

“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

DOI: 10.30495/JFH.2021.1919362.1303

«مقاله پژوهشی»

بررسی میزان آلودگی گوشت گاوهای ذبح شده 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: ۱۴۰۰/۱۰/۱۱؛ 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. hominis* و *S. bovifelis* در گاو شناسایی شده است. با توجه به بالا بودن میزان آلودگی لاشه‌های گاوهای کشتاری در ایران به سارکوسیست، میزان آلودگی گوشت گاوهای ذبح شده 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 ماکروسکوپی و میکروسکوپی میزان آلودگی به ترتیب ۲/۵ و ۷۲/۵ درصد بود. هم‌چنین تعداد ۳۶ رأس گاو از لحاظ 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 ($P < 0/05$) 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 ماکروسکوپی، روش میکروسکوپی، PCR، گاو، ارومیه

مقدمه

و پریمات‌ها می‌باشد (Fayer, 2004; Fayer *et al.*, 2015).

آلودگی گاو با خوردن مواد غذایی آلوده به اسپروسیست‌ها آغاز می‌شود، اسپروزیوت‌ها 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 شی‌زیوگونی را طی می‌کنند. اولین مرحله بیشتر در عروق مزانترو و مرحله دوم شی‌زیوگونی در عروق سرتاسر بدن صورت می‌گیرد. سومین مرحله غیرجنسی در لنفوسیت‌های در حال گردش رخ می‌دهد و مروزیوت‌های 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 به دلیل 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 ماکروسکوپیکی تشخیص داده می‌شوند و کیست‌های میکروسکوپی از دید بازرسان گوشت مخفی می‌ماند، لذا آمار ارائه شده توسط بازرسان کشتارگاهی به مراتب خیلی کمتر از مقدار واقعی می‌باشد. در ایران و دنیا چندین تحقیق به روش سرولوژیک انجام گرفته است. برای مثال در

سارکوسیستیس برای اولین بار توسط Meisher در سال ۱۸۳۴ در موش خانگی گزارش شد (Mirzaei *et al.*, 2012). سارکوسیستیس در بدن میزبان واسط به صورت 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 به وسیله 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، سقط جنین 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

مولکولی اقدام به تشخیص انگل شد. میزان آلودگی گاوها به انگل ۵/۴۱ درصد بود (Yang et al., 2018). با این وجود مطالعات فراوانی در خصوص میزان شیوع سارکوسیستوزیس در گاو، گوسفند، گاو میش و بز و شتر در ایران و بسیاری از کشورها انجام شده است، با این حال مطالعه حاضر به منظور تعیین میزان آلودگی گاوهای شهرستان ارومیه به انگل سارکوسیست با استفاده از تکنیک مولکولی به کمک PCR، به عنوان 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 نمونه گیری

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 جمع‌آوری شده در فرم اطلاعاتی ثبت شد. سپس به منظور 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

تحقیقی که روی ۵۲۱ رأس گاو انجام شد، ۴۱/۵ 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 به منظور تشخیص *S. hominis* در گوشت گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اصفهان از روش PCR استفاده شد و میزان آلودگی ۴۸ 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 (۴۲/۶۵) درصد گزارش شد (Mandaalee et al., 2020).

برای تشخیص گونه *S. fasiformis* در گاو میش‌ها 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 ۴/۹۷ درصد تعیین گردید و با توجه به این که مصرف گوشت گاو چرخ کرده در بلژیک و کشورهای اروپایی دیگر متداول است، این مسئله به عنوان 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 بررسی شده است، در این تحقیق با نمونه برداری از دیافراگم گاوها در استان هنان چین (از نواحی مرکزی چین) با مطالعه بافت‌شناسی و هضم پیسین و تشخیص

طول بهینه بازها در پرایمر حدود ۲۰ باز می باشد. دمای ذوب مطلوب ۲۵/۵۵-۵۱/۵۴ درجه سلسیوس و نسبت GC، ۴۶ درصد بوده است.

