

تعیین مشخصات کیست‌های هیداتید جدا شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج به روش PCR-RFLP

عبدالله صدری^۱، عبدالعلی مشفق^۲، عباس دوستی^۳، حسین انصاری^۴، حسن عییدی^۴، صادق قربانی دالینی^۱

^۱ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد جهرم، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی، ^۲ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی، ^۳ دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، گروه بیوتکنولوژی، ^۴ دانشگاه علوم پزشکی یاسوج، دانشکده پیراپزشکی، گروه علوم آزمایشگاهی
تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۸/۲۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۱۲/۲۴

چکیده

زمینه و هدف: با توجه به وجود ۱۰ ژنوتیپ مختلف از انگل اکینوкокوس گرانولوزوس با میزبان‌های واسطه و نهایی مختلف و اثرگذاری این ژنوتیپ‌ها در چرخه زندگی انگل و انتقال آن به انسان، هدف این مطالعه تعیین خصوصیات مولکولی جدایه‌های کیست‌های هیداتید و انتشار آنها در کبد و ریه دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج بود.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی تعداد ۹۳ کیست هیداتید دامی (۳۱ نمونه گوسفند، ۵۶ نمونه بز و ۶ نمونه گاو) از کشتارگاه صنعتی یاسوج جمع‌آوری شدند. DNA ژنومی از پروتواسکولکس‌های مربوطه با روش استاندارد فنل-کلروفرم استخراج گردید. قطعه‌ی rDNA-ITS1 هر کدام از نمونه‌ها به روش PCR با پرایمرهای EgF و EgR، تکثیر شد و محصولات PCR ابتدا با الکتروفورز بررسی و سپس با آنزیم‌های Alu I و Rsa I برش داده شده و محصولات PCR-RFLP قطعات مزبور الکتروفورز شده و مورد بررسی قرار گرفتند.

یافته‌ها: با استفاده از روش PCR، اندازه قطعات rDNA-ITS1 تمام جدایه‌های کبدی و ریوی دارای باندهای مشابه و اندازه ۱۰۰۰ bp به دست آمد. الگوی ایجاد شده با استفاده از آزمون RFLP با آنزیم‌های Alu I و Rsa I ژنوتیپ G1 یعنی همان ژنوتیپ گوسفندی اکینوкокوس گرانولوزوس را نشان داد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه نشان داد، سویه GI، سویه غالب ایجاد کننده بیماری کیست هیداتید در اعضای مختلف دام از جمله کبد و ریه در شهر یاسوج می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: اکینوкокوس گرانولوزوس، ژنوتیپ، کیست هیداتید، دام

نویسنده مسئول: دکتر عبدالعلی مشفق، یاسوج، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات سلولی و مولکولی

Email: amoshfea@yahoo.com

مقدمه

هیداتیدوز ناشی از اکینوкокوس گرانولوزوس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های مشترک بین انسان و دام می‌باشد و در اکثر مناطق گرمسیری، نیمه گرمسیری و معتدل دنیا شایع است (۱ و ۲). اخیراً اکینوкокوس گرانولوزوس به گروه‌های ذیل تقسیم شده است؛ اکینوкокوس گرانولوزوس سنسیو استریکو شامل؛ استرین گوسفندی (G1)، استرین گوسفندی تاسمانیایی (G2)، استرین بوفالویی (G3)، اکینوкокوس اکوینیس شامل استرین اسبی (G4)، اکینوкокوس ارتلپی شامل استرین گاوی (G5) و اکینوкокوس کانادینزیس شامل استرین شتری (G6)، استرین خوکی (G7)، استرین گوزنی (G8)، استرین انسانی (G10) و استرین فنوس کاندین (۳ و ۴). در میان این ژنوتیپ‌ها گروه اکینوкокوس گرانولوزوس سنسیو استریکو استرین گوسفندی (G1) در سراسر جهان بیشترین گستردگی را دارد (۵-۱۰).

