مجله دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی
تابستان ۱۳۹۳؛۶(۲):۳۴۵-۳۳۹

Journal of North Khorasan University of Medical Sciences
Summer2014;6(2): 339-345

مقاله پژوهشی

بررسی شیوع و ژنوتایپینگ انگل سارکوسیستیس در گوسفندان استان خراسان شمالی

میترا صالحی[۱]، پژمان بهاری[۲]، کامبیزجاویدی[۳]، مجید غفوری[۴]، محسن سید آبادی[۵]*

[۱]استاد یار انگل شناسی، مرکز بیماریهای منتقله بوسیله ناقلین، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۲]متخصص میکروبیولوژی دامپزشکی،آزمایشگاه تخصصی اداره کل دامپزشکی خراسان شمالی،شیروان، ایران
[۳]متخصص پاتولوژی،آزمایشگاه تشخیص پاتوبیولوژی،شیروان، ایران
[۴]متخصص عفونی، استادیار دانشکده پزشکی، مرکز بیماریهای منتقله بوسیله ناقلین، دانشگاه علوم پزشکی خراسان شمالی، بجنورد، ایران
[۵]کارشناس ارشد انگل شناسی دامپزشکی، آزمایشگاه تخصصی اداره کل دامپزشکی خراسان شمالی،شیروان، ایران
***نویسنده مسئول:** آزمایشگاه تخصصی اداره کل دامپزشکی خراسان شمالی،شیروان، ایران
پست الکترونیک:m.baran64@gmail.com

وصول: ۹۲/۱۱/۸ اصلاح: ۹۳/۱/۱۹ پذیرش:۹۳/۳/۵

چکیده

زمینه و هدف: *سارکوسیستوزیس بوسیله گونه های انگل سارکوسیستیس که یک انگل داخل سلولی از شاخه اپی کمپلکسها است، ایجاد می گردد. بیشتر از یک صد گونه سارکوسیستیس می تواند حیوانات اهلی و وحشی را آلوده کند. این انگل برای حیوانات از قبیل گاو وگوسفند بیماریزاست و همچنین موجب علائم گوارشی در انسان می گردد. هدف از مطالعه حاضر تعیین شیوع و ژنوتایپینگ استرین های سارکوسیستیس در استان خراسان شمالی بود.*

مواد و روش کار: *در این مطالعه ۳۲۰ نمونه کبد، دیافراگم، قلب، عضله از ۸۰ گوسفند (۴۰ نر و ۴۰ ماده) جمع آوری شد. مطالعه هیستولوژی برای یافتن سارکوکیست انجام گرفت. به علاوه بر این برای مشاهده برادی زوئیت سارکوسیستیس، ۷۰ گرم از هر بافت بوسیله روش هضم بافتی، هضم و آنالیز PCR بر روی همه نمونه ها انجام شد. سکوانسینگ بر روی ۱۲ محصول PCR صورت گرفت. تعیین ژنوتایپ با استفاده برنامه بلاست و آنالیز هومولوژی بر ناحیه 18srRNA انجام، و آنالیز نتایج بوسیله نرم افزار SPSS 16 صورت گرفت.*

یافته ها: *با روش هیستولوژی سارکوکیست ها مشاهده شدند. روش هضم بافتی نیز نشان داد که همه نمونه ها (۱۰۰ درصد) به برادی زوئیت سارکوسیستیس آلوده هستند. ژنوتایپینگ ۱۲ نمونه ثابت کرد که ژنوتایپ سارکوسیستیس به گونه های سارکوسیستیس تنلا (۷۵درصد)، سارکوسیستیس ژیگانته آ (۱۶/۶۶ درصد) و سارکوسیستیس مولئی (۸/۳۳ درصد)تعلق دارد.*

نتیجه گیری: *شیوع عفونت سارکوسیستیس در بافت گوسفندان در استان خراسان شمالی بالا است. علاوه براین سارکوسیستیس تنلا و سارکوسیستیس ژیگانته آ و سارکوسیستیس مولئی برای اولین بار از این استان گزارش شدند و سارکوسیستیس تنلا بیشترین گونه در این ناحیه بوده است.*

واژه های کلیدی: سارکوسیستیس ،ژنوتایپینگ، گوسفند، خراسان شمالی

مقدمه

سارکوسیستیس یکی از انگل های زئونوز بوده که آلودگی با شیوع بالا از سراسر دنیا گزارش شده است. این انگل علاوه بر انسان تعداد زیادی از حیوانات را آلوده می سازد [۱]. گونه های سارکوسیستیس دارای چرخه زندگی کوکسیدیا شامل مروگونی، گامتوگونی واسپروگونی است [۲]. در چرخه زندگی این انگل دومیزبان نهایی و واسط با دو مرحله جنسی و غیرجنسی وجود دارد. مرحله جنسی در سلولهای اپیتلیال میزبان نهایی و مرحله غیر جنسی در بافت های میزبان واسط انجام می گیرد [۳]. تمامی گونه های سارکوسیستیس برای میزبانان واسط بیماریزا نیستند و اغلب گونه های منتقله از طریق سگ سانان بیماریزاتر از سایر گونه هاست. سیستم ایمنی میزبان و شدت عفونت دو فاکتور مهم برای توسعه علائم کلینیکی است. علائم

کلینیکی گوسفند آلوده به سارکوسیستیس تنلا شامل تب، تهوع، تاکی کاردی، کمخونی و هپاتیت می باشد و در نهایت این گونه موجب سقط جنین در گوسفندهای آبستن و یا حتی مرگ حیوان در طی ابتلا به سارکوسیستوزیس حاد می‌شودودرطول سارکوسیستوزیس مزمن کاهش وزن، کاهش شیر و پشم ایجاد شده و باعث خسارات اقتصادی قابل توجهی در صنعت دامداری می شود [۴،۵،۶].

مطالعات در مناطق مختلف جهان نشان می دهد که شیوع عفونت ساکوسیستیس در گاو و گوسفندان کشتارشده بالا می باشد [۷،۸،۹،۱۰]. مطالعات در ایران نشان داده است که عفونت سارکوسیستیس در گاو و گوسفندان از شیوع بالایی برخوردار است [۱۱،۱۲،۱۳،۱۴،۱۵]. مطالعات محققین در کرمان و یزد نشان داده است که ۱۰۰ در صد حیوانات به سارکوسیستیس آلوده می باشد [۱۴،۱۶،۱۷]. در دنیا گونه های مختلفی از سارکوسیستیس از حیوانات جدا شده است [۱۸،۱۹]. در مطالعه ای که در برزیل انجام شده است، سارکوسیستیس تنلا را از گوسفندان جدا کرده اند [۱۸]. در مطالعه دیگر، سارکوسیستیس مولئی از گوزن شمالی گزارش شده است [۱۹]. نورانی نیز سارکوسیستیس هومینیس را از گاو جدا کرد [۱۲]. همچنین دلیمی سارکوسیستیس ژیگانته آ، و سارکوسیستیس آرتی کنیس را از گوسفندان گزارش کرده است [۱۳]. شهبازی نیز در استان آذربایجان شرقی سارکوسیستیس تنلا را از گوسفندان جدا کرد [۲۰].

گوسفندان میزبان واسط بعضی از گونه های سارکوسیستیس همچون تنلا و سارکوسیستیس ژیگانته آ می باشد [۲۱]. سارکوسیستیس تنلا و سارکوسیستیس ژیگانته آ دارای انتشار جهانی است [۱۷،۲۰،۲۱]. سارکوسیستیس ژیگانته آ غیر بیماریزا و به وسیله گربه منتقل می شود، همچنین سارکوسیستیس تنلا بوسیله سگ منتقل شده و بیماریزا می باشد و سارکوسیستیس تنلا موجب خسارت های اقتصادی فراوان در شغل دامپروری می شود [۲۱].

محققان سارکوسیستیس را در استان های مختلف گزارش کرده اند از آنجاییکه هیچ اطلاعاتی در مورد شیوع و ژنوتایپینگ این انگل در استان خراسان شمالی در دسترس نیست هدف از مطالعه حاضر، بررسی شیوع و ژنوتایپینگ سارکوسیستیس در این منطقه می باشد.

روش کار

روش نمونه گیری

در یک مطالعه توصیفی در مدت ۸ ماه از آذرماه ۱۳۹۱ تا تیرماه ۱۳۹۲، ۳۲۰ نمونه از قلب (۸۰)، کبد (۸۰)، دیافراگم (۸۰) و عضله (۸۰) از ۸۰ گوسفند کشتار شده (۴۰ نر و ۴۰ ماده) از کشتارگاههای استان خراسان شمالی جمع آوری گردید. سن گوسفندان ۳ ماه تا ۳ سال بود.

روش هیستولوژی:

روش هیستولوژی برای مشاهده سارکوکیست انتخاب شد. نمونه ها در فرمالین ۱۰درصد فیکس، سپس بلوک پارافین تهیه گردید و متعاقباً برش ۵-۴ میکرون تهیه و رنگ آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین انجام گرفت و سپس اسلاید ها با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ برای تعیین سارکوکیست بررسی، و عکس ها با دوربین Olympus تهیه شدند.

روش هضم بافتی:

روش هضم بافتی برای مشاهده برادی زوئیت در نمونه های بافتی استفاده گردید. ۷۰ گرم از هر بافت خرد و با اسیدکلریدریک ۱/۵ درصد و پپسین ۰/۵درصد در دمای ۲۹ درجه سانتی گراد هضم شدند. نمونه های هضم شده بوسیله توری فیلتر، و با دور ۱۵۰۰rpm به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند، سپس محلول رویی دور ریخته، و رسوب آنها با گیمسا رنگ آمیزی شدند، و اسلاید ها با میکروسکوپ نوری با بزرگنمایی ۱۰۰ برای مشاهده برادی زوئیت بررسی گردیدند.

استخراج DNA و انجام آنالیز مولکولی:

استخراج DNA بافتها، با کمک کیت استخراج DNA (سیناژن) انجام پذیرفت. DNA استخراج شده به نسبت ۱:۵۰ با آب مقطر رقیق شد و مقدار جذب آن در طول موج۲۸۰ و ۲۶۰ نانومتر به وسیله UV visible spectrophotometer بدست آمد. سپس جهت تایید شناسایی سارکوسیستیس واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) مورد استفاده قرار گرفت. در این روش ناحیه ای از ژنوم سارکوسیستیس که زیر واحد کوچک 18s rRNA را کد می کند با پرایمر اختصاصی (جدول ۱)تکثیر گردید.

جدول ۱: ترادف زوج پرایمر های مورد استفاده در تکثیر ژنوم سارکوسیستیس

نام پرایمر	ترادف از '5به'3	طول پرایمر جفت باز
Sar-F1	5′-GCACTTGATGAATTCTGGCA-3′	۲۰
Sar-F2	5′- CACCACCCATAGAATCAAG-3′.	۱۹

جدول ۲: درصد ژنوتایپ های سارکوسیستیس در اندام های مختلف گوسفند

کل	سارکوسیستیس مولئی	سارکوسیستیس ژیگانته آ	سارکوسیستیس تنلا	ژنوتایپ عضو
۳	۰	۰	۳(٪۱۰۰)	کبد
۳	۰	۰	۳(٪۱۰۰)	دیافراگم
۳	۱(٪۳۳/۳۳)	۰	۲(٪۶۶/۶۶)	قلب
۳	۰	۲(٪۶۶/۶۶)	۱(٪۳۳/۳۳)	عضله

جدول ۳: ژنوتایپ وشماره های ثبت در بافت گوسفندان

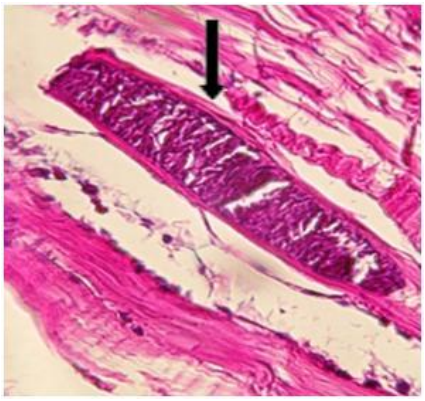
شماره ثبت	ژنوتایپ	شماره نمونه
KF489420	سارکوسیستیس تنلا	کبد
KF489424	سارکوسیستیس تنلا	کبد
KF489428	سارکوسیستیس تنلا	کبد
KF489418	سارکوسیستیس تنلا	دیافراگم
KF489422	سارکوسیستیس تنلا	دیافراگم
KF489426	سارکوسیستیس تنلا	دیافراگم
KF489419	سارکوسیستیس تنلا	قلب
KF489423	سارکوسیستیس مولئی	قلب
KF489427	سارکوسیستیس تنلا	قلب
KF489421	سارکوسیستیس ژیگانته آ	عضله
KF489425	سارکوسیستیس تنلا	عضله
KF489429	سارکوسیستیس ژیگانته آ	عضله

واکنش زنجیره ای پلی مراز (PCR) در حجم ۳۰ میکرولیتری با ترموسایکلر: جدا شدن دو رشته هدف اولیه ۳ دقیقه در ۹۴ درجه سانتی گراد، ۳۵ سیکل با برنامه زیر شامل: جدا شدن دو رشته هدف ۳۵ ثانیه در ۹۵ درجه سانتی گراد، اتصال اختصاصی پرایمر به توالی هدف ