Journal of Food Hygiene, Vol. 10, No. 40, Winter 2021

"Research article" **DOI: 10.30495/JFH.2021.1919362.1303**

A survey on *Sarcocystis* contamination in slaughtered cattle by PCR method in Urmia abattoir and comparing with macroscopic and microscopic methods

Ghasemi Kahrizeh, F.[1], Motallebi Moghanjoghi, A.A.[2*], Rasouli, S.[3]

1. Graduated in Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
2. Professor, Food Hygiene Department, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran
3. Associate Professor, Department of Parasitology, Faculty of Veterinary, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

[*]Corresponding author: abbasalimotallebi@gmail.com

(Received: 2020/12/31 Accepted: 2021/3/28)

Abstract

Sarcocystis is one of the most important protozoa belonging to the phylum *Apicomplexa*, which is common among warm-blooded animals in all parts of the world, some of which are of zoonotic importance. *Sarcocystis cruzi*, *S. bovifelis*, and *S. hominis* are recognized in cattle. Due to the high occurrence of Sarcocystis in cow carcasses slaughtered in Iran, this study was conducted to investigate the contamination of Sarcocystis in beef slaughtered in Urmia industrial slaughterhouse using PCR. Also, the efficiency of the PCR method was compared with macroscopic and digestive (microscopic) methods. For this, a total of 80 esophageal and tongue samples, obtained from 40 carcasses was assayed. The Sarcocystis DNA was extracted according to the instructions of the Qiagen kit and the 18sRNA gene fragment was used using specific primers. The DNA product was digested with restriction enzymes, and their fracture pattern was evaluated. Out of 40 carcasses, in macroscopic and microscopic methods 2.5% and 72.5% were found positive for Sarcocystis, respectively. Besides, 36 cows were reported positive in terms of PCR contamination, which is 90% of the total samples. The results showed that the efficiency of PCR in detecting Sarcocystis is higher than the other two methods (P<0.05). Moreover, it was revealed that the tongue contamination in both male and female cattle carcass was higher (P< 0.05) than the level of esophageal contamination. It was concluded that for efficient detection of Sarcocystis in cattle carcass, PCR can be applied along with the conventional methods.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Sarcocystis, Macroscopic Method, Microscopic Method, PCR, Cattle, Urmia

«مقاله پژوهشی» DOI: 10.30495/JFH.2021.1919362.1303

بررسی میزان آلودگی گوشت گاوهای ذبح‌شده در کشتارگاه صنعتی ارومیه به انگل سارکوسیست با روش PCR و مقایسه با دو روش ماکروسکوپی و هضمی

فاطمه قاسمی کهریزه[۱]، عباسعلی مطلبی مغانجوقی[۲*]، سهراب رسولی[۳]

۱- دانش‌آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۲- استاد گروه بهداشت مواد غذایی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران
۳- دانشیار گروه انگل‌شناسی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران
*نویسنده مسئول مکاتبات: abbasalimotallebi@gmail.com

(دریافت مقاله:۱۰/۱۱/ ۹۹ پذیرش مقاله: ۱۴۰۰/۱/۱۶)

چکیده

سارکوسیستیس (*Sarcocystis* sp.) یکی از مهم‌ترین تک‌یاخته‌های متعلق به شاخه Apicomplexa می‌باشد که در بین حیوانات خونگرم در کلیه نقاط جهان شایع بوده و دارای اهمیت زئونوتیک می‌باشد. سه گونه *Sarcocystis bovicanis*، *S. bovifelis* و *S. hominis* در گاو شناسایی شده است. با توجه به بالا بودن میزان آلودگی لاشه‌های گاوهای کشتاری در ایران به سارکوسیست، میزان آلودگی گوشت گاوهای ذبح‌شده در کشتارگاه صنعتی ارومیه به این انگل با استفاده از روش مولکولی PCR بررسی شد و کارایی این روش با دو روش ماکروسکوپی و هضمی (میکروسکوپی) در تشخیص میزان آلودگی به این انگل مقایسه شد. در مجموع ۸۰ نمونه از زبان و مری اخذ شده از ۴۰ لاشه مورد مطالعه قرار گرفت. برای بررسی مولکولی، DNA انگل با دستورالعمل کیت استخراج شد و قطعه ژن 18sRNA با استفاده از پرایمرهای اختصاصی تکثیر شد و در ادامه با آنزیم‌های محدودکننده محصول PCR هضم شد و الگوی شکسته شدن آن‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که از مجموع ۴۰ رأس گاو نمونه‌برداری شده، در روش‌های ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک میزان آلودگی به‌ترتیب ۲/۵ و ۷۲/۵ درصد بود. هم‌چنین تعداد ۳۶ رأس گاو ازلحاظ آلودگی با روش PCR مثبت گزارش گردید که ۹۰ درصد کل گاوها را شامل می‌شود. نتایج تحقیق حاضر نشان داد قدرت تشخیص روش مولکولی بیشتر از دو روش دیگر می‌باشد و میزان آلودگی بافت زبان در هر دو جنسیت نر و ماده بیشتر ($P < ۰/۰۵$) از میزان آلودگی بافت مری است. می‌توان به این جمع‌بندی رسید که برای ردیابی موثر سارکوسیست، امکان استفاده از روش PCR به موازات روش‌های متداول وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: سارکوسیست، روش ماکروسکوپیک، روش میکروسکوپیک، PCR، گاو، ارومیه