این سویه‌ها از نظر خصوصیات ریخت‌شناسی، همه‌گیری شناسی، درمان و کنترل با هم اختلاف دارند. به طوری که این سویه‌ها ویژگی‌های آسیب‌شناسی، اختصاصیت میزبانی، بیولوژی تکامل، فیزیولوژی، ژنتیک، بیماری‌زایی انگل برای میزبان، الگوی چرخه زندگی انگل، پاتوژنیسیته، آنتی‌ژنیسیته، روند انتقال آلودگی و حساسیت آنها نسبت به عوامل دارویی را در مواردی می‌توانند تحت تأثیر قرار دهند. تمامی موارد فوق بر طراحی و ساخت واکسن‌ها،

تشخیص، پاسخ درمانی، همه‌گیری‌شناسی و کنترل تأثیر می‌گذارند (۱۳-۱۰ و ۵).

وضعیت آلودگی دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج به کیست هیداتید طی سال‌های ۱۳۸۰ و ۱۳۸۱ با مطالعه آمار ثبت شده در کشتارگاه بررسی گردید که از ۱۹۰۸۶۱ دام ذبح شده در سال‌های مورد نظر ۱۱۰۳۳ دام اعم از گوسفند، گاو و بز به کیست هیداتید کبد و ریه مبتلا بودند که بیشترین آلودگی مربوط به کیست هیداتید ریه گوسفندان (۴/۶۶ درصد) بود (۱۴).

نتایج نشان داد که کیست هیداتید بیماری بومی شهر یاسوج بوده و طی سال‌های گذشته در روند ایجاد بیماری و تعداد موارد آن تغییر خاصی صورت نگرفته است. از طرفی تعداد موارد بروز سالانه این بیماری در این منطقه نسبت به سایر مناطق کشور بیشتر می‌باشد، بنابراین اقدامات لازم جهت کنترل این بیماری ضروری به نظر می‌رسد (۱۶ و ۱۵).

با توجه به مطالعات انجام شده در این منطقه و اهمیت این بیماری، در این مطالعه به بررسی ژنوتیپ انگل مولد بیماری پرداخته شد تا با توجه به نتایج حاصل و تعیین سویه انگل بتوان میزبان‌های اصلی و واسطه آن را شناسایی نمود و برنامه‌ریزی دقیقی جهت مدیریت و کنترل این بیماری در این منطقه طراحی نمود، لذا هدف این مطالعه تعیین خصوصیات مولکولی جدایه‌های کیست‌های هیداتید و انتشار آنها در کبد و ریه دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج بود.

روش بررسی

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۹۰ بر روی ۹۳ کیست هیداتید جدا شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج انجام شد.

جهت جمع‌آوری کیست‌های هیداتید با هماهنگی قبلی با مسئولین کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج به این مکان مراجعه و با حضور در خط کشتار با استفاده از ظروف تعیین شده، جهت اندام‌های خاص هر دام اقدام به جمع‌آوری بافت آلوده به کیست گردید. کیست‌های هیداتید در کشتارگاه به وسیله دامپزشک تشخیص داده شد و اندام‌های آلوده از خط تولید خارج گردیدند. در کوتاه‌ترین زمان اندام‌های آلوده به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده پزشکی یاسوج منتقل شدند. ابتدا کیست‌ها از بافت آلوده جدا شده و سپس روی کیست‌ها با الکل ضدعفونی شده و با سرنگ مایع درون کیست‌ها خارج گردید. مایع خارج شده به لوله‌های آزمایش منتقل شده و به مدت ۵ دقیقه با دور ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند، مایع رویی خارج شده و عمل شستشو با سرم فیزیولوژی ۳ بار تکرار شد. در پایان مایع رویی دور ریخته شد و با تهیه یک لام مرطوب از رسوب و بررسی میکروسکوپی حضور پروتواسکولکس‌ها اثبات گردید. رسوب‌های حاصله در الکل ۷۰ درجه و در دمای منهای ۷۰ درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام روش‌های ملکولی در لوله‌های جداگانه با کدهای مخصوص نگهداری شدند.

