

بررسی میزان آلودگی گوشت گاومیش های ذبح شده در کشتارگاه صنعتی ارومیه به انگل

سارکوسیستیس با استفاده از روش واکنش زنجیره ای پلیمرز

فراوانی مولکولی آلودگی گاومیش های کشتاری ارومیه به سارکوسیستیس

مهدیه ساداتی قلعه^۱، سهراب رسولی^{۲*}، محمدرضا اصغرزاده^۳

۱- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۳- استادیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات: S.rasoli@iaurmia.ac.ir

(تاریخ دریافت: // تاریخ پذیرش: //)

چکیده

گونه های سارکوسیستیس انگل های تک یاخته ای داخل سلولی هستند که دارای میزبان اصلی و واسط می باشند. شیوع عفونت با این انگل تک یاخته در حیوانات اهلی مانند گاو، گاومیش، گوسفند، بز و شتر در ایران بالا است. این مطالعه به منظور تعیین فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس در گاومیش های کشتاری شهرستان ارومیه با روش مولکولی (PCR) انجام گرفت. در مجموع ۱۰۰ رأس گاومیش کشتار شده در کشتارگاه شهرستان ارومیه در سال ۱۴۰۲ به طور تصادفی انتخاب شدند و از ماهیچه های مری، دیافراگم، قلب، زبان، جوشی و ماهیچه های بین دنده ای نمونه گیری انجام شد. نمونه ها به روش های ماکروسکوپی و مولکولی و با استفاده از ژن 18s rRNA مورد بررسی قرار گرفتند. در بررسی ماکروسکوپی، ۵ درصد از لاشه های کشتاری گاومیش ها، آلوده به کیست سارکوسیستیس بودند، در حالی که ژن 18s rRNA سارکوسیست در ۱۲ درصد از نمونه های بافتی گاومیش های کشتاری شهرستان ارومیه تشخیص داده شد. آنالیز آماری نشان داد، فراوانی آلودگی در گاومیش های مسن به طور معنی داری بیشتر از گوساله های جوان بوده ($p < 0/05$)، لیکن جنس تأثیر معنی داری در شیوع سارکوسیستیس در گاومیش های مورد مطالعه نداشت ($p > 0/05$). نتایج مطالعه حاضر نشان دهنده آلودگی بالا (۱۲ درصد) در جمعیت گاومیش های ارومیه است. با توجه به احتمال انتقال گونه گاوی سارکوسیستیس هومینیس (*S. hominis*) از طریق گوشت گاومیش، توصیه می گردد اقدامات پیشگیری نظیر بازرسی دقیق، حذف کامل یا موضعی لاشه ها در کشتارگاه، آگاهی بخشی در جهت جلوگیری از مصرف گوشت خام و کم پخته انجام گردد.

واژه های کلیدی: سارکوسیستیس، فراوانی مولکولی، گاومیش، ارومیه

مقدمه

سارکوسیستوزیس یک بیماری تک یاخته مشترک بین انسان و دام است که در سراسر جهان منتشر شده و در طیف گسترده ای از پستانداران، خزندگان و پرندگان مشاهده می شود. این بیماری توسط گونه های سارکوسیستیس (*Sarcocystis*) ایجاد می شود که یک انگل تک یاخته داخل سلولی (Dubey et al., 2015) کوکسیدین از جنس

سارکوسیستیس که متعلق به خانواده سارکوسیستیده‌آ (*Sarcocystidae*) از شاخه آپی‌کمپلکسا (*Apicomplexa*) است. عفونت‌ها با تشکیل سارکوسیستیس‌های متعدد، که اساساً کیسه‌های پر انگلی با اندازه‌های مختلف از میکرومتر تا چندین سانتی‌متر هستند، در ماهیچه‌ها یا بافت عصبی انواع زیادی از حیوانات مشخص می‌شوند (Fayer et al., 2015).

این انگل دارای یک چرخه حیات دو میزبان اجباری (شکار و شکارچی) است که به‌عنوان میزبان‌های واسطه و نهایی شناخته می‌شود. بخش غیرجنسی چرخه زندگی آن در میزبان واسطه که معمولاً حیوانی گیاه‌خوار است تکمیل می‌شود. در همان زمان، مراحل رشد جنسی آن در میزبان قطعی یا نهایی، یک حیوان گوشت‌خوار یا همه‌چیزخوار رخ می‌دهد (Lindsay and Dubey, 2020).