مقدمه

سارکوسیستیس برای اولین بار توسط Meisher در سال ۱۸۳٤ در موش خانگی گزارش شد (Mirzaei *et al*., 2012). سارکوسیستیس در بدن میزبان واسط به‌صورت کیست‌های عضلانی ظاهر می‌شود. اندازه و شکل کیست در ارتباط با گونه انگل متفاوت است. برخی از کیست‌ها میکروسکوپی و برخی ماکروسکوپی و به اشکال رشته‌ای یا شبیه دانه برنج یا کروی می‌باشند (Dalimi *et al*., 2008). سارکوسیستیس یک انگل تک‌یاخته‌ای درون‌سلولی از شاخه *Epicomplexa* می‌باشد و انتشار جهانی دارد و به‌وسیله گونه‌های متنوعی از سارکوسیست‌ها ایجاد می‌شود (Dubey *et al*., 1989). در حال حاضر سارکوسیستیس یکی از شایع‌ترین انگل‌ها در چهارپایان اهلی است. آلودگی به انگل سارکوسیست در برخی از میزبانان مانند گاو، گوسفند و بز بسیار شدید می‌باشد. برخی از گونه‌های سارکوسیستیس قادر به ایجاد بیماری و در نتیجه باعث کاهش وزن و بی‌اشتهایی، لنگش، فلج، تب، ضعف عضلانی، کاهش تولید شیر، سقط‌جنین و گاهی مرگ در میزبانان واسط همچون گاو، گوسفند، خوک و بز می‌شوند (Dalimi *et al*., 2007; Parandian *et al*., 2015; Berenji *et al*., 2019).

سه گونه از این انگل در گاو شناسایی شده است که گونه *Sarcocystis bovifelis* در عضلات گاو ایجاد کیست‌های ماکروسکوپی می‌نمایند و میزبان نهایی آن گربه است. گونه *S. bovicanis* در عضلات گاو ایجاد کیست میکروسکوپی می‌نماید که میزبان نهایی آن سگ و سگ‌سانان است. گونه *S. hominis* در عضلات گاو کیست میکروسیت ایجاد کرده و میزبان نهایی آن انسان و پریمات‌ها می‌باشد (Fayer, 2004; Fayer *et al*., 2015).

آلودگی گاو با خوردن مواد غذایی آلوده به اسپروسیست‌ها آغاز می‌شود، اسپروزوئیت‌ها در دستگاه گوارش گاو آزاد شده و به دیواره روده حمله می‌کنند و به درون مویرگ‌ها وارد می‌شوند و در سلول‌های آندوتلیوم عروق دو مرحله شیزوگونی را طی می‌کنند. اولین مرحله بیشتر در عروق مزانتر و مرحله دوم شیزوگونی در عروق سرتاسر بدن صورت می‌گیرد. سومین مرحله غیرجنسی در لنفوسیت‌های در حال گردش رخ می‌دهد و مروزوئیت‌های ایجادشده به سلول عضلانی رفته و در آنجا تبدیل به کیست می‌شوند.

بر اساس نتایج حاصل از بررسی‌های انجام شده در ایران و خارج از ایران، صنعت گوشت سالانه میلیون‌ها دلار خسارت به‌دلیل معدوم کردن لاشه‌های آلوده به سارکوسیستیس متحمل می‌شود. برخی از گونه‌های سارکوسیستیس در انسان موجب اختلالات گوارشی از جمله استفراغ، اسهال و تهوع می‌شود (Tenter, 1995; Parandian *et al*., 2015). از طرفی برخی کیست‌های انگل سارکوسیست در انسان توکسینی بنام سارکوسیستین تولید می‌کند که موجب مسمومیت در انسان می‌شود (Bonyadin and Meshki, 2006).

طبق بررسی‌های میدانی انجام شده، با توجه به این‌که در کشتارگاه‌ها معمولاً فقط کیست‌های ماکروسکوپیک تشخیص داده می‌شوند و کیست‌های میکروسکوپی از دید بازرسان گوشت مخفی می‌ماند، لذا آمار ارائه شده توسط بازرسان کشتارگاهی به‌مراتب خیلی کمتر از مقدار واقعی می‌باشد. در ایران و دنیا چندین تحقیق به روش سرولوژیک انجام‌گرفته است. برای مثال در

تحقیقی که روی ۵۲۱ رأس گاو انجام شد، ٤١/٥ درصد آلودگی به روش PCR تشخیص داده شد (Yang *et al.*, 2018). در تحقیق دیگر در رومانی به روش میکروسکوپی ۱۷/۹ درصد آلودگی به سارکوسیست تشخیص دادند (Imre *et al.*, 2019).

در یک تحقیق به‌منظور تشخیص *S. hominis* در گوشت گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اصفهان از روش PCR استفاده شد و میزان آلودگی ٤٨ درصد گزارش گردید (Rahimi *et al*, 2012). همچنین در یک تحقیق دیگر، میزان آلودگی گوسفندان شهرستان خوی به انگل سارکوسیست با استفاده از روش هضمی صورت گرفت، میزان آلودگی (٤٢/٦٥) درصد گزارش شد (Mandaalee *et al*, 2020).