برای استخراج DNA ابتدا رسوب حاوی پروتواسکولکس‌ها چند بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند و سپس DNA نمونه‌ها با استفاده از روش هضم انگل در SDS، پروتئیناز K و استخراج با روش استاندارد فنل-کلروفرم و رسوب اتانول استخراج شده و غلظت DNA آنها با روش اسپکترومتری تعیین شد و سپس در ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام تست نگهداری شدند (۱۷).

در روش واکنش زنجیره‌ای پلی‌مران (۱) تکثیر توالی از قطعه‌ی rDNA-ITS1^(۲) به کمک دستگاه ترموسایکلر (گرادیانست، اپندورف آلمان) با استفاده از پرایمرهای EgF با توالی (5'-GTC GTA ACA AGG TTT CCG TAG G-3') و EgR با توالی (5'-TAG ATG CGT TCG AAG TGT CG-3') انجام شد. این پرایمرها در مطالعات قبلی محققین طراحی و استفاده شده بودند (۱۸).

قطعه ITS1 شامل مقداری از ژن 18s و قسمت اعظم ژن 5/8s مربوط به ژن‌های rDNA انگل است. برای تکثیر قطعه فوق حجم ۵۰ میکرولیتری شامل بافر 10x ۵ میکرولیتر، dNTPs ۰/۲ میکرولیتر، پرایمرهای EgF و EgR هر کدام ۲۵ پیکومول، آنزیم Taq DNA پلی‌مران ۱ واحد، کلرید منیزیم ۵۰ میلی مولار ۲ میکرولیتر و DNA الگو ۲ میکرولیتر استفاده شد. سپس با آب مقطر

1-Polymerase Chain Reaction(PCR)
2- ribosomal DNA- Internal Transcribed Spacer1(rDNA-ITS1)

حجم نهایی واکنشگرها به ۵۰ میکرولیتر رسانده شد. پس از تهیهی مخلوط PCR، برنامه‌ی دمایی برای ۳۰ سیکل استفاده شد.

بعد از اتمام تکثیر قطعه ژن موردنظر در دستگاه ترموسایکلر، محصولات PCR روی ژل آگاروز ۱/۵ درصد الکتروفورز شدند.

برای هضم آنزیمی محصول با روش RFLP از دو آنزیم Alu1 و Rsa1 که به ترتیب توالی های AG/CT و GT/AC رشته‌هایی DNA را شناسایی و قطع می‌کنند، استفاده شد (۲۱-۱۹). به این صورت که یک میکرولیتر از آنزیم برش دهنده در ۲ میکرولیتر بافر مخصوص آنزیم با ۷ میکرولیتر آب مقطر استریل و ۱۰ میکرولیتر محصول PCR مخلوط کرده و در ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۴ ساعت گرم‌خانه‌گذاری شدند. سپس محصولات هضم آنزیمی روی ژل آگاروز ۲ درصد با ولتاژ ۸۰ الکتروفورز شده، و باندهای ایجاد شده با نور ماورای بنفش مشاهده و با دستگاه ژل داکيومنتیشن عکس‌برداری و ثبت گردیدند.

یافته‌ها

در این مطالعه تعداد ۹۳ کیست هیداتید شامل؛ ۲۱ نمونه گوسفند، ۵۶ نمونه بز و ۶ نمونه گاو از کبد و ریه دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج تهیه شدند (جدول ۱).

DNA پروتواسکولکس‌های این کیست‌ها با استفاده از روش PCR-RFLP، قطعه‌ی rDNA-ITS1 مورد بررسی قرار گرفتند. که قطعه‌ی ITS1، DNA