سارکوسیستیس در میزبان نهایی غیر بیماری‌زا است و چندین گونه نیز در میزبان واسطه غیر بیماری‌زا هستند. به‌طور کلی، گونه‌هایی که توسط میزبان قطعی سگ منتقل می‌شوند، بیماری‌زا هستند، درحالی‌که گونه‌هایی که توسط میزبان قطعی گربه‌سانان منتقل می‌شوند، غیر بیماری‌زا هستند (Lindsay and Dubey, 2020).

عفونت با تک‌یاخته سارکوسیستیس در میزبان واسطه می‌تواند منجر به عوارضی چون مرگ‌ومیر، سقط‌جنین، کاهش تولید گوشت و افزایش حذف لاشه به دلیل وجود ماکروسارکوست‌ها شود (Fayer, 2004; Tappe et al., 2015).

معمولاً سارکوسیستیس‌ها باعث ایجاد کیست‌های میکروسکوپی و یا ماکروسکوپی می‌شوند. سارکوسیستیس هیرسوتا (*S. hirsuta*) و سارکوسیستیس هومینیس (*S. hominis*) باعث کیست‌های ماکروسکوپی در گاو می‌شوند، درحالی‌که سارکوسیستیس فوزی فورمیس (*S. fusiformis*)، سارکوسیستیس لوآینی (*S. levini*)، سارکوسیستیس دوبئی (*S. dubeyi*)، سارکوسیستیس سینسینس (*S. sinensis*) و سارکوسیستیس بوفالوئیس (*S. buffalonis*) باعث ایجاد کیست‌های میکروسکوپی در گاو میش‌ها می‌شوند (Lindsay and Dubey, 2020).

انسان در صورت مصرف گوشت نیم پز یا خام گاو حاوی سارکوسیست‌های رسیده *S. hominis* یا خوردن گوشت خوک حاوی کیست سارکوسیستیس ساب‌هومینیس (*S. subhominis*) عفونت را کسب می‌کند و دچار سارکوسیستوزیس روده‌ای می‌شود. ایجاد علائمی مثل تهوع، شکم درد و اسهال بستگی به تعداد کیست خورده شده دارد. شیوع سارکوسیستوزیس روده‌ای در انسان معمولاً پایین است و بندرت بیماری با علامت ایجاد می‌شود (Fayer, 2004).

به‌منظور شناسایی آلودگی در میزبان‌های واسطه از روش‌های مختلفی نظیر معاینه لاشه با چشم غیرمسلح، روش تهیه گسترش تماسی، رنگ‌آمیزی بافت، روش هضمی، روش‌های مولکولی نظیر ایمونوفلورسنس و IFAT، الایزا، و سترن بلات، PCR و تست‌های حساس سرولوژیکی استفاده می‌شود (Dubey et al., 2015; Dubey and Rosenthal, 2023).

جمعیت گاو میش رودخانه‌ای (*Bubalus bubalis*) در ایران در سال ۲۰۰۷ حدود ۶۲۰۰۰۰ رأس ثبت شده است. گاو میش یک دام بومی در ایران محسوب می‌شود که حدود ۸۰ درصد از جمعیت این دام در شمال و شمال غرب ایران (استان‌های آذربایجان غربی، شرقی، اردبیل، گلستان، گیلان و مازندران)، ۱۸ درصد در جنوب و جنوب غرب (استان خوزستان) و ۲ درصد در دیگر استان‌ها پراکنده هستند و معمولاً برای اهداف تولید گوشت و شیر استفاده می‌شوند.

عفونت سارکوسیستیس در دام‌ها در سراسر جهان گسترده است و شیوع عفونت با این انگل تک‌یاخته در حیوانات اهلی مانند گاو، گوسفند، بز و شتر در ایران بالا بوده است (Hasanzadeh et al., 2022; Shakeri and Adhami, 2022; Hajimohammadi et al., 2022)

با این حال، تاکنون مطالعات بسیار کمی در مورد شیوع، الگوی پراکنش و نوع گونه‌های سارکوسیستیس در آلودگی گاومیش‌های آبی ایران انجام شده است، طی مطالعه‌ای در گاومیش‌های ذبح شده کشتارگاه ارومیه در بررسی ماکروسکوپی این تک‌یاخته از ۱۱ درصد نمونه‌های به‌دست‌آمده از گاومیش جدا شد. میزان آلودگی در روش اسمیر ۱۶ درصد و در روش هضم پتیک ۲۳ درصد بود. به موازات آن، ارزیابی مولکولی وجود عفونت سارکوسیستیس را در ۲۶ درصد از لاشه‌های گاومیش مورد مطالعه تایید کرد (Abdolrahmani et al., 2023).