برای تشخیص گونه *S. fasiformis* در گاومیش‌ها در استان خوزستان از روش PCR استفاده شد (Oryan, 2010). در یک بررسی با استفاده از روش PCR میزان آلودگی گوشت گاو به گونه *S. hominis* در بلژیک ٤/٩٧ درصد تعیین گردید و با توجه به این‌که مصرف گوشت گاو چرخ‌کرده در بلژیک و کشورهای اروپایی دیگر متداول است، این مسئله به‌عنوان یک خطر برای سلامت و بهداشت عمومی بلژیک کمتر مورد ارزیابی قرار گرفته است (Vangeel *et al.*, 2007). در بررسی دیگری شناسایی گونه‌های *S. gigantea* در بین جمعیت گوسفندان با استفاده از روش PCR در استان آذربایجان غربی صورت گرفته (Yakhchali, 2010).

در چین نیز شیوع بالای سارکوسیست گاوی بررسی‌شده است، در این تحقیق با نمونه‌برداری از دیافراگم گاوها در استان هنان چین (از نواحی مرکزی چین) با مطالعه بافت‌شناسی و هضم پپسین و تشخیص مولکولی اقدام به تشخیص انگل شد. میزان آلودگی گاوها به انگل ٥/٤١ درصد بود (Yang *et al.*, 2018). با این وجود مطالعات فراوانی در خصوص میزان شیوع سارکوسیستوزیس در گاو، گوسفند، گاومیش و بز و شتر در ایران و بسیاری از کشورها انجام شده است، با این‌حال مطالعه حاضر به‌منظور تعیین میزان آلودگی گاوهای شهرستان ارومیه به انگل سارکوسیست با استفاده از تکنیک مولکولی به کمک PCR، به‌عنوان یک روش دقیق و جدید و مقایسه میزان کارایی با دو روش ماکروسکوپی و هضمی در تشخیص میزان آلودگی به این انگل انجام گرفت.

مواد و روش کار

- روش نمونه‌گیری

در مهرماه سال ۱۳۹۹ به کشتارگاه صنعتی ارومیه مراجعه شد و از چهل رأس گاو نمونه‌های مربوط به بافت‌های مری و زبان جمع‌آوری گردید. اطلاعات مربوط به دام از قبیل سن، جنسیت دام و بافت جمع‌آوری‌شده در فرم اطلاعاتی ثبت شد. سپس به‌منظور بررسی حضور انگل سارکوسیست به سه روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی و PCR در اسرع وقت به آزمایشگاه منتقل شد.

- روش ماکروسکوپی

در آزمایشگاه بافت‌های زبان و مری از لحاظ وجود کیست‌های ماکروسکوپیک بررسی گردید. همچنین سطح خارجی نمونه‌ها و سپس عمق هر نمونه با زدن برش ورقه‌ای از نظر وجود کیست‌های ماکروسکوپی بررسی شد. سپس سارکوسیست‌ها ابتدا یک‌بار با نرمال

سالین استریل و دو بار با بافر (10m MTris - HCl, 1mM EDTA; pH= 8) TE شستشو داده شدند.

- روش هضم بافتی یا میکروسکوپی

حدود ۵۰ گرم از بافت موردنظر زبان و مری به‌طور جداگانه با چرخ‌گوشت له‌شده و در ۱۰۰ میلی‌لیتر محلول هضمی قرار داده شد. محلول هضمی حاوی ۱۰۰ سی‌سی فسفات بافر(PH= ۷/۲) و ۱۰ سی‌سی اسیدکلریدریک و ۲/۵ گرم پپسین بود (Dubey 1989a). سپس ظرف حاوی نمونه به مدت یک ساعت در گرمخانه ۴۰ درجه سلسیوس گذاشته و محلول از صافی عبور داده شد. محلول صاف‌شده با دور ۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و از رسوب گسترش تهیه شد (Hamidinejat *et al*, 2010). و با رنگ گیمسا رنگ‌آمیزی شد. گسترش رنگ‌آمیزی شده با میکروسکوپ نوری با بزرگ‌نمایی ۴۰ یا ۱۰۰ از نظر وجود زوئیت سارکوسیست بررسی گردید (Dubey *et al*., 1989b).

استخراج DNA ژنومی و انجام PCR

استخراج DNA بافت‌ها با کمک کیت استخراج DNA (کیاژن، آلمان) انجام گرفت. DNA ژنومی به‌ترتیب با اضافه کردن lysis buffer، پروتئیناز K، کلروفرم، Buffer bunding، اتانول، ۲ مرتبه بافر شستشو و در مرحله آخر elution buffer که در دمای ۷۰ درجه سلسیوس نگهداری شده بود استخراج شد و جهت اطمینان از کیفیت DNA استخراج‌شده از ژل آگارز ۱ درصد و رنگ‌آمیزی توسط اتیدیوم بروماید استفاده شد.

به‌منظور انجام PCR پرایمر اختصاصی (سیناکلون، ایران) انگل سارکوسیست با توالی زیر انجام گردید:

Sar-F5'- GCACTTGATGAATTCTGGCA-3'
Sar-R5'- CACCACCCATAGAATCAAG-3'

طول بهینه بازها در پرایمر حدود ۲۰ باز می‌باشد. دمای ذوب مطلوب ۲۵/۵۵-۵۱/۵٤ درجه سلسیوس و نسبت GC، ٤٦ درصد بوده است.

مواد نهایی لازم برای واکنش PCR برای هر نمونه: پرایمر فوروارد، پرایمر ریوارس، DNA الگو، DNA پلی‌مراز Taq، $MgCl_2$ و dNTP Mix بود. شرایط PCR شامل: یک سیکل ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه؛ ۳۰ سیکل ۹٤ درجه سلسیوس به مدت ٤۵ ثانیه، ۵۵ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه، ۷۲ درجه سلسیوس به مدت ۱ دقیقه؛ یک سیکل مرحله نهایی به مدت ۷ دقیقه و به میزان ۷۲ درجه سلسیوس.