ریبوزومی اکینوکوکوس گرانولوزوس با روش PCR تکثیر گردید و با هضم آنزیم‌های Alu1 و Rsa1 الگوهای حاصله بررسی شدند. محصول واکنش PCR، باندهایی به اندازه‌ی حدوداً ۱ Kb^(۱) بود. این نتیجه نشان دهنده حضور پروتواسکولکس اکینوکوکوس گرانولوزوس در نمونه‌های مورد بررسی بود (تصویر ۱). پس از انجام روش RFLP باندهای ایجاد شده بر اثر برش آنزیم‌های به کار برده شده بر روی محصول PCR بر اساس الگوی برشی این آنزیم‌ها ژنوتیپ G1 را برای تمامی نمونه‌های مورد آزمایش در این مطالعه مطرح می‌نماید. الگوی RFLP محصول PCR تمام ایزوله‌ها با آنزیم‌های برش دهنده یکسان بود. به طوری که برای آنزیم برش دهنده‌ی Alu1 برای تمام ۹۳ ایزوله قطعات ۲۰۰ bp و ۸۰۰ bp (تصویر ۲) و برای آنزیم برش دهنده‌ی Rsa1 قطعات ۶۵۵ bp و ۳۴۵ bp به دست آمد (تصویر ۳).

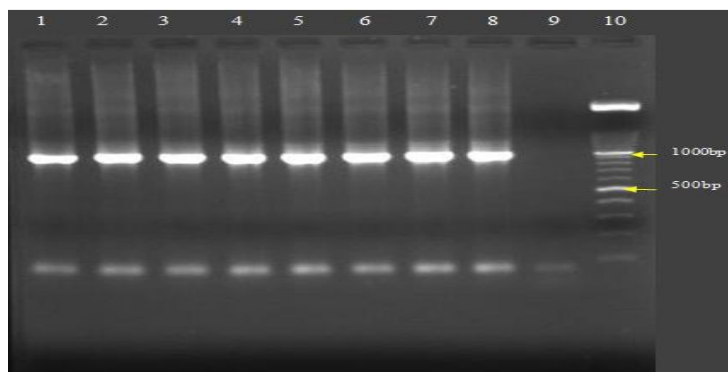
بحث

با توجه به وجود ۱۰ ژنوتیپ مختلف از انگل اکینوکوکوس گرانولوزوس با میزبان‌های واسطه و نهایی مختلف و اثرگذاری این ژنوتیپ‌ها در چرخه زندگی انگل و انتقال آن به انسان (۳ و ۴)، هدف این مطالعه تعیین خصوصیات مولکولی جدایه‌های کیست‌های هیداتید و انتشار آنها در کبد و ریه دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج بود.

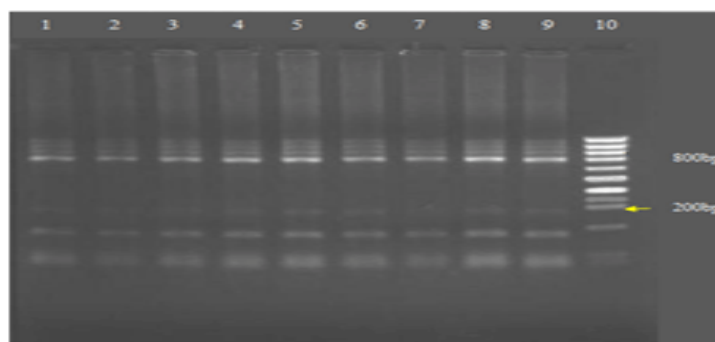
1-Kilo Base Pair(kb)

جدول ۱: مقایسه فراوانی توزیع کیست‌های هیداتید جمع آوری شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج

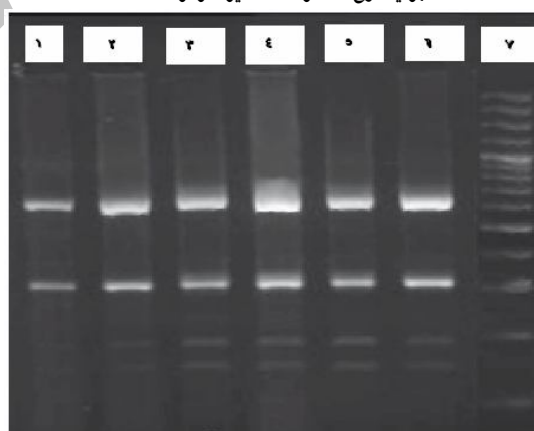
عضو آلوده	ریه	کبد	جمع
نوع دام	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)	تعداد(درصد)
گوسفند	۱۱(۳۵/۵)	۲۰(۶۴/۵)	۳۱(۳۲/۳)
بز	۱۹(۳۴)	۳۷(۶۶)	۵۶(۶۲)
گاو	۰(۰)	۶(۱۰۰)	۶(۶/۴)
مجموع	۳۰(۳۲/۲)	۶۳(۶۷/۸)	۹۳(۱۰۰)



