی را به ۳ سر موش تزریق کرده و میزان زنده‌مانی تاکی زوئیت‌های انگل توکسوپلازما گوندی در مدت‌زمان ۲۴ ساعت از طریق مرگ‌ومیر موش‌ها مشاهده و ارزیابی شد.

داده‌های حاصل از مطالعه (درصد زنده ماندن انگل‌ها)، با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و در صورت معنی‌دار شدن اختلاف میانگین‌ها ( $P < 0.05$ ) از آزمون تعقیبی دانکن جهت پیگیری اختلاف بین گروه‌ها استفاده می‌شود. آنالیز داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۱ انجام داده شد.

## نتایج

نتایج مطالعات حاضر نشان داد که از سه سر موش تیمار شده با پنیر لیقوان آلوده به تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی که در غلظت ۴ درصد نمک طعام در مدت زمان ۲۴ ساعت قرار داده شده بود هر سه موش بعد از یک روز مردند. از ۳ سر موش تیمار شده با پنیر لیقوان آلوده در معرض نمک طعام ۸ درصد در مدت زمان ۲۴ ساعت، ۲ سر موش زنده و یک سر موش از بین رفت (جدول ۱).

نتایج تحقیقات حاضر نشان داد که از سه سر موش تیمار شده با پنیر لیقوان آلوده به تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی که تحت تأثیر غلظت ۱۲ و ۱۶ درصد نمک طعام در مدت زمان ۲۴ ساعت قرار داده شده بود هر سه موش بعد از ۵ روز زنده بودند (جدول ۱).

جدول ۱. نتایج میزان مرگ و میر موش های سوری تیمار شده با پنیر لیقوان در معرض غلظت های مختلف نمک طعام آلوده شده با تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی

زمان / غلظت	۴ درصد		۸ درصد		۱۲ درصد		۱۶ درصد	
	تاریخ تیمار	تاریخ مرگ	تاریخ تیمار	تاریخ مرگ	تاریخ تیمار	تاریخ مرگ	تاریخ تیمار	تاریخ مرگ
۲۴ ساعت	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۳	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۵	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲
	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۳	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۵	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۲
	۹۹/۱۰/۲۲	۹۹/۱۰/۲۳	۹۹/۱۰/۲۲	نمردند	۹۹/۱۰/۲۲	نمردند	۹۹/۱۰/۲۲	نمردند

نتایج آنالیز آماری نشان داد که میانگین مرگ و میر موش های تیمار شده با پنیر لیقوان آلوده به تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی تحت تأثیر قرار گرفته شده در غلظت ۴ درصد به طور معنی داری نسبت به غلظت های ۱۲ و ۱۶ درصد بیشتر بود (جدول ۲).

جدول ۲. میانگین مرگ و میر موش های سوری تیمار شده با پنیر لیقوان آلوده به تاکی زوئیت توکسوپلازما گوندی تحت تأثیر قرار گرفته شده در غلظت های مختلف نمک طعام

درصد غلظت نمک طعام	میانگین مرگ و میر $\pm$ خطای استاندارد
۴ درصد	$0.14 \pm 0.58^a$
۸ درصد	$0.14 \pm 0.33^a$
۱۲ درصد	$0.00 \pm 0.00^b$
۱۶ درصد	$0.00 \pm 0.00^b$

## بحث

نتایج مطالعات پاول و همکاران (۲۰۰۱)، نشان داد که تاکی زوئیت های توکسوپلازما گوندی در شیر گوسفند، بز، گاو یافت می شود که ناشی از خوردن شیر خام و پنیر توسط انسان است. همچنین انتقال انگل از طریق شیردهی گربه های آلوده به بچه گربه هایشان مورد بحث بوده است. ابتدا شیر گوسفند، بز و گاو برای انجام آزمایش PCR و روش سنجش در گربه ها جمع آوری شد. تلقیح به گربه های آلوده (از قبل توکسوپلازما گوندی داشته اند) و گربه های باردار عاری از انگل، از طریق مصرف غذای



## مجله بیماری های قابل انتقال بین انسان و حیوان

آلوده با توکسوپلازما گوندی، انجام شد. نتایج این آزمایش نشان داد که توکسوپلازما گوندی با استفاده از روش PCR در شیر پنج گربه از شش گربه، وجود دارد (۱۰).