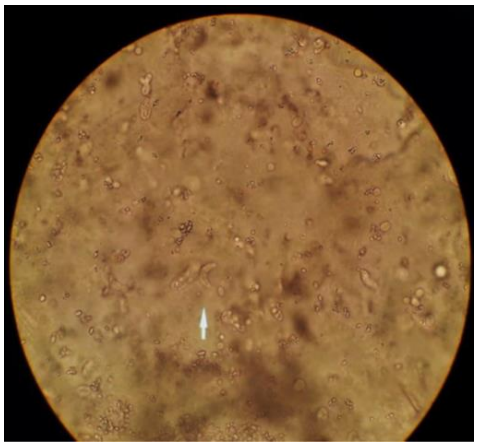
اندازه محصول PCR، ۵۰۰ bp بود که با استفاده از پودر آگارز، محلول بافر TBE10x، DNA Loading، DNA Ladder 100-1000bp صورت گرفت. در ابتدا محلول TBE10x با موادی مانند EDTA، آب مقطر، Buric Acid و Tris Base به‌دست آمد. در مرحله آخر محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گراید توسط اتیدیوم برمی‌آید رنگ‌آمیزی شد و با استفاده از اشعه UV مورد ارزیابی قرار گرفت.

از نرم‌افزار SPSS و آزمون آماری خی دو (x^2) برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

یافته‌ها

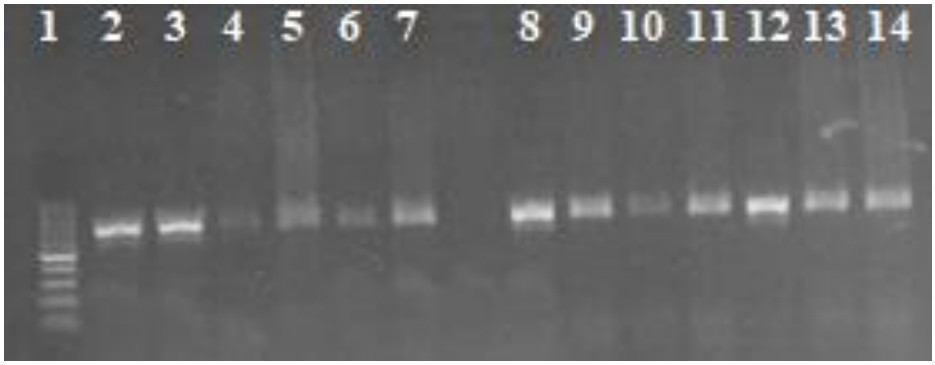
در این مطالعه از در هر دو بافت زبان و مری هر لاشه گاو نمونه‌گیری و کیست ماکروسکوپی مشاهده شد. به روش ماکروسکوپیک ۲/۵ درصد گاوهای مورد بررسی، آلوده به انگل سارکوسیست تشخیص داده شدند (جدول ۱).

بر اساس نتایج حاصل از روش هضمی، تعداد ۵۲ مورد از بافت مورد مطالعه و ۲۹ رأس از ٤٠ رأس گاو مورد مطالعه حاوی زوئیت انگل تشخیص داده شدند (شکل ۱). به‌عبارتی ٦٥ درصد بافت‌ها و ۷۲/۵ درصد گاوهای مورد مطالعه با روش هضمی یا میکروسکوپی آلوده به انگل تشخیص داده شدند (جدول ۱).



شکل (۱)- برادی‌زوئیت انگل سارکوسیست مشاهده شده در گسترش مرطوب

جهت حصول اطمینان از استخراج صحیح DNA، کلیه نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید. از مجموع ۸۰ نمونه در ٦٨ باند واضح و پررنگ و ۱۲ باند کمتر مشخص می‌شود. نتایج الکتروفورز محصول PCR بر روی ژل آگارز ۱ درصد با استفاده از نرم‌افزار ژل داکیومنت آنالیزر تفسیر گردید (شکل ۲). بر اساس نتایج حاصل، از ٤٠ رأس گاو مورد بررسی ٣٦ مورد (۹۰٪) و یا از ۸۰ بافت مورد بررسی ٦٦ مورد (۸۲/۵٪) آلودگی به سارکوسیستیس را نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل، آلودگی در بافت زبان ٣٦ مورد (۹۰٪) و بافت مری ۳۰ مورد (۷۵٪) می‌باشد (جدول٤).



شکل (۲)- الکتروفورز نتایج PCR حاصل از تکثیر ژن روی ژل آگازر ۱٪؛ ۱: DNA سایز مارکر bp ۵۰۰؛ ۲: شاهد مثبت مری؛ ۳: شاهد مثبت زبان؛ ١٤-٤: نمونه‌های استخراج شده.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد که بر اساس روش مولکولی ۸۲/۵ درصد نمونه‌ها آلوده به انگل سارکوسیست بود میزان آلودگی بافت زبان ۹۰ درصد و میزان آلودگی بافت مری ۷۵ درصد بود (جدول ۲). بر اساس روش مولکولی ۹۱/٦٦ درصد گاوهای نر موردمطالعه و ۸۷/۵ درصد گاوهای ماده مورد بررسی آلوده به این انگل بودند میزان آلودگی کل گاوهای مورد بررسی ۹۰ درصد بود (جدول ۳). میزان آلودگی بافت زبان در گاو نر و ماده به ترتیب ۹۱/٦٦ و ۸۷/۵ درصد و میزان آلودگی بافت مری در هر دو جنسیت نر و ماده ۷۵ درصد بود میزان آلودگی بافت زبان در هر دو جنسیت نر و ماده بیشتر از میزان آلودگی بافت مری بود (جدول ۳).