مواد نهایی لازم برای واکنش PCR برای هر نمونه: پرایمر فوروارد، پرایمر ریورس، DNA الگو، DNA پلی مرز Taq، MgCl₂ و dNTP Mix بود. شرایط PCR شامل: یک سیکل ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۵ دقیقه؛ ۳۰ سیکل ۹۴ درجه سلسیوس به مدت ۴۵ 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 به دست آمد. در مرحله آخر محصول PCR در ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گراید توسط اتیدیوم برمی آید رنگ آمیزی شد و با استفاده از اشعه UV مورد ارزیابی قرار گرفت.

از نرم افزار SPSS و آزمون آماری خی دو (χ^2) برای تجزیه و تحلیل آماری استفاده شد.

یافته ها

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

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

- روش هضم بافتی یا میکروسکوپی

حدود ۵۰ گرم از بافت مورد نظر زبان و مری به طور جداگانه با چرخ گوشت له شده و در ۱۰۰ میلی لیتر محلول هضمی قرار داده شد. محلول هضمی حاوی ۱۰۰ سی سی فسفات بافر (PH= ۷/۲) و ۱۰ سی سی اسید کلریدریک و ۲/۵ گرم پیپسین 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 صاف شده با دور ۲۵۰۰ به مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و از رسوب گسترش تهیه شد (Hamidinejat et al, 2010). و با رنگ گیمسا رنگ آمیزی شد. گسترش رنگ آمیزی شده با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۴۰ یا ۱۰۰ از نظر وجود زوئیت سارکوسیت بررسی گردید (Dubey et al., 1989b).

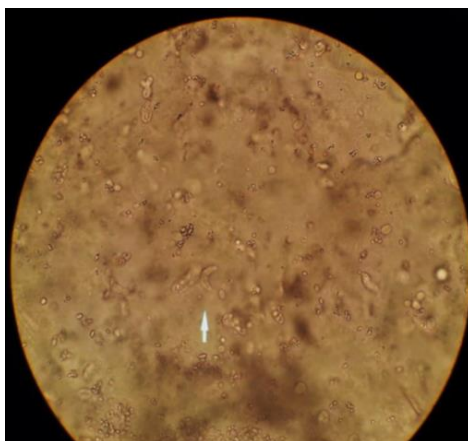
استخراج DNA ژنومی و انجام PCR

استخراج DNA بافت ها با کمک کیت استخراج DNA (کیازن، آلمان) انجام گرفت. DNA ژنومی به ترتیب 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 استخراج شده از ژل آگارز ۱ درصد و رنگ آمیزی توسط اتیدیوم بروماید استفاده شد. به منظور انجام PCR پرایمر اختصاصی (سیناکلون، ایران) انگل سارکوسیت با توالی زیر انجام گردید:

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

شکل ۱). به عبارتی ۶۵ درصد بافت‌ها و ۷۲/۵ درصد گاوهای مورد مطالعه با روش هضمی یا میکروسکوپی آلوده به انگل تشخیص داده شدند (جدول ۱).

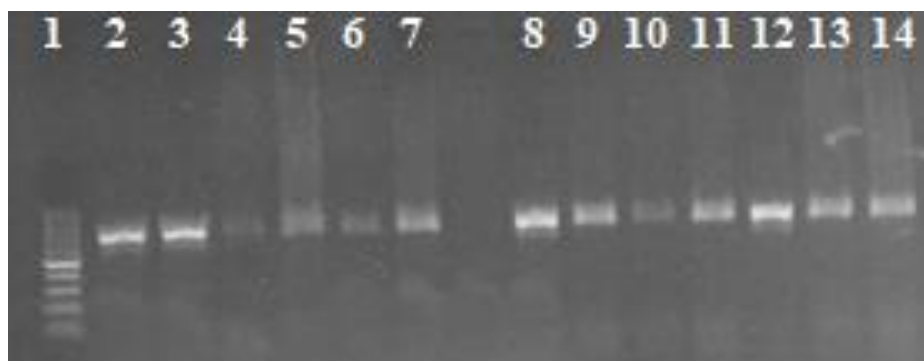
بر اساس نتایج حاصل از روش هضمی، تعداد ۵۲ مورد از بافت مورد مطالعه و ۲۹ رأس از ۴۰ رأس گاو مورد مطالعه حاوی زوئیت انگل تشخیص داده شدند



