خلاصه

مقدمه: جنس ساركوسيستيس از شاخه اپي‌كمپلكسا بوده و يك كوكسيدي هتروگزنوز اجباري است. تاكنون حدود ۱۳۰ گونه از آن شناسايي شده است كه از كوكسيدياهاي داخل سلولي تشكيل دهنده كيست با چرخه زندگي و بيماريزايي متفاوت مي‌باشند و توانايي ايجاد عفونت در پستانداران، پرندگان و خزندگان را دارند. به بيماري حاصل از آلودگي با اين گونه‌هاي انگلي ساركوسيستوزيس گفته مي‌شود.

در اين مطالعه عضلات قلب، مري و ديافراگم از ۱۲۰ گوسفند كشته شده در كشتارگاه اردبيل جمع‌آوري شد و وجود گونه‌هاي ساركوسيستيس با استفاده از روش‌هاي گسترش مهري و هضم بافتي و روشPCR-RFLP تعيين گرديد.

روش كار و مواد: مجموعاً ۱۲۰ نمونه بافتي از عضلات قلب، مري و ديافراگم جمع‌آوري شد كه ۶۰ نمونه آن حاوي كيست‌هاي ميكروسكوپي و ۶۰ نمونه آن حاوي كيست‌هاي ماكروسكوپي بود. كيست‌هاي ميكروسكوپي با تهيه گسترش مستقيم بافتي (گسترش مهري) از نمونه‌ها و سپس رنگ‌آميزي آنها به وسيله‌ي رنگ گيمسا ونيز با استفاده از روش هضم نمونه‌ها به وسيله‌ي پپسين و در نهايت سانتريفيوژ و تهيه گسترش از رسوب و رنگ‌آميزي آن با رنگ گيمسا تشخيص داده شد. تخليص نمونه هاي DNA با استفاده ازكيت صورت گرفت. شرايط PCR براي تكثير قطعه 18srRNA با استفاده از پرايمر اختصاصي بهينه شد. براي بررسي اختصاصي بودن آغازگرها، نمونه‌هاي DNA نئوسپورا و توكسوپلاسما هم در كنار نمونه‌هاي ساركوسيستيس تحت مطالعه قرار گرفت. براي تعيين گونه ساركوسيست‌هاي تحت مطالعه، با توجه به موقعيت محلِ برشِ آنزيم‌هاي برش دهنده، آنزيم هاي TaqI، AvaI و EcoRI انتخاب شدند.

نتايج: كيستهاي ميكروسكوپي در۴۱/۶ درصد گسترشهاي بافتي و در ۱۰۰درصد هضم بافتي مشاهده شدند. ارزيابي PCR-RFLP نشان داد كه كيستهاي ماكروسكوپي متعلق به ساركوسيستيس ژيگانته آ وكيستهاي ميكروسكوپي متعلق به ساركوسيستيس آريتيكنيس و ساركوسيستيس تنلا است.

يافته ها: اين مطالعه نشان داد كه روش PCR-RFLP با استفاده از پرايمر اختصاصي و آنزيمهاي برش دهنده روشي آسان و سريع براي جداسازي گونههاي ساركوسيستيس متعلق به كيست-هاي ماكروسكوپي و ميكروسكوپي است.

كلمات كليدي: ساركوسيستيس، PCR-RFLP، گوسفند، اردبيل

Identification of sarcocystis species among slaughtered sheep using PCR-RFLP analysis in Ardabil,Iran

Abstract

Background: Sarcocystis is an intracellular protozoan parasite in the phylum Apicomplexa. Various species of this parasite infect mammals, reptiles and birds. In the present work it was detected that there are sarcocystis species among slaughtered sheep in Ardabil.

Methods: Oesophagus,diaphragm and heart muscles of 120 sheep were collected from Ardabil slaughterhous as a sample(60 macroscopic and 60 microscopic sarcocystis).Microscopic cysts was determined using direct tissue impression smears and sediment smears of digested samples by pepsin and staining them by Giemsa stain for observing bradyzoite of sarcocystis.DNA was extracted using the genomic DNA extraction Kit and PCR-RFLP was utilized for all the samples.

Result: As a result of this study, microscopic cysts was observed in 41.6% of impression smears and 100% of tissue digestions. Utilizing PCR-RFLP method, the researchers found that there are Sarcocystis gigantea in 100% of the macroscopic cysts, Sarcocystis tenella in 95% and Sarcocystis arieticanis in 5% of the microscopic cysts.

Conclusion: This research concludes that PCR-RFLP method and using specific primers, TaqI, AvaI, EcoRI enzymes are easy and rapid methods for isolating Sarcocystis species belonged to macroscopic and microscopic cysts.

keywords: Sarcocystis, PCR-RFLP, Sheep, Iran