جدول (۱)- میزان آلودگی نمونه‌های مورد مطالعه به سارکوسیست به سه روش ماکروسکوپی، میکروسکوپی (هضمی) و PCR

تعداد کل نمونه	میزان آلودگی		
	روش ماکروسکوپی (٪)	روش هضمی (٪)	روش PCR (٪)
۸۰ نمونه	۲/۵	٦۵	۸۲/۵

جدول (۲)- میزان آلودگی نمونه‌های مورد مطالعه مورد مطالعه به انگل سارکوسیست به تفکیک بافت موردمطالعه به روش PCR

تعداد نمونه زبان	آلودگی زبان (٪)	تعداد نمونه مری	آلودگی مری (٪)
٤۰ نمونه	۹۰	٤۰ نمونه	۷۵

جدول (۳)- میزان آلودگی نمونه‌های مورد مطالعه مورد مطالعه به سارکوسیست به تفکیک جنسیت به روش PCR

جنسیت	تعداد کل گاو (رأس)	تعداد دام آلوده (رأس)	میزان آلودگی (٪)
گاو نر	۲٤	۲۲	۹۱/٦٦
گاو ماده	۱٦	۱٤	۸۷/۵
مجموع	٤۰	۳٦	۹۰

جدول (٤)- میزان آلودگی بافت‌های مورد مطالعه به سارکوسیست به تفکیک جنسیت به روش PCR

جنسیت	میزان آلودگی زبان (٪)	میزان آلودگی مری (٪)
گاو نر	۹۱/٦٦	۷۵
گاو ماده	۸۷/۵	۷۵
مجموع	۹۰	۷۵

بحث و نتیجه‌گیری

با توجه به بالا بودن میزان آلودگی لاشه گاوهای کشتاری در ایران به سارکوسیست، تعیین میزان دقیق آلودگی به این انگل در کشتارگاه‌ها اهمیت مضاعف می‌یابد. تک‌یاخته‌های دون راسته آیمریا بنابه عوامل مختلفی از قبیل چگونگی چرخه حیاتی انگل، شیوع، انتشار وسیع آن در بین جوامع انسانی و دامی و ایجاد بیماری خطرناک مانند توکسوپلاسموز و کوکسیدیوز از نظر علم دامپزشکی و پزشکی حائز اهمیت است (Bonyadin and Meshki, 2006). در این میان تک‌یاخته سارکوسیست به‌علت ایجاد بیماری با نشانه‌های بالینی نامشخص و مشکل بودن تشخیص قطعی کمتر شناخته شده و اهمیت آن دقیق مشخص نگردیده است. متأسفانه این عدم شناخت باعث گردیده تا تعریف، طبقه‌بندی و تشخیص صحیح انجام نگیرد. بنابراین تاکنون در مورد درمان و پیشگیری اقدامات مؤثری صورت نگرفته است که نهایتاً این امر می‌تواند منجر به خطرات بهداشتی و زیان‌های اقتصادی قابل‌توجهی گردد. ازاین‌رو در سال های اخیر این بیماری توجه بیشتری را بین محققین به خود جلب کرده است سعی شده است از جهات گوناگون مانند اثر نژاد، تغذیه بر روی میزان آلودگی، سن، میزان آلودگی بافت‌های مختلف، جنسیت دام و فصل موردبررسی و بحث قرار گیرد (Parandian *et al.*, 2015).

طبق نتایج به‌دست‌آمده از تحقیق حاضر، اختلاف معنی‌داری بین نتایج ماکرسکوپی و میکروسکوپی با نتایج بررسی لاشه ها به روش PCR مشاهده گردید ($P < ۰/۰۵$)، که نتایج حاصل، نشانگر تشخیص بالای آلودگی در بررسی‌های PCR بودند. این امر نشان‌دهنده عدم‌کفایت روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی نسبت به روش PCR می‌باشند و روش PCR کارآمدتر و دقیق‌تر و در عین حال گران‌تر می‌باشد.

بر اساس نتایج تحقیق حاضر ۸۷/۵ درصد گاوهای ماده و ۹۶/۶۶ درصد گاوهای نر مورد بررسی بر اساس روش مولکولی به انگل سارکوسیستیس آلوده بودند. لذا از نظر آلودگی به انگل اختلاف معنی‌داری بین جنسیت دام وجود نداشت. این یافته‌ها با نتایج تحقیق دیگری مشابه بود (Kargar Jahromi *et al.*, 2012). بر اساس نتایج حاصل از تحقیق آن‌ها میزان شیوع آلودگی ماکروسکوپیک انگل سارکوسیست در گوسفندان نر۹/۸ درصد و در گوسفندان ماده ۸/۷ درصد بود و اختلاف معنی‌داری از این لحاظ بین جنسیت دام وجود نداشت.