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

نتایج حاصل، از ۴۰ رأس گاو مورد بررسی ۳۶ مورد (۹۰٪) و یا از ۸۰ بافت مورد بررسی ۶۶ مورد (۸۲/۵٪) آلودگی به سارکوسیستیس را نشان دادند. با توجه به نتایج حاصل، آلودگی در بافت زبان ۳۶ مورد (۹۰٪) و بافت مری ۳۰ مورد (۷۵٪) می‌باشد (جدول ۴).

جهت حصول اطمینان از استخراج صحیح DNA، کلیه نمونه‌ها روی ژل آگارز ۱ درصد الکتروفورز گردید. از مجموع ۸۰ نمونه در ۶۸ 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 داکيومنت آنالیزر تفسیر گردید (شکل ۲). بر اساس



شکل (۲)- الکتروفورز نتایج PCR حاصل از تکثیر ژن روی ژل آگارز ۱٪؛ ۱: DNA سایز مارکر bp ۵۰۰۰؛ ۲: شاهد مثبت مری؛ ۳: شاهد مثبت زبان؛ ۴-۸: نمونه‌های استخراج شده.

بررسی ۹۰ درصد بود (جدول ۳). میزان آلودگی بافت زبان در گاو نر و ماده به ترتیب ۹۱/۶۶ 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).

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 ۹۱/۶۶ درصد گاوهای نر مورد مطالعه و ۸۷/۵ درصد گاوهای ماده مورد بررسی آلوده به این انگل بودند میزان آلودگی کل گاوهای مورد

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

میزان آلودگی			تعداد کل نمونه
روش PCR (%)	روش هضمی (%)	روش ماکروسکوپی (%)	
۸۲/۵	۶۵	۲/۵	۸۰ نمونه

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

تعداد نمونه زبان	آلودگی زبان (%)	تعداد نمونه مری	آلودگی مری (%)
۴۰ نمونه	۹۰	۴۰ نمونه	۷۵

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

جنسیت	تعداد کل گاو (رأس)	تعداد دام آلوده (رأس)	میزان آلودگی (%)
گاو نر	۲۴	۲۲	۹۱/۶۶
گاو ماده	۱۶	۱۴	۸۷/۵
مجموع	۴۰	۳۶	۹۰

جدول (۴)- میزان آلودگی بافت‌های مورد مطالعه به سارکوسیست به تفکیک جنسیت به روش PCR

جنسیت	میزان آلودگی زبان (%)	میزان آلودگی مری (%)
گاو نر	۹۱/۶۶	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 راسه آیمیریا بنابه عوامل مختلفی از قبیل چگونگی چرخه حیاتی انگل، شیوع، انتشار وسیع آن در بین جوامع انسانی و دامی و ایجاد بیماری خطرناک مانند توکسوپلاسماوز و کوکسیدیوز از نظر علم دامپزشکی و پزشکی حائز اهمیت است (Bonyadin and Meshki, 2006). در این میان تک‌یاخته سارکوسیست به علت 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 قابل توجهی گردد. از این رو در سال‌های 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 مورد بررسی و بحث قرار گیرد (Parandian et al., 2015).