در مطالعه‌ای در گاومیش‌های رودخانه‌ای در استان گیلان، پنج کیست ماکروسکوپی (۱/۲۵ درصد) با معاینه چشم غیرمسلح قابل مشاهده بوده، علاوه بر این، ۷۳/۲۵ درصد از طریق هضم بافت و مشاهده میکروسکوپی و ۹۴ درصد با PCR مثبت بودند. علاوه بر این، یافته‌های PCR RFLP و نمونه‌های توالی نوکلئوتیدی آلودگی گاومیش‌ها به سارکوسیستیس کروز (S. cruzi) را نشان داد. (Dameshghi et al., 2023)

در مطالعه‌ای میزان آلودگی به سارکوسیستیس ماکروسکوپی در گاومیش‌های رودخانه‌ای کشتار شده در خوزستان، ۳ درصد بوده، در حالی که در آلودگی میکروسکوپی سارکوسیستیس در ۸۳ درصد از گاومیش‌های مورد بررسی مشاهده شد. (Oryan et al., 2010)

نرخ عفونت بالا به گونه‌های سارکوسیستیس در گاومیش‌های رودخانه‌ای در کشورهای آسیایی از جمله هند (۸۷ درصد)، چین (۹۴ درصد) و تایلند (۱۰۰ درصد) گزارش شده است. همچنین میزان شیوع عفونت سارکوسیستیس در گاومیش رودخانه‌ای در ویتنام (۷۹ درصد)، عراق (۸۲/۹ درصد) و فیلیپین (۶۵ درصد) گزارش شده است. (Oryan et al., 2010)

به طور کلی تاکنون مطالعات مختلفی در مورد آلودگی نشخوارکنندگان به این انگل در ایران انجام یافته است که در اغلب موارد بر اساس مشاهده مستقیم کیست‌های ماکروسکوپی انگل در کشتارگاه و یا آزمایش میکروسکوپی بوده است که میزان آلودگی به‌دست‌آمده با این روش به مراتب کمتر از آلودگی واقعی نشخوارکنندگان به این انگل می‌باشد. لذا این مطالعه به منظور شناسایی مولکولی سارکوسیستیس در گاومیش‌های شهرستان ارومیه صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه مقطعی - توصیفی که در طول سال ۱۴۰۲ و به صورت نمونه‌گیری تصادفی بر روی ۱۰۰ لاشه گاومیش ذبح شده در کشتارگاه صنعتی شهرستان ارومیه انجام شد، شش ارگان شامل زبان، مری، قلب، دیافراگم، ران و بازو به روش بازرسی لاشه از نظر وجود کیست‌های ماکروسکوپی بررسی شدند و موارد آلوده از نظر جنس، شکل و اندازه کیست نیز مورد بررسی قرار گرفتند. در کشتارگاه کیست‌های ماکروسکوپی به طول حداکثر ۷ میلی‌متر انتخاب گردیده و اطراف هر کیست به طوری که کیست پاره نشود در ابعاد ۱×۱ برش داده شد. نمونه‌ها در میکروتیوب‌های ۱/۵ میلی‌لیتری مجزا

قرار داده شده و بعد از هر برش، ضمن ضدعفونی پنس و قیچی با اتانول ۷۰ درصد، دستکش پلاستیکی تعویض گردید. جهت شناسایی کیست‌های میکروسکوپی، در کشتارگاه از عضلات مختلف گاومیش‌های کشتار شده شامل زبان، عضلات جوشی و دیافراگم مجموعاً (۵۰-۲۵ گرم) نمونه‌گیری شده و نمونه‌های عضلانی هر گاومیش به‌طور مجزا بسته بندی گردیدند و به‌همراه نمونه‌های سارکوسیست ماکروسکوپی به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارومیه منتقل گردید و تا انجام مراحل بعدی در دمای یخچال نگهداری شد.

در آزمایشگاه با استفاده از دستکش‌های استریل و به‌کمک سرسوزن‌های استریل کیست‌های ماکروسکوپی به‌دقت از بافت جدا گشته و به میکروتیوب‌های جدید منتقل گردید. سپس کیست‌ها ۳ بار توسط نرمال سالین شستشو داده شدند و به هر یک مقدار کمی آب استریل اضافه شد و تا زمان استخراج DNA در منفی ۲۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند. جهت بررسی کیست‌های میکروسکوپی در آزمایشگاه ۲۵ گرم از نمونه‌های عضلانی به‌وسیله اسکالپل خرد شده و سپس توسط هاون چینی کاملاً هموژنیزه گردیدند. به‌منظور جلوگیری از آلودگی متقاطع، جهت خرد کردن نمونه‌ها از تیغ اسکالپل اختصاصی استفاده شد و پس از هر بار نمونه‌گیری، هاون چینی و چاقو با آب جوش و دترجنت شستشو داده شد.