بر اساس نتایج اغلب مطالعات در نقاط مختلف جهان، سارکوسیستیس یکی از شایع‌ترین انگل‌ها در چهارپایان اهلی است (Beyazit *et al.*, 2007; Zuo, 1992). گونه‌های مختلف این انگل کیست‌هایی با اندازه مختلف در الیاف عضلانی حیوان ایجاد می‌کنند که فقط برخی و تعدادی از آن‌ها با چشم قابل‌مشاهده هستند. لذا به سهولت در بازرسی چشمی کشتارگاهی از دیده نهان می‌مانند. با این وجود، در بازرسی چشمی بیشترین موارد آلودگی به سارکوسیست در عضله دیافراگم و مری دیده می‌شود.

در مطالعه‌ای که در مورد نشخوارکنندگان کشتارگاه شهریار انجام گرفت، ۴۸/۹۳ درصد از گاوها و ۹۵/۸۶ درصد از گوسفندان مورد بررسی از نظر وجود کیست‌های سارکوسیست مثبت تشخیص داده شد (Alibeigi *et al.*, 2015). در یک تحقیق میزان آلودگی همبرگرهای سنتی و صنعتی عرضه‌شده در تبریز به انگل

سارکوسیست با روش هضمی ٥٦/٢٥ درصد تعیین شده است (Nematollahi *et al*., 2013). در بررسی دیگری در تبریز میزان آلودگی گوسفندان به سارکوسیستیس در روش گسترش بافتی ٥٣/٨٤ درصد و در روش هضمی ٧٣ درصد گزارش شده است. همچنین در بررسی‌های دیگری که در تبریز انجام شده است، میزان آلودگی گوسفندان ذبح‌شده به سارکوسیستیس به روش هضمی ١٠٠ درصد گزارش شده است (Arshad *et al*., 2007). در مطالعه‌ای دیگری آلودگی به انگل سارکوسیست در نشخوارکنندگان اهلی در استان تهران و گلستان به روش هضمی صورت گرفت و میزان آلودگی به میکروکیست انگل ٧٣/٤ درصد گزارش شد (Razmi *et al*., 2000).

در یک بررسی در ارومیه با روش هضمی میزان آلودگی گوشت‌های چرخ‌کرده گاو به سارکوسیستیس ٩٥/٧٩ درصد گزارش شده است (Rasouli *et al*., 2006)؛ این یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر که میزان آلودگی به انگل سارکوسیست به روش هضمی ٦٥ درصد گزارش شده است، اختلاف دارد. اختلاف موجود می‌تواند مربوط به متفاوت بودن زمان نمونه‌برداری، سن گاوهای مورد بررسی، جنسیت و نوع بافت مورد مطالعه در دو تحقیق باشد.

میزان شیوع آلودگی گوشت به انگل سارکوسیست در سنندج مورد مطالعه قرار گرفت. در این بررسی که به روش هضمی روی ١٢٠ نمونه گوشت چرخ‌کرده گاو صورت گرفت، ٩٣/٩٣ درصد نمونه‌ها آلوده بودند (Rasouli *et al*., 2010). میزان آلودگی گاوهای کشتار شده در شیراز با روش هضمی ١٠٠ درصد و با روش گسترش بافتی ٩٩ درصد گزارش شده است (Shekar Foroush *et al*., 2004).

میزان آلودگی به سارکوسیستیس هومینیس در گوشت گاوهای کشتارشده در کشتارگاه اصفهان به روش PCR، ٤٨ درصد گزارش شده است (Rahimi *et al*., 2012) که با نتایج تحقیق حاضر متفاوت است. این اختلاف می‌تواند ناشی از متفاوت بودن زمان نمونه‌برداری، سن گاوهای مورد بررسی، جنسیت و نوع بافت مورد بررسی در دو تحقیق باشد.

اولین مورد جداسازی سارکوسیستیس کروزی در گاو با استفاده از روش مولکولی PCR در بابل انجام شد (Kalantari *et al*., 2013) همچنین برای اولین بار آلودگی به گونه سارکوسیستیس هیرسوتا در یک مورد گاو کشته شده در کشتارگاه شیراز به روش PCR-RLFP گزارش شده است (Eslami *et al*., 2014).

در یک بررسی که در مورد گاوهای کشتاری تبریز با روش هیستوپاتولوژی و مولکولی صورت گرفت در نتایج حاصل از PCR از میان سه گونه *S. bovifelis*، *S. bovicanis* و *S. hominis* در گاوها، فقط باندهای نزدیک به 700 bp که مربوط به گونه *S. cruzi* بود مشاهده گردید (Ali Hemmati *et al*., 2013).

آلودگی به انگل سارکوسیست در گاوهای کشتار شده در مصر با روش میکروسکوپی و سرولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج میکروسکوپی ٩٤ درصد و نتایج حاصل از بررسی سرولوژیکی ٩٨ درصد آلودگی را نشان دادند (Sayed *et al*., 2008). در بررسی دیگری در کشور استرالیا با استفاده از روش میکروسکوپ الکترونی و روش مولکولی از بین ٣٨٤ رأس گاو، ٧٤/٢ درصد گونه *S. bovicanis*، ١/٨ درصد *S. bovifelis*، ٤٧/٢ درصد *S. hominis* را جداسازی کردند (Domenis *et al*., 2011). شیوع آلودگی به انگل

سارکوسیست در گاوهای کشتارشده در نیجریه به روش هضمی مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس نتایج به‌دست‌آمده ۴۲/۵ درصد مثبت گزارش شد (Obijiaku *et al.*, 2013).

در یک تحقیق در کشور چین که در روی ۵۲۱ رأس گاو انجام شد، ۲۱۶ مورد (۴۱/۵ درصد) به روش مولکولی آلودگی به سارکوسیست را نشان دادن (Yang *et al.*, 2018) که با نتایج تحقیق حاضر که میزان آلودگی به سارکوسیست به روش مولکولی ۸۲/۵ درصد گزارش شد بسیار اختلاف دارد. در رومانی در ۱۱۷ گاو مطالعه شده به روش میکروسکوپی ۲۱ مورد (۱۷/۹ درصد) آلودگی به سارکوسیست را تشخیص دادند (Imre *et al.*, 2019).

بر اساس مطالعه‌ای که در سال ۱۳۹۹ در گوسفندهای کشتاری شهرستان خوی با دو روش ماکروسکوپی و میکروسکوپی انجام گرفت در روش ماکروسکوپی ۵/۸۸ درصد و روش میکروسکوپی ۴۲/۶۵ درصد آلودگی مشاهده گردید (Mandaalee and Rasouli, 2020).

در تحقیق حاضر مشخص گردید که از مجموع ۸۰ مورد لاشه نمونه‌برداری شده در روش ماکروسکوپیک و میکروسکوپیک، میزان آلودگی به‌ترتیب ۲/۵ و ۶۵ درصد بود. همچنین تعداد ۶۶ مورد ازلحاظ آلودگی PCR مثبت گزارش گردید که ۸۲/۵ درصد مجموع نمونه‌ها را شامل می‌شود. بر اساس نتایج تحقیق حاضر گاوهای شهرستان ارومیه آلودگی شدید به انگل سارکوسیستیس دارند و قدرت تشخیص روش مولکولی PCR بیشتر از روش ماکروسکوپی و هضمی (میکروسکوپی) است لذا باید به این نکته توجه کرد که تشخیص وقوع بیماری سارکوسیستوزیس صرفاً با روش ماکروسکوپیک قابل‌اعتماد نبوده و حتی‌الامکان باید از لاشه‌های کشتاری به‌صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام و جهت تعیین و تشخیص آلودگی به این انگل با روش‌های هضمی (میکروسکوپیک) و PCR به آزمایشگاه‌های معتبر ارسال گردد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از اداره دامپزشکی شهرستان ارومیه، به‌خصوص آقایان دکتر صدقی، مهندس صالحی و دکتر پریزاد بابت مساعدت در تهیه نمونه و آزمایشگاه دامپزشکی آسا جهت استفاده از تجهیزات آزمایشگاهی کمال قدردانی را می‌نماید.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ‌گونه تعارض منافعی برای اعلام ندارند.

منابع

- Alibeigi, Z., Rahbari, S., Hoghooghirad, N. and Naisi, S. (2015). Macroscopic and microscopic survey of Sarcocystosis in ruminants Shahriar slaughterhouse during 2012-2013. Journal of Veterinary Research, 70(4): 441-445. [In Persian]
- Ali Hemmati, A., Shahbazi, A., Fallah, E. and Esfaram, Sh. (2013). Prevalence of Sarcocystis infection in slaughtered cows in Tabriz. Journal of Comparative Pathobiology, 10(4): 1095-1100. [In Persian]

- Arshad, M., Dalimi, A. and Ghaffarifar F. (2007). Comparative study on Sarcocystis diagnosis in meat of slaughtered sheep in Tabriz. Pajouhesh and Sazandegi, 75: 68-72. [In Persian]
- Berenji, F., Behniafar, H., Zabolinejad, N., Fata, A.M., Salehi, M. and Sadabadi, F. (2019). Prevalence of Sarcocystis infection in slaughtered sheep by macroscopic and histopathologic method in Mashhad. Medical Journal of Mashhad University of Medical Sciences, 62(3): 1556-1561. [In Persian]
- Beyazit, A., Yazicioglu, O. and Karear, Z. (2007). The prevalence of ovine Sarcocystis species in Izmir province. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi, 54: 111-116.
- Bonyadin, M. and Mashki, B. (2006). Evaluation of contamination of carcasses of cows slaughtered in Shahrekord slaughterhouse to sarcophagus. Research and Construction, 14-18. [In Persian]
- Dalimi, A., Paykari H., Esmaeilzadeh, M., Valizadeh, M., Karimi, G.H. , Motamedi, G.H. et al. (2008). Identification of Sarcocystis species of slaughtered sheep in Gazvin Ziaran slaughterhouse using PCR-RFLP. Pathobiology Research (Modares Journal of Medical Science), 11(1 &2): 65-72. [In Persian]
- Domenis, L., Peletto, S., Sacchi, L., Clementi, E., Genchi, M., Felisari, L. et al. (2011). Detection of a morphogenetically novel Sarcocystis hominis- like in the context of a prevalence study in semi-intensively bred cattle in Italy. Parasitology Research, 109(6): 1677-1687.
- Dubey, J.P., Speer, C.A. and Fayer, R. (1989a). Sarcocystis of animal and man. CRC Press, Inc., Florida, pp. 62-78.
- Dubey, J.P., Speer, C.A. and Charleston, W.A.G. (1989b). Ultrastructural differentiation between Sarcocystis of Sarcocystis hirsuta and S. hominis. Veterinary Parasitology, (34): 153–157.
- Eslami, G., Zohourtabar, A. and Mehrizi, S.R. (2014). First molecular identification of Sarcocystis hirsuta in Iranian beef: A case report. Journal of Food Quality and Hazards Control, 1(1): 32-34.
- Fayer, R. (2004). Sarcocystis spp. in human infections. Clinical Microbiological Review, 17 (4): 894-902.
- Fayer, R., Esposito, D.H. and Dubey, J.P. (2015). Human infections with Sarcocystis species. Clinical Microbiology Reviews. 28: 295–311.
- Hamidinejat, H., Moetamedi, H., Alborzi, A. and Hatami, A. (2014). Molecular detection of Sarcocystis species in slaughtered sheep by PCR–RFLP from south-western of Iran. Journal of Parasitic Diseases, 38(2): 233–237.
- Imre, K., Morariu, S., Imre, M., Plutzer, J., Boldea, M. and Morar, A. (2019). High prevalence of Sarcocystis spp. infections in cattle (Bos taurus) from central China. Parasitology research, 67: 800-804.
- Kalantari, N., Bayani, M. and Ghaffari, S. (2013). Sarcocystis cruzi: first molecular identification from cattle in Iran. International Journal of Molecular and Cellular Medicine, 2(3): 130-126.
- Kargar Jahromi, Z., Solhjoo, K., Zareian Jahromi, M., Kargar Jahromi, H., Erfaniyan, S. et al., (2012). Investigation of Sarcocystis infection in slaughtered goats in Jahrom abattoir. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 2(3): 163-167. [In Persian]
- Mandaalee, A. and Rasouli, S. (2020). Survey on the contamination rate of Sarcocystis in slaughtered sheep by digestive method. Journal of Food Hygiene, 10(3): 31-41. [In Persian]
- Mirzaei Dehaghi, M., Fallahi, M., Sami, M. and Radfar, M.H. (2012) Survey of Sarcocystis infection in slaughtered sheep in Kerman abattoir, Kerman, Iran. Comparative Clinical Pathology, 22: 343-346.
- Nematollahia, A., Khoshkerdar, A., Ashrafi Helan, J., Shahbazi, P. and Hassanzadeh, P. (2013). A study on rate of infestation to Sarcocystis cysts in supplied raw hamburgers. Journal of Parasitic Diseases, 39(2): 276–279.
- Obijiaku, I.N., Ajogi, I., Umoh, J.U., Lawal, I.A. and Atu, B.O. (2013). Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Zango abattoir, Zaria, Nigeria. Veterinary World, 6(6): 346-349.