طبق نتایج به دست آمده از تحقیق حاضر، اختلاف معنی‌داری بین نتایج ماکروسکوپی و میکروسکوپی با نتایج بررسی لاشه‌ها به روش PCR مشاهده گردید ($P < 0/05$)، که نتایج حاصل، نشانگر تشخیص بالای آلودگی در بررسی‌های PCR بودند. این امر نشان‌دهنده

عدم کفایت 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 ماکروسکوپی انگل سارکوسیست در گوسفندان نر ۹/۸ 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 قابل مشاهده 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

میزان آلودگی به سارکوسیتیس هومینیس در گوشت گاوهای کشتار شده در کشتارگاه اصفهان به روش PCR، ۴۸ 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 سارکوسیتیس کروزوی در گاو با استفاده از روش مولکولی PCR در بابل انجام شد (Kalantari et al., 2013) همچنین برای اولین بار آلودگی به گونه سارکوسیتیس 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. bovis*، *S. hominis* و *S. bovicanis* 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 سارکوسیتیس در گاوهای کشتار شده در مصر با روش میکروسکوپی و سرولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت که نتایج میکروسکوپی ۹۴ درصد و نتایج حاصل از بررسی سرولوژیکی ۹۸ 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 ۳۸۴ رأس گاو، ۷۴/۲ درصد گونه *S. bovicanis*، ۱/۸ درصد *S. bovis*، ۴۷/۲ درصد *S. hominis* را جداسازی کردند (Domenis et al., 2011). شیوع آلودگی به انگل

سارکوسیتیس با روش هضمی ۵۶/۲۵ درصد تعیین شده است (Nematollahi et al., 2013). در بررسی دیگری در تبریز میزان آلودگی گوسفندان به سارکوسیتیس در روش گسترش بافتی ۵۳/۸۴ درصد و در روش هضمی ۷۳ درصد گزارش شده است. همچنین در بررسی‌های دیگری که در تبریز انجام شده است، میزان آلودگی گوسفندان ذبح شده به سارکوسیتیس به روش هضمی ۱۰۰ درصد گزارش شده است (Arshad et al., 2007). در مطالعه‌ای دیگری آلودگی به انگل سارکوسیتیس در نشخوارکنندگان اهلی در استان تهران و گلستان به روش هضمی صورت گرفت و میزان آلودگی به میکروکیست انگل ۷۳/۴ درصد گزارش شد (Razmi et al., 2000).

در یک بررسی در ارومیه با روش هضمی میزان آلودگی گوشت‌های چرخ کرده گاو به سارکوسیتیس ۹۵/۷۹ درصد گزارش شده است (Rasouli et al., 2006)؛ این یافته‌ها با نتایج تحقیق حاضر که میزان آلودگی به انگل سارکوسیتیس به روش هضمی ۶۵ 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 سارکوسیتیس در سنجج مورد مطالعه قرار گرفت. در این بررسی که به روش هضمی روی ۱۲۰ نمونه گوشت چرخ کرده گاو صورت گرفت، ۹۳/۹۳ درصد نمونه‌ها آلوده بودند (Rasouli et al., 2010). میزان آلودگی گاوهای کشتار شده در شیراز با روش هضمی ۱۰۰ درصد و با روش گسترش بافتی ۹۹ درصد گزارش شده است (Shekar et al., 2004).

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 ماکروسکوپی قابل اعتماد نبوده و حتی‌الامکان باید از لاشه‌های کشتاری به صورت تصادفی نمونه‌برداری انجام و جهت تعیین و تشخیص آلودگی به این انگل با روش‌های هضمی (میکروسکوپی) و PCR به آزمایشگاه‌های معتبر ارسال گردد.

سپاسگزاری

بدین وسیله 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 منافی برای اعلام ندارند.

سارکوسیست در گاوهای کشتار شده در نیجریه به روش هضمی مورد بررسی قرار گرفت که بر اساس نتایج به‌دست آمده 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 دادند (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 ماکروسکوپی و میکروسکوپی، میزان آلودگی به ترتیب ۲/۵ و ۶۵ درصد بود. همچنین تعداد ۶۶ مورد از لحاظ آلودگی PCR مثبت گزارش گردید که ۸۲/۵ درصد مجموع

منابع

- Alibeigi, Z., Rahbari, S., Hoghooghirad, N. and Naisi, S. (2015). Macroscopic and microscopic survey of Sarcocystosis in ruminants Shahrar 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., Vercruyssen, 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.