تصویر ۱: الکتروفورز محصولات PCR مرحله دوم، شماره ۱ تا ۷ ایزوله‌های مثبت جدا شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج، شماره ۸ کنترل مثبت، شماره ۹ کنترل منفی، شماره ۱۰ سایز مارکر.



تصویر ۲: الکتروفورز محصولات RFLP، شماره ۱ تا ۹ نمونه‌های مثبت با آنزیم AluI برای ایزوله‌های جدا شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج، شماره ۱۰ سایز مارکر.



تصویر ۳: الکتروفورز محصولات RFLP، شماره ۱ تا ۶ نمونه‌های مثبت با آنزیم RsaI برای ایزوله‌های جدا شده از دام‌های کشتار شده در کشتارگاه صنعتی شهر یاسوج، شماره ۷ سایز مارکر.

در این مطالعه پس از الکتروفورز محصول واکنش PCR، طول قطعه تکثیر شده در تمام نمونه‌ها یکسان و برابر ۱۰۰۰bp بود که نتایج PCR نمونه‌های تهیه شده مشابه با یافته‌های گزارش شده در سایر مطالعات بود (۲۲ و ۲۱، ۸). الگوی PCR-RFLP ژن ITS-1 در خصوص نمونه‌های تهیه شده از گوسفند، بز و گاو نشانگر حضور فعال ژنوتیپ سویه مشترک گوسفندی (G1) در دام‌های شهر یاسوج بود. احمدی و دلیمی (۲۰۰۶) در ایران در ایزوله‌های گوسفندی، شتری و انسانی با اندازه‌های قطعات DNA-ITS1 نتایج تقریباً مشابه گزارش کردند (۲۳). از طرفی جمالی و همکاران (۲۰۰۴) در ایزوله‌های انسانی، گاو و گوسفندی از ایران اندازه قطعات DNA-ITS1 را با اندازه تقریبی ۱Kb گزارش کردند (۲۴) که مشابه اندازه قطعات DNA-ITS1 حاصل از ایزوله‌های گوسفند، بز و گاو در این مطالعه می‌باشد.

فصیحی هرندی و همکاران (۲۰۰۲) استرین‌های گوسفندی (G1) و شتری (G6) با الگوی مشابهی از RFLP بین ایزوله‌های گوسفندی و شتری با آنزیم‌های Alu1, Msp1, Rsa1 با روش PCR-RFLP ناحیه ITS1 از نواحی جغرافیایی متفاوت ایران گزارش کردند (۲۵). هم‌چنین وجود استرین‌های متفاوت اکتینوکوکوس گرانولوزوس در ایران با روش مولکولی PCR-RFLP در مطالعه‌ی احمدی و دلیمی (۲۰۰۶)، مک مونس و تامسون^(۱) (۲۰۰۳) با روش‌های مرفولوژی و مولکولی در ایزوله‌های حیوانی و انسانی با چرخه‌های سگ،

گوسفند و سگ و شتر به عنوان چرخه‌های فعال انگل مورد تأیید قرار گرفته است که می‌تواند در انتقال عفونت به انسان و سایر میزبان‌های واسطه تصادفی نقش داشته باشد (۲۳ و ۵).