در مطالعه هیراموتو و همکاران (۲۰۰۱)، شیر پاستوریزه گاو با ۱۰ کیست در یک میلی لیتر، از سویه ME-۴۹ توکسوپلازما گوندی آلوده گردید و در گروه های مختلف موش، پس از نگهداری در دمای ۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵، ۱۰ و ۲۰ روز تزریق شد. سپس پنیر تازه خانگی با شیر سنتی آلوده تهیه گردید و همچنین در گروه موش ها، با استفاده از همان فرایند ذخیره سازی، مورد آزمایش قرار گرفت. عفونت، با وجود کیست در مغز و آزمایش سرولوژی در موش های مورد آزمایش مشاهده شد و پس از ۵ هفته توسط تست وسترن بلات و بافت شناسی مورد تأیید قرار گرفت. عفونت کیست های سویه ME-۴۹ توکسوپلازما گوندی، حتی پس از ۲۰ روز نگهداری در دمای یخچال در شیر حفظ شد. کیست ها همچنین توانستند در فرایند تولید پنیر تازه خانگی و نگهداری به مدت ۱۰ روز، در شرایط مشابه زنده بمانند. این داده ها نشان داد که شیر و محصولات لبنی می توانند منبع مهمی از توکسوپلازما گوندی برای آلوده کردن انسان باشند که اهمیت پاستوریزاسیون شیر را قبل از هرگونه فرآوری و مصرف کردن تقویت می کند (۱۱).

در مطالعه ای دیگر توسط دابی و همکاران (۲۰۱۴)، تشخیص و زنده ماندن توکسوپلازما گوندی در شیر و پنیر توسط روش سنجش در موش (شیر) و در گربه (پنیر) مورد بررسی قرار گرفت. هشت بز از راه خوراکی، با ۳۰۰ تا ۱۰ هزار تخمک از سویه ۲۶TgGoatUS توکسوپلازما گوندی تلقیح شدند. نمونه های شیر، روزانه تا ۳۰ روز پس از تلقیح، جمع آوری و در موش ها و گربه ها آزمایش زیستی انجام شد. در روش سنجش موش، ۵۰ میلی لیتر از نمونه های شیر، سانتریفیوژ و سپس رسوبات آن به صورت زیرجلدی به موش ها تزریق گشت که در آن توکسوپلازما گوندی در شیر هشت بز شناسایی شد. همچنین مشاهده کردند که دفع توکسوپلازما گوندی در شیر به صورت متناوب می باشد. در روش سنجش گربه، روزانه ۴۰۰ میلی لیتر شیر از چهار بز می دوشیدند و ۶ تا ۲۷ روز پس از تلقیح، ادغام و پنیر را با استفاده از رنین تهیه می کردند. بعد از آن ده گرم پنیر روزانه به چهار گربه خورانده و مدفوع گربه از نظر میزان اووسیت مورد بررسی قرار گرفت. بررسی ها نشان می داد که گربه ۷ تا ۱۱ روز پس از مصرف پنیر، کیست را از تخمدان خود تخلیه می کرد. تلاش برای شناسایی DNA توکسوپلازما گوندی در شیر چهار بز صورت گرفت و مشاهده شد که توکسوپلازما گوندی با روش PCR به طور مداوم تری تشخیص داده می شود، اما هیچ ارتباطی بین تشخیص توکسوپلازما گوندی زنده با استفاده از روش سنجش در موش و DNA توکسوپلازما گوندی با PCR وجود نداشت. نتایج کلی نشان می دهد که توکسوپلازما گوندی می تواند از شیر بز دفع شود و در پنیر تازه ساخته شده توسط تیمار آنزیم سرد زنده بماند. برای جلوگیری از انتقال توکسوپلازما گوندی به انسان یا حیوانات، شیر نباید به صورت خام مصرف شود. همچنین پنیر تازه و شیر خام بز که توسط آنزیم سرد از شیر غیرپاستوریزه تهیه شده است نیز نباید مصرف شود (۱۲).

در مطالعه ای دیگر سعد و همکاران (۲۰۱۸)، برای تعیین شیوع توکسوپلازما گوندی، از تست الایزا و PCR استفاده کردند. آن ها شیر خام بز، گوسفند و شتر (۳۰ نمونه برای هر یک) را از مکان های مختلف در مصر، جمع آوری کردند. یافته های آنها در این مطالعه نشان داد، آنتی بادی IgG توکسوپلازما گوندی به ترتیب در ۹۰ درصد، ۶۰ درصد و ۳۳ درصد، در نمونه های شیر بز، گوسفند و شتر یافت می شود. از نمونه های مثبت توکسوپلازما گوندی، DNA انگلی، فقط در دو نمونه شیر مورد بررسی قرار گرفت، یکی از آنها در نمونه شیر بز وجود داشت و دیگری در نمونه شیر گوسفند یافت شد. از طرفی دیگر، مشاهده گردید هیچ انگلی در نمونه های شیر شتر یافت نشده است. نتایج کلی این مطالعه نشان داد که شیر خامی که توسط تاکی زوئیت توکسوپلازما

گوندی آلوده شده است می تواند منبع مهمی برای عفونت انسانی باشد؛ بنابراین برای کاهش خطر آلودگی شیر توسط این انگل، باید برنامه های بهداشتی محدود در دامداری ها اجرا شود (۱۳).