به‌منظور استخراج DNA از بافت از کیت SinaPure شرکت Sinaclon استفاده شد و با استفاده از مراحل بیان‌شده در پروتکل کیت، استخراج DNA بر روی ۲۰ میلی‌گرم از عصاره گوشت هموژن شده انجام شد. برای تکثیر قطعه‌ای از ژن 18S rRNA انگل سارکوسیت از یک پرایمر فوروارد (Forward) و یک پرایمر ریورز (Reverse) بر اساس مقالات معتبر (Abdolrahmani et al., 2023) سنتز شده توسط شرکت سینا کلون استفاده شد (جدول ۱).

جدول (۱) - مشخصات پرایمر فوروارد و ریورز جهت آزمایش PCR

توالی پرایمر	پرایمر
5' GCACTTGATGAATTCTGGCA -3'	F-Sarco-1613
5' CACCACCCATAGAATCAAG -3'	R-Sarco

در سال‌های اخیر مطالعات مولکولی به‌منظور شناسایی گونه‌های سارکوسیستیس در حیوانات مختلف بر مبنای مطالعه بخشی از ژن RNA ریپوزومی بوده است. در این مطالعه نیز به‌منظور تشخیص گونه‌های ایجاد کننده ماکروکیست و میکروکیست در گاومیش، در مرحله اول قطعه‌ای از ژن 18S rRNA به طول حدوداً ۹۷۰^{bp} تکثیر گردید. این قطعه اختصاصی سارکوسیستیس بوده و در بین هر سه گونه مشترک است. این واکنش به‌طور مجزا روی DNA استخراج‌شده از تمامی نمونه‌ها (ماکروکیست و میکروکیست) انجام گردید.

برحسب تعداد نمونه بعد از علامت‌گذاری بر روی میکروتیوب‌های ۲۰۰ لانداپی برای هر نمونه PCR با حجم ۲۵ میکرولیتری (۱۲/۵ میکرولیتر مسترمیکس (Master mix)، ۳ میکرولیتر از DNA، ۱ میکرولیتر از پرایمر فوروارد، یک میکرولیتر از پرایمر ریورز و ۷/۵ میکرولیتر آب مقطر ۲ بار تقطیر شده استریل) اضافه شد. بعد از اضافه کردن موارد

فوق، تمامی محتویات میکرو تیوب توسط دستگاه اسپین (Spin) به خوبی مخلوط شدند. ضمناً تمامی مراحل فوق بر روی Cool plate انجام شد. سپس تمامی نمونه‌ها داخل دستگاه ترموسایکلر (BIO RAD, USA) با سیکل حرارتی و DNA مورد نظر تکثیر گردیدند (جدول ۲).

جدول (۲) - سیکل حرارتی PCR جهت تکثیر قطعاتی از ژن 18S rRNA سارکوسیت

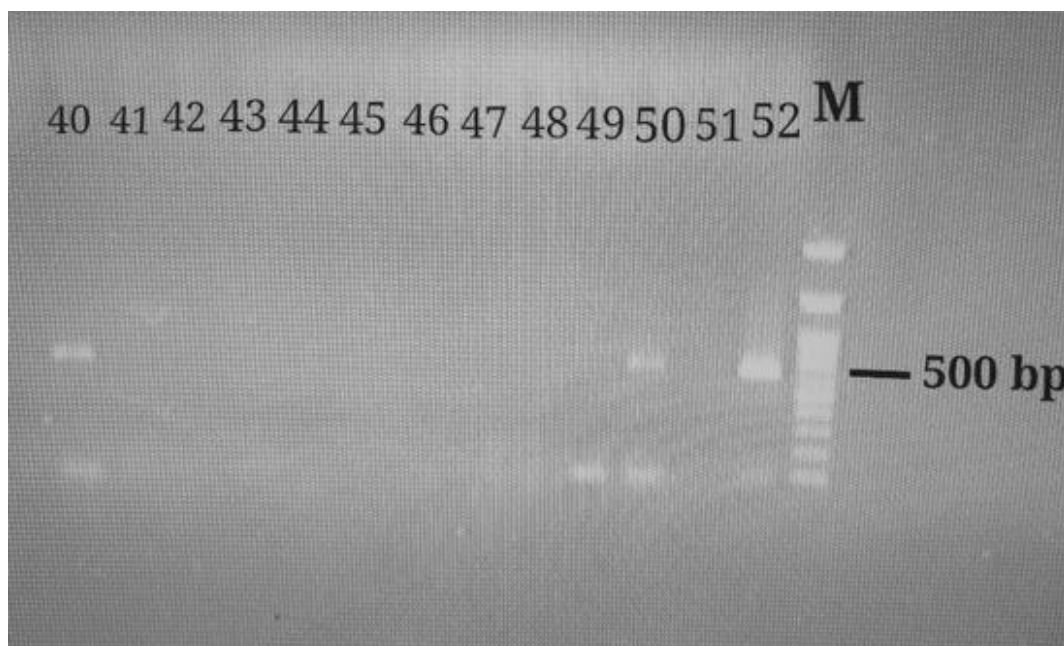
مرحله	دما (درجه سلسیوس)	زمان (دقیقه)	دوره
واسرشت اولیه	۹۵	۱۰	۱
واسرشت	۹۵	۱	۴۵
اتصال	۵۳	۱	۴۵
هماندسازی	۷۲	۱،۵	۴۵
تکثیر نهایی	۷۲	۱۰	۱