نتایج مطالعه‌ی زانگ و همکاران^(۲) (۱۹۹۸) بر روی ایزوله‌های اکتینوکوکوس گرانولوزوس بیانگر آن بود که نقش ژنوتیپ گوسفندی (G1) در دام‌های اهلی نسبت به ژنوتیپ شتر (G6) شناسایی شده در گاو، گوسفند و بز قابل توجه تر است (۱). یوتوک و همکاران^(۳) (۲۰۰۸) در مطالعه‌ی خود بر روی ایزوله‌های اکتینوکوکوس گرانولوزوس در نواحی شرق و جنوب شرقی ترکیه که هم مرز با ایران است، با هضم آنزیمی محصول COX-1 و ITS-1 عنوان نمودند که سویه شایع در این مناطق نیز سویه گوسفندی (G1) است (۲۱). در مطالعه دیگری با روش PCR-RFLP کیست هیداتید کبک، ریه و طحال گاو، گوسفند و خوک در جزیره ساردینی ایتالیا، سویه شایع را متعلق به ژنوتیپ گوسفندی (G1) گزارش کردند (۲۲).

یخچالی و مرادی (۲۰۱۱) تعدادی دام آلوده به کیست هیداتید را مورد مطالعه قرار دادند. یافته‌های ملکولی براساس توالی نوکلئوتیدی ژن nad-1 نشان داد، تمامی نمونه‌های با منشأ نشخوارکنندگان و سگ (میزبان اصلی) الگوی RFLP مشابه داشتند که متعلق

1-McManus & Thompson
2-Zhang et al
3-Utuk et al

انگل در کیست‌های هیداتید جراحی شده از انسان انجام شود. در صورت تأیید نقش ژنوتیپ G1 در آلودگی انسانی این منطقه از کشور می‌توان در خصوص نکات مطرح در پیشگیری، کنترل و در مواردی تهیه واکسن‌های نو ترکیب متناسب برای سیستمیک اکینوкокوزیس انسان و دام اقدامات مؤثرتری انجام داده و گام‌های عملی مفیدی در جهت مبارزه و قطع کامل چرخه زندگی انگل در بین انسان، نشخوارکنندگان و گوشتخواران منطقه برداشت.

تقدیر و تشکر

از معاون پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد جهرم و همکاران آن واحد و هم‌چنین از مسئولین و کارکنان کشتارگاه صنعتی یاسوج که در انجام این مطالعه همکاری داشتند، قدردانی می‌شود.

به سویه گوسفندی (G1) بودند. نتایج این مطالعه نشان داد در این منطقه حداقل یک ژنوتیپ از انگل حضور دارد (۱۱). شربت خوری و همکاران (۲۰۱۰) در تحقیقی که با عنوان ژنوتیپ‌های اکینوкокوزیس گرانولوزوس در دام‌های ایران و شناسایی فراوانی بالای ژنوتیپ G1 در شترها انجام دادند، مشخص نمودند که ایزوله‌های گوسفند، بز، گاو و به خصوص شتر ۶۶/۷ درصد ژنوتیپ G1 و تعداد کمی از ایزوله‌های شتری ۳۳/۳ درصد به ژنوتیپ G6 تعلق داشتند (۱۸). یوسفی و همکاران (۲۰۰۷) در تحقیقی که با عنوان بررسی ملکولی کیست هیداتید با منشأ گوسفندی در استان چهارمحال و بختیاری انجام دادند، ثابت نمودند که سویه گوسفندی کیست هیداتید غالب در استان چهارمحال و بختیاری ژنوتیپ G1 بود، که مطابق با سویه شایع ایران و جهان است (۱۷).

نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد، سویه غالب انگل اکینوкокوزیس گرانولوزوس در شهر یاسوج همانند سایر نقاط کشور استرین گوسفندی می‌باشد که در آن سگ میزبان اصلی و دام‌ها میزبان واسطه هستند، لذا کنترل بیماری در این دو میزبان می‌تواند انگل اکینوкокوزیس را در منطقه کاهش دهد و در نتیجه انتقال آن به انسان نیز کاهش می‌یابد.

پیشنهاد می‌شود برای پی بردن به نقش ژنوتیپ گوسفندی در بروز آلودگی‌های هیداتیدی انسان مطالعات تکمیلی جامع‌تری با تعیین ژنوتیپ

REFERENCES:

1. Zhang LH, Eslami A, Hosseini S, McManus D. Indication of the presence of two distinct strains of *Echinococcus* in Iran by mitochondrial DNA markers. *Am J Trop Med Hyg* 1998; 59 : 171-17.
2. Jenkins DJ, Roming T, Thompson RCA. Emergence / re-emergence of *Echinococcus* SPP. Aglobal update. *Int J Parasitol* 2005; 35: 1205-19.
3. Ergin S, Saribas S, Yuksel P, Zengin K, Midilli K, Adas G, et al. Genotypic characterization of *Echinococcus granulosus* isolated from human in Turkey. *Afri J of Micr Res* 2010; 4 (7): 551-5.
4. Nakao M, Mc Manus DP, Schantz PM, Craig PS, Ito A. A molecular phylogeny of the genus *Echinococcus* inferred from complete mitochondrial genomes. *Parasitology* 2007; 134: 713-22.
5. McManus DP, Thompson RCA. Molecular epidemiology of cystic echinococcosis. *J of Parasitol* 2003; 127: 37-51.
6. McManus DP, Zhang L, Castrodale LJ, Lee TH, Pearson M and Blair D. Short report: molecular genetic characterization of an unusually severe case of hydatid disease in Alaska caused by the cervid strain of *Echinococcus granulosus*. *Am J Trop Med Hyg* 2002; 67:296-8.
7. Breyer I, Georgieva D, Kurdova R, Gottstein R. *Echinococcus granulosus* strain typing in Bulgaria: the G1 genotype is predominant in intermediate and definitive wild hosts. *Parasitol Res* 2004; 93: 127-30.
8. Romig T, Dinkel A, Mackenstedt U. The present situation of echinococcosis in Europe. *Parasitol Int* 2006; 55: 187-91.
9. Varcasia A, Canu S, Kogkos A, Pipia AP, Scala A, Garippa G, Seimenis A. Preliminary data on diffusion and molecular characterization of cystic echinococcosis in small ruminants in Peloponnesus, Greece. *Parasitol Res* 2007; 101: 1135-9.
10. Busi M, Snabel V, Varcasia A, Garippa G, Perrone V, De Liberato C, D'Amelio S. Genetic variation within and between G1 and G3 genotypes of *Echinococcus granulosus* in Italy revealed by multilocus DNA sequencing. *Vet Parasitol* 2007; 150: 75-83.
11. Yakhghaly M, Mardani K. Study on strain variation of *Echinococcus granulosus* in domestic life cycle by amplification of *nda-1* gene by PCR-RFLP. *Irn j Vet* 2011; 7(1): 63-8.
12. Dinkel A, Njoroge EM, Zimmermann A, Wälz M, Zeyhle E and Elmahdi IE. A PCR system for detection of species and genotypes of the *Echinococcus granulosus*-complex, with reference to the epidemiological situation in eastern Africa. *Int J Parasitol* 2004; 34: 645-53.
13. Kamenetzky L, Gutierrez AM, Canova SG, Haag KL, Guarnera EA, Parra A. Several strains of *Echinococcus granulosus* infect livestock and humans in Argentina. *J infect Gen Evol* 2002; 2: 129-36.
14. Moshfe A, Molavi Gh, Mobedi I, Askarian Sh, Bagheri M, Mohammadi R, et al. Infection situation of *Echinococcus granulosus* in different host in Yasuj. *Armaghane Danesh* 2007; 12(1): 15-6.
15. Sarkari B, Naghmachi M, Azimi S, Vaezi M, Ebrahimi S. Human cystic *Echinococcus* in Yasuj: (a survey of ten years hospital records. *Armaghane Danesh* 2007; 12(47):127-34.
16. Nikrooz L, Roozitalab M, Hossaini M, Naghizadeh MM, Azimi S. Comparison of initial and final diagnosis of hydatid cyst in patients hospitalized at Shahid Beheshti hospital during the years 2001-2006.
17. Yoosefi H, Hashemzadeh M, Aliyari Z. Molecular study of hydatid cyst (sheep strain) in Chaahrmohal va Bakhteyari by PCR-RFLP. *J Shahrkord Uni* 2007; 9(2): 28-33.
18. Sharbatkhori M, Mirhendi H, Fasihi Harandi M, Rezaeian M, Mohebbali M, Eshraghian M, Rahimi H, Beigom Kia E. *Echinococcus granulosus* genotypes in livestock of Iran indicating high frequency of G1 genotype in camels. *Exp parasitol* 2010; 124: 373-9.
19. Hop M, Bowles J, McManus DP. Reconsideration of the *Echinococcus granulosus* strain in Australia following RFLP analysis of cystic material. *Int J Parasitol* 1997; 21(4): 471-5.
20. Bowles J, Mc Manus DP. NaDH dehydrogenase I gene sequences compared for species and strains of the genus *Echinococcus*. *Int j parasitol* 1993; 23: 969-72.
21. Utuk AE, Simsek S, Koroglu E, McManus DP. Molecular genetic characterization of different isolates of *Echinococcus granulosus* in east and south east regions of Turkey. *Acta Tropica* 2008; 107: 192-4.
22. Varcasia A, Canu S, Lightowlers MW, Scala A and Garippa G. Molecular characterization of *Echinococcus granulosus* strains in Sardinia. *Parasitol Res* 2006; 98: 273-7.
23. Ahmadi N, Dalimi A. Characterization of *Echinococcus granulosus* isolates from human, sheep and camel in Iran. *Infect Gen Evol* 2006; 6: 85-90.