کوستا و همکاران در سال ۲۰۲۰ با مطالعه بر روی نمونه های پنیر تازه سنتی، آب آشامیدنی، سبزیجات و آب فاضلاب به این نتیجه رسیدند که قطعه DNA توکسوپلازما گوندی با استفاده از روش PCR در دو نمونه پنیر و یک نمونه آب فاضلاب وجود داشت (۱۴).

رانوچی و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی پنیرهای سنتی تهیه شده از گوسفندان آلوده به توکسوپلازما گوندی مطالعاتی را انجام دادند و آن ها بعد از آلودگی تجربی گوسفندان و اثبات وجود و زندهمانی توکسوپلازما گوندی در شیر میسها به ترتیب با استفاده از روش بهینه نمودن تکنیک تکثیر هم دما به واسطه لوپ (LAMP)<sup>۱</sup> و RT-PCR نشان دادند که همه پنیرهای سنتی با استفاده از روش LAMP در روزهای پنجم و پانزدهم زمان رسیدن، مثبت ولی با استفاده از روش RT-PCR منفی بودند (۱۵). در مطالعه و تحقیقی که توسط ما انجام گردید، میزان زندهمانی تاکی زوئیت های توکسوپلازما گوندی از طریق مرگومیر موش ها، مورد ارزیابی قرار گرفت. تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل از مطالعه (درصد زنده ماندن انگل ها)، با روش آنالیز واریانس نشان داد که کمترین غلظت نمک طعام تزریق شده (غلظت ۴ درصد) به موش های مورد آزمایش، در مدت زمان ۲۴ ساعت، منجر به مرگ هر سه موش می گردد.

#### نتیجه گیری کلی و پیشنهادها

نتیجه کلی این مطالعه نشان داد که در مدت زمان ۲۴ ساعت در غلظت های بالای نمک طعام یعنی ۱۲ و ۱۶ درصد، مرگومیر موش ها مشاهده نشد. یعنی انگل در این غلظت ها کشته شده و کاملاً از بین رفته است. همچنین در غلظت ۴ درصد در مدت زمان ۲۴ ساعت، بیشترین میزان مرگومیر موش ها مشاهده گردید که این خود نشان دهنده زنده ماندن انگل و تأثیر آن در مرگ موش هاست. بنابراین در صنعت پیرسازی سنتی لیقوان، بهتر است از غلظت های نمک ۱۲ درصد و ۱۶ درصد استفاده کرد.

#### تقدیر و تشکر

پژوهش حاضر برگرفته از پایان نامه کارشناسی ارشد روزبه امجدی بوده و با حمایت حوزه پژوهشی دانشگاه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز انجام شده است

#### تعارض منافع

هی چگونه تضاد منافی بین نویسندگان وجود ندارد و این مقاله با اطلاع و هماهنگی آنها ارسال شده است.

#### فهرست منابع

- [1]. De Waal DT. Equine piroplasmiasis: a review. *British Veterinary Journal*. 1992;148(1):6-14.
- [2]. Tenter AM, Heckeroth AR, Weiss LM. *Toxoplasma gondii*: from animals to humans. *International Journal for Parasitology*. 2000;30(12-13):1217-58.
- [3]. Dubey JP. Toxoplasmosis, sarcocystosis, isosporosis, and cyclosporiasis. *Zoonoses*. 1998.
- [4]. Dubey JP. Toxoplasmosis of animals and humans. CRC press; 2016 Apr 19.