برای اطمینان از تکثیر قطعات مورد نظر، نمونه‌ها در ژل آگارز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند. سپس با استفاده از دستگاه ژل داک (UVP) و اشعه UV باندهای آن تکثیر داده شدند و در نهایت به کمک دوربین متصل به دستگاه ژل داک از ژل مورد نظر عکس برداری گردید.

تحلیل آماری داده‌های حاصله با استفاده از نرم افزار IBM SPSS ویرایش ۲۷ انجام شد. با استفاده از جداول توافقی دوطرفه و آزمون مجذورکای و آزمون دقیق فیشر اختلاف فراوانی آلودگی به سارکوسیتیس بر حسب فاکتورهای دموگرافیک (سن و جنس) بررسی شد. همچنین جهت بررسی توافق دو روش PCR و مشاهده ماکروسکوپی در تشخیص سارکوسیتوزیس در گاومیش‌های مورد مطالعه از ضریب توافق کاپا کوهن استفاده شد.

یافته‌ها

بعد از انجام PCR بر روی تمامی نمونه‌های گوشت، نتایج به دست آمده بیانگر تکثیر قطعه ژن 18S rRNA انگل سارکوسیت در ۱۲ نمونه و شیوع ۱۲ درصدی آلودگی به سارکوسیتیس در نمونه‌های گوشت گاومیش‌های کشتاری در کشتارگاه صنعتی شهرستان ارومیه بود (شکل ۱). لیکن در مشاهده ماکروسکوپی، ۵ لاشه (۵ درصد) گاومیش‌های کشتاری مورد مطالعه، آلوده به سارکوسیتیس بودند و در کل مجموع نتایج حاصل از آزمایش PCR و مشاهده ماکروسکوپی، آلودگی به سارکوسیتیس در گاومیش‌های کشتاری مورد مطالعه ۱۲ درصد (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد ۱۸/۳-۵/۷ درصد) تشخیص داده شد.



شکل (۱) - محصول PCR بر روی ژل الکتروفورز برای ژن 18S rRNA انگل سارکوسیت در گاومیش های کشتاری مورد مطالعه شهرستان ارومیه

نتایج آماری با آزمون مربع کای نشان می دهد اختلاف معنی داری در فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس بین گاومیش های نر و ماده وجود ندارد ($X^2_{(1)}=0/45$ و $p>0/05$) (جدول ۳).

جدول (۳) - فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس بر حسب جنس گاومیش های کشتاری مورد مطالعه شهرستان ارومیه

جنس	دارای آلودگی	فاقد آلودگی
نر	۶ (% ۱۰/۲)	۵۳ (% ۸۹/۸)
ماده	۶ (% ۱۴/۶)	۳۵ (% ۸۵/۴)
معنی داری	۰/۴۹۹	

لیکن فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس در گاومیش های سه سال و بالاتر بطور معنی داری بیشتر از گاومیش های کمتر از سه سال می باشد ($X^2=6/485$ و $p<0/05$) (جدول ۴).

جدول (۴) - فراوانی آلودگی به سارکوسیستیس بر حسب سن گاومیش های کشتاری مورد مطالعه شهرستان ارومیه

سن	دارای آلودگی	فاقد آلودگی
کمتر از ۳ سال	۴ (% ۶/۱) ^a	۶۲ (% ۹۳/۹)
سه سال و بیشتر از ۳ سال	۸ (% ۲۳/۵) ^b	۲۶ (% ۷۶/۵)
معنی داری	۰/۰۲۰	

* حروف نامشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار در سطح $p<0.05$

طبق نتایج آزمون ضریب کاپا، اندازه توافق بین دو روش PCR و مشاهده ماکروسکوپی، ۰/۴۳۰ بود. به عبارتی بر حسب ضریب پایایی کاپای کوهن محاسبه شده، دو روش تشخیصی PCR و مشاهده ماکروسکوپی دارای اندازه توافق و هم نظری متوسط و معنی داری با همدیگر در تشخیص سارکوسیستیس هستند.