- Oryan, A., Ahmadi, N. and Mousavi, S.M. (2010). Prevalence, biology, and distribution pattern of Sarcocystis infection in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. Tropical Animal Health and Production, 42(7): 1513-1518.
- Parandian, F., Feizi, F., Maghsood, A.H., Matini, M., Roshan, A. and Fallah, M. (2015). A Survey on Sarcocystis infection rate in slaughtered cattle and sheep by macroscopic inspection and pepsin digestion methods in Hamadan abattoir. Scientific Journal of Hamadan University of Medical Sciences, 22(3): 210-216.
- Rahimi, E., Dousti, A., Hosseini, S.R., Homayoun, M. and Abdizadeh, R. (2012). Identify of Sarcocystis hominis in cattle carcasses using PCR method. Comparative Pathobiology, 9(2): 661-664. [In Persian]
- Rasouli, S., Ahari, H., Farsi, A. and Amin Khah, S. (2006). Evaluation of meat contamination in butchers of Urmia city to Sarcocyst protozoan by digestion method. Journal of Veterinary Microbiology, 5(4): 1-5. [In Persian]
- Rasouli, S., Sedghian, M., Karimian, S., Valizadeh, E. and Jafari, K. (2010). Prevalence of protozoa Sarcocystis contamination of meat in the city of Sanandaj with digestion method. Journal of New Veterinary Research, 1(3): 27-32. [In Persian]
- Razmi, G. and Rahbari, S. (2000). Study of Sarcocystis in the domestic ruminants of Tehran and Golestan provine. Journal of Veterinary Faculty, Shahid Chamran University, 40: 39-46. [In Persian]
- Sayed, F.G., Shaheen, M.S.I., Arafa, M.I. and Koraa, H.M. (2008). Sarcocystis infection in cattle at Assiute abattoir, microscopical and serological studies. Bullding and Environment Research, 11(1): 47-58.
- Shekar Foroush, S.Sh. and Ahmadi, B. (2004). Contamination of Sarcocystis carcasses of slaughtered cows in Isfahan slaughterhouse and its health importance. Pajouhesh and Sazandegi, 64: 102-103. [In Persian]
- Tenter, A.M. (1995). Current research on Sarcocystis species of domestic animals. International Journal for Parasitology, 25: 1311-1330.
- Vangeel, L., Houf, K., Chiers, K., Vercruysse, J., Herde, K. and Ducatelle, R. (2007). Molecular-based identification of Sarcocystis hominis in Belgian minced beef. Journal of Food Protection, 67: 800-804.
- Yakhchali, M., Morshedi, A. and Malekifard, F. (2010). Screening of seropositive Sarcocystis (Apicomplexa: Sarcocystidae, Lankester1882) in sheep using counterim-munoelectrophoresis. Veterinary Journal (Pajouhesh and Sazandegi), 89: 28-32. [In Persian]
- Yang, Y., Dong, H., Su, R., Wang, Y., Wang, R. and Jiang, Y. (2018). High prevalence of Sarcocystis spp. infections in cattle (*Bos taurus*) from central China. Parasitology research, 67 (6): 800-804.
- Zuo, Y. (1992). Coccidia and coccidiosis of domestic animals and man. Tian Jing China: Tian Jing Scientific and Technical Publishing House, p. 125.