<sup>1</sup>Loop Mediated Isothermal Amplification-LAMP



## مجله بیماری های قابل اتصال بین انسان و حیوان

- [5]. Rodier MH, Berthonneau J, Bourgoïn A, Giraudeau G, Agius G, Burucoa C, Hekpazo A, Jacquemin JL. Seroprevalences of *Toxoplasma*, malaria, rubella, cytomegalovirus, HIV and treponemal infections among pregnant women in Cotonou, Republic of Benin. *Acta tropica*. 1995;59(4):271-7.
- [6]. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard-Fleury V, Carne B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case-control study in France. *Scandinavian journal of infectious diseases*. 1999;31(3):305-9.
- [7]. Dubey JP, Beattie CP. 1998. *Toxoplasmosis of Animals and Man* CRC Press, Boca Raton.
- [8]. Masala G, Porcu R, Madau L, Tanda A, Ibba B, Satta G, Tola S. Survey of ovine and caprine toxoplasmosis by IFAT and PCR assays in Sardinia, Italy. *Veterinary Parasitology*. 2003;117(1-2):15-21.
- [9]. Lundén A, Uggla A. Infectivity of *Toxoplasma gondii* in mutton following curing, smoking, freezing or microwave cooking. *International Journal of Food Microbiology*. 1992;15(3-4):357-63.
- [10]. Powell CC, Brewer M, Lappin MR. Detection of *Toxoplasma gondii* in the milk of experimentally infected lactating cats. *Veterinary Parasitology*. 2001;102(1-2):29-33.
- [11]. Hiramoto RM, Mayrbauri-Borges M, Galisteo Jr AJ, Meireles LR, Macre MS, Andrade Jr HF. Infectivity of cysts of the ME-49 *Toxoplasma gondii* strain in bovine milk and homemade cheese. *Revista de Saúde Pública*. 2001; 35:113-8.
- [12]. Dubey JP, Verma SK, Ferreira LR, Oliveira S, Cassinelli AB, Ying Y, Kwok OC, Tuo W, Chiesa OA, Jones JL. Detection and survival of *Toxoplasma gondii* in milk and cheese from experimentally infected goats. *Journal of Food Protection*. 2014;77(10):1747-53.
- [13]. Saad NM, Hussein AA, Ewida RM. Occurrence of *Toxoplasma gondii* in raw goat, sheep, and camel milk in Upper Egypt. *Veterinary World*. 2018;11(9):1262.
- [14]. Costa JM, Pautas C, Ernault P, Foulet F, Cordonnier C, Bretagne S. Real-time PCR for diagnosis and follow-up of *Toxoplasma* reactivation after allogeneic stem cell transplantation using fluorescence resonance energy transfer hybridization probes. *Journal of Clinical Microbiology*. 2000;38(8):2929-32.
- [15]. Ranucci D, Battisti E, Veronesi F, Diaferia M, Morganti G, Branciarri R, Ferroglio E, Valiani A, Chiesa F. Absence of viable *Toxoplasma gondii* in artisanal raw-milk ewe cheese derived from naturally infected animals. *Microorganisms*. 2020;8(1):143.



"This journal is following of Committee on Publication Ethics (COPE) and complies with the highest ethical standards in accordance with ethical laws".

Research Article



## Study of survival rate of *Toxoplasma gondii* tachyzoites during the Lighvan traditional cheese-making process with different concentrations in 24 hours

Rouzbeh Amjadi<sup>1\*</sup>, Naser Hajipour<sup>2</sup>, Mir Hasan Moosavy<sup>2</sup>, Ehsan Ahmadpour<sup>3</sup>, Seyyede Mozghan Moosavy Bideli<sup>1</sup>, Mostafa Faghani<sup>4</sup>

1. PhD Student in Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.
2. Department of Food and Aquatic Quality and Control, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz, Iran.
3. Department of Parasitology and Mycology, School of Medicine, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.
4. Department of Animal Sciences and Fisheries, Faculty of Agriculture and Food Industry, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran.



\*Corresponding author: [Rouzbeh.amjadi@yahoo.com](mailto:Rouzbeh.amjadi@yahoo.com)

Received: 2022/01/9

Accepted: 2022/02/9

### Abstract

*Toxoplasma gondii* is the causative agent of Toxoplasmosis, an obligate intracellular parasite of warm-blooded animals. This study aimed to investigate the survival rate of *T. gondii* tachyzoites in the traditional Lighvan cheese-making process with different concentrations in 24 hours. For this purpose, the first 2 liters of fresh sheep milk were prepared from milk collection centers and transferred to the Laboratory. The  $8 \times 10^7$  parasites of *T. gondii* strain RH and rennet were added to the milk. After stirring, make slices 2 in the cheese and separate containers containing different concentrations. NaCl containing 4, 8, 12, and 16% were placed in 24 hours with three repetitions. After the mentioned periods, each Lighvan cheese treated was completely homogenized with PBS for 5 minutes with 2000 rpm centrifugation. The resulting sediment was injected intraperitoneally with three repetitions to 3 rats. At the same time, some Lighvan cheese was fed orally to each of them. Survival rates of *T. gondii* tachyzoites were assessed by mouse mortality. The results showed that the survival rates of mice at concentrations of 12 and 16% for 24 hours were 100%. Also, at a concentration of 4% at 24 hours, the highest mortality rate of mice was observed, which indicates the survival of the parasite at this concentration and duration. This study showed that to inactivate possible *T. gondii* tachyzoites in contaminated milk used in the traditional Lighvan cheese industry, it is better to place the prepared cheese in 12% and 16% salt concentrations for more than 24 hours.

**Keywords:** *Toxoplasma gondii*. Tachyzoites. Milk. Cheese

**How to cite this article:** Amjadi R, Hajipour N, Moosavy MS, Ahmadpour E, Moosavy Bideli SM, Faghani M. Study of Survival rate of *Toxoplasma gondii* tachyzoites During the Lighvan Traditional Cheese-making process with different concentrations in 24 hours. Journal of Zoonosis. 2022; 1 (1):1-8.