در بررسی ماکروسکوپی وجود کیست در دیافراگم ۲ درصد، مری ۲ درصد و زبان ۱ درصد گاو میش‌ها و در بررسی مولکولی، آلودگی به سارکوسیتیس در دیافراگم ۲ درصد، مری ۵ درصد، عضلات بین دنده‌ای ۳ درصد و زبان ۱ درصد تشخیص داده شدند.

بحث و نتیجه‌گیری

عفونت سارکوسیتیس به صورت کیسه‌های پر از انگلی با اندازه‌های مختلف از میکرومتر تا چندین سانتی‌متر در ماهیچه‌ها و یا بافت عصبی حیوانات مختلف مشاهده می‌گردد. سارکوسیتیس‌ها انگل‌های داخل سلولی اجباری با یک چرخه زندگی کوکسیدی معمولی، متشکل از مروگونی، گامتوگونی و اسپوروژنی هستند. چرخه زندگی شامل یک میزبان واسط و یک میزبان نهایی که معمولاً یک گیاه‌خوار و یک گوشت‌خوار است. اگرچه عفونت با گونه‌های سارکوسیتیس و تشخیص بیماری بالینی هم‌زمان در میزبان واسط دشوار است و تنها پس از مرگ به‌عنوان یک یافته کالبدگشایی تشخیص داده می‌شود، این عفونت در میزبان واسط می‌تواند منجر به عوارضی چون مرگ‌ومیر، سقط‌جنین، کاهش تولید گوشت و شیر و افزایش حذف لاشه به دلیل وجود ماکروسارکوست‌ها شود. (Fayer, 2004; Tappe et al., 2015)

طبق نتایج مطالعه حاضر فراوانی آلودگی به سارکوسیتیس در گاو میش‌های کشتاری شهرستان ارومیه در مشاهده به روش ماکروسکوپی ۵ درصد بوده که کمتر از نتایج ارائه شده در گاو میش‌های ارومیه (۱۱ درصد)، گاو میش‌های قاهره مصر (۴۴/۹ درصد)، گاو میش‌های استان منوفی، مصر (۷۴ درصد)، استان شارکیه مصر (۴۱/۵ درصد) و بیشتر از گاو میش‌های گیلان ۱/۲۵ درصد، گاو میش‌های رودخانه‌ای کشتار شده در خوزستان (۳ درصد) بوده است (Abdolrahmani et al., 2023; Ibrahim et al., 2018; Eman et al., 2019; Ras, 2021; Dameshghi et al., 2023; Oryan et al., 2010).

همچنین میزان شیوع سارکوسیتیس با استفاده از آزمایش PCR در گاو میش‌های تحقیق حاضر ۱۲ درصد گزارش گردید که کمتر از نتایج ارائه شده در گاو میش‌های ارومیه (۲۶ درصد)، گاو میش‌های گیلان (۹۴ درصد)، گاو میش‌های رودخانه ای ذبح شده در مصر (۲۸ درصد)، گاو میش‌های رودخانه‌ای آندراپرادش هندوستان (۶۶/۴ درصد) بود. با وجود این میزان شیوع این انگل در تحسّق حاضر بیش از شیوع آن در گاو میش‌های عراق (۲/۹ درصد) بود (Abdolrahmani et al., 2023; Dameshghi et al., 2023; Khalifa et al., 2008; Dakhil et al., 2017).

مغایرت‌های موجود در این مطالعات می‌تواند به علت تفاوت در موقعیت جغرافیایی، شرایط آب و هوایی، نگهداری سگ و گربه در محل‌های پرورش گاو میش، عادات غذایی، روش‌های مختلف تشخیص سارکوسیتیس همچون ماکروسکوپی، هضم، داب اسمیر و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز باشد.

واکوی آماری نتایج تحقیق حاضر نشان داد، فراوانی آلودگی به سارکوسیتیس بر حسب نتایج حاصل از آزمایش PCR در گاو میش‌های سه سال و بالاتر بطور معنی‌داری بیشتر از گاو میش‌های کمتر از سه سال می‌باشد که با نتایج تحقیقات در گاو میش‌های ارومیه، قاهره مصر، استان منوفی مصر، گاو میش‌های رودخانه‌ای عراقی مطابقت داشته، لیکن با نتایج مطالعات در گاو میش‌های آبی کشتار شده در خوزستان و گاو میش‌های رودخانه‌ای آندراپرادش هندوستان که

عنوان داشته‌اند تفاوت معنی‌داری در فراوانی آلودگی بین گاو‌میش‌های جوان و مسن وجود نداشت، مغایرت دارد (Abdolrahmani *et al.*, 2023; M Ibrahim *et al.*, 2018; Eman *et al.*, 2019; Dakhil *et al.*, 2017; Oryan *et al.*, 2010; JyothiSree *et al.*, 2017).

در مطالعه حاضر بین فراوانی موارد مثبت آلودگی به سارکوسیستیس بر حسب نتایج حاصل از مشاهده ماکروسکوپی و آزمایش PCR با جنس گاو‌میش‌های کشتاری مورد مطالعه رابطه معنی‌داری وجود نداشت، که با نتایج مطالعات صورت گرفته در گاو‌میش‌های رودخانه‌ای اهواز و گاو‌میش‌های آبی کشتار شده در خوزستان مطابقت داشته، لیکن با نتایج تحقیقات در گاو‌میش‌های ارومیه، قاهره مصر، استان منوفی مصر مغایرت نشان داد (Ghorbanpoor *et al.*, 2007; Oryan *et al.*, 2010; Abdolrahmani *et al.*, 2023; M Ibrahim *et al.*, 2018; Eman *et al.*, 2019).

با توجه به نتایج مطالعه حاضر آلودگی گاو‌میش‌های کشتاری شهرستان ارومیه به سارکوسیستیس نسبتاً بالا بوده، لذا با توجه به میزان آلودگی سارکوسیستیس در نشخوارکنندگان منطقه، از نظر بهداشت مواد غذایی و بازرسی گوشت می‌بایست دقت لازم برای تشخیص لاشه‌ها هم به صورت ماکروسکوپی و در صورت امکان میکروسکوپی انجام گیرد. همچنین نیاز به مطالعات مولکولی انگل‌شناسی و استفاده از روش‌های کنترل و پیشگیری مناسب جهت کاهش فراوانی و شیوع بیماری در منطقه ضروری می‌باشد.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی برای اعلام ندارند.

منابع

- Abdolrahmani, S., Malekifard, F., Esmailnejad, B. and Tavassoli, M. (2023). Detection of sarcocystis infection by molecular methods using COX 1 and 18srRNA genes in cattle and buffaloes of Urmia. Iranian Journal of Animal Science, 54(2): 187-202.
- Dakhil, H. G., Abdallah, B. H. and Abdallah, F. A. (2017). Molecular identification of Sarcocystis fusiformis and S. moulei infecting water buffaloes (Bubalus bubalis) in southern Iraq. World Journal of Pharmaceutical Research, 6(3): 215-229.
- Dameshghi, F., Shirali, S., Shayan, P. and Shemshadi, B. (2023). RFLP Analysis of Fragments of the 18S rRNA and Cox1 Genes to Identify Sarcocystis cruzi in Water Buffalo (Bubalus bubalis) In Guilan Province, North of Iran. Iranian Journal of Parasitology, 18(4): 464-473.
- Dubey, J.P., Calero-Bernal, R., Rosenthal, B.M., Speer, C.A., and Fayer, R. (2015). Sarcocystosis of Animals and Humans . 2nd Edition, CRC Press, pp.195-216
- Dubey, J. and Rosenthal, B. (2023). Bovine sarcocystosis: Sarcocystis species, diagnosis, prevalence, economic and public health considerations, and association of Sarcocystis species with eosinophilic myositis in cattle. International Journal for Parasitology, 53(9): 463-475.
- Eman, E., Somia, A. and Emad, B. (2019). Detection of humoral and cellular immune responses in buffaloes naturally infected with sarcocystosis with risk factor assessment. Acta Veterinaria (Beograd), 69(3): 275-289.
- Fayer, R. (2004). Sarcocystis spp. in human infections. Clinical microbiology reviews, 17(4): 894-902.