24. Jamali R, Ghazanchaei A, Asgharzadeh M. Identification and characterization of *Echinococcus granulosus* by PCR-RFLP technique in Tabriz district. *J Parasitic Dis* 2004; 28(2): 69-72.
25. Fasihi Harandi M, Hobbs RP, Adams PJ, Mobedi I, Morgan-Ryan UM, Thompson RCA. Molecular and morphological characterization of *Echinococcus granulosus* of human and animal origin in Iran. *Parasitology* 2002; 125: 367-373.

Archive of SID

Characterization of Isolated Hydatid Cyst from Slaughtered Livestock in Yasuj Industrial Slaughterhouse by PCR-RFLP

Sadri A¹, Moshfe A^{2*}, Doosti A³, Ansari H¹, Abidi H⁴, Ghorbani Dalini S¹

¹Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, Jahrom Azad University, Jahrom, Iran, ² Cellular & Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran, ³Department of Biotechnology, Shahrkord Azad University, Shahrkord, Iran, ⁴ Department of Laboratory Sciences, Faculty of Paramedicine, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran,

Received: 18 Nov 2012 Accepted: 13 Feb 2012

Abstract

Background & aim: Given the existence of 10 different genotypes of the parasite *Echinococcus granulosus* from different hosts and intermediate and final impact of these genotypes in the life cycle of the parasite and its transmission to humans, the purpose of this study was to determine the molecular characterization of isolates of hydatid cysts in industrial slaughterhouses of Yasuj city.

Methods: In this study, 93 animal isolates (56 goat, 31 sheep and 6 cattle) were collected from the industrial slaughterhouse of Yasuj city. The genomic DNA corresponding to protoscolices was extracted, using the standard Phenol-Chloroform method. The fragment of DNA-ITS1 of each sample was assessed by PCR with designed primers of EgF, EgR and then amplified. Moreover, the PCR products were assessed by electrophoresis and digested by the Alu I and Rsa I enzymes. RFLP products were evaluated by electrophoresis.

Results: Using a PCR test, rDNA-ITS1 of all isolates of similar size bands and 1000 bp were obtained respectively. The patterns generated by RFLP using Alu I and Rsa I enzymes, showed *Echinococcus granulosus* G1 genotype in all isolates.

Conclusion: This study showed that strain G1 is the predominant strain causing hydatid cysts in different organs of the animal in Yasuj.

Key words: *Echinococcus granulosus*, rDNA-ITS1, PCR-RFLP

*Corresponding Author: Moshfe A, Cellular & Molecular Research Center, Yasuj University of Medical Sciences, Yasuj, Iran
Email: amoshfea@yahoo.com