- Fayer, R., Esposito, D. H. and Dubey, J. P. (2015). Human infections with *Sarcocystis* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 28(2): 295-311.
- Ghorbanpoor, M., Hamidinejat, H., Nabavi, L., Khadjeh, G. H. and Jalali, M. R. (2007). Evaluation of an ELISA for the diagnosis of sarcocystosis in water buffaloes. *Bulletin-Veterinary Institute in Pulawy*, 51(2): 229.
- Hajimohammadi, B., Eslami, G., Manafi, L., Athari, S. and Boozhmehrani, M. (2022). *Sarcocystis sinensis* in slaughtered cattle from Central of Iran. *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 73(2): 4147-4152.
- Hasanzadeh, B., Malekifard, F. and Yakhchali, M. (2022). Study on species of *Sarcocystis* infection in slaughtered cattle and sheep in Saqez slaughterhouse, Iran. *Veterinary Research & Biological Products*, 35(1): 107-115.
- Ibrahim, H. M., El Sabagh, R., Wahba, A.A and Abd El Rahman, E. S. A. (2018). The Incidence of *Sarcocystis* in Slaughtered Food Animals. *Benha Veterinary Medical Journal*, 35(1): 106-122.
- Jyothisree, C., Venu, R., Samatha, V., Malakondaiah, P. and Rayulu, V. (2017). Prevalence and microscopic studies of *Sarcocystis* infection in naturally infected water buffaloes (*Bubalus bubalis*) of Andhra Pradesh. *Journal of Parasitic Diseases*, 41: 476-482.
- Khalifa, R., El-Nadi, N., Sayed, F. G. and Omran, E. K. (2008). Comparative morphological studies on three *Sarcocystis* species in Sohag, Egypt. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 38(2): 599-608.
- Lindsay, D. S. and Dubey, J. P. (2020). Neosporosis, toxoplasmosis, and sarcocystosis in ruminants: an update. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, 36(1): 205-222.
- Oryan, A., Ahmadi, N. and Mousavi, S. M. M. (2010). Prevalence, biology, and distribution pattern of *Sarcocystis* infection in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. *Tropical Animal Health and Production*, 42: 1513-1518.
- Ras, R. A. (2021). Prevalence and molecular identification of *Sarcocystis* spp. infecting water buffaloes (*Bubalus bubalus*) in Sharkia Province, Egypt. *Egyptian Veterinary Medical Society of Parasitology Journal*, 17(1): 1-19.
- Shakeri, S. and Adhami, G. (2022). Molecular Survey on *Sarcocystis* Species in Slaughtered Sheep in Hamedan, Iran. *Journal of Veterinary Physiology and Pathology*, 1(3): 56-60.
- Tappe, D., Slesak, G., Pérez-Girón, J. V., Schäfer, J., Langeheinecke, A., Just-Nübling, G., Muñoz-Fontela, C. and Püllmann, K. (2015). Human invasive muscular *Sarcocystosis* Induces Th2 cytokine polarization and biphasic cytokine changes, based on an investigation among travelers returning from Tioman Island, Malaysia. *Clinical and Vaccine Immunology*, 22(6): 674-677.

Investigation of buffalo meat contamination with *Sarcocystis* parasite in Urmia industrial slaughterhouse using the PCR method

Molecular prevalence of *Sarcocystis* infection in Urmia slaughter buffaloes

Sadati Qaleh, M.¹, Rasouli, S.^{2*}, Asgharzadeh, MR.³

1. Undergraduate Student in Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

2. Associate Professor, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Pathobiology, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

3. Assistant Professor, Department of Biology, Faculty of Basic Science, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

*Corresponding author: S.rasoli@iaurmia.ac.ir

Abstract

Sarcocystis species are cyst-forming intracellular protozoan parasites with an obligate two-host life cycle between predators as main hosts and prey animals as intermediate hosts. The prevalence of infection with this protozoan parasite in domestic animals such as cows, buffaloes, sheep, goats, and camels has been high in Iran. This study was conducted to investigate the frequency of *Sarcocystis* infection in slaughter buffaloes of Urmia city using the molecular method (PCR). A total of 100 buffalo heads slaughtered in the slaughterhouse of Urmia city in 1402 were randomly selected, and samples were taken from the muscles of the esophagus, diaphragm, heart, tongue, jaw, and intercostal muscles. The samples were analyzed by macroscopic and molecular methods using 18s rRNA gene. In the macroscopic examination, 5% of the slaughtered buffalo carcasses were infected with *Sarcocystis* cysts, while the 18S rRNA gene of *Sarcocystis* was detected in 12% of the tissue samples from slaughtered buffaloes in Urmia city. Statistical analysis showed that the prevalence of infection in old buffaloes was significantly higher than that of young calves ($p < 0.05$), but gender had no significant effect on the prevalence of *Sarcocystis* in the studied buffaloes ($p > 0.05$). The results of the present study indicate a relatively high level of contamination, at 12%, in the population of Urmia buffaloes. Considering the possibility of transmission of *Sarcocystis hominis* species of cattle through buffalo meat, which can cause gastrointestinal complications in humans, taking preventive measures such as careful inspection of carcasses and complete or local removal of carcasses in the slaughterhouse to raise awareness in the direction of avoiding the consumption of raw and undercooked meat is recommended

Conflict of interest: None declared.

Keywords: *Sarcocystis*, Molecular prevalence, 18s rRNA, Buffalo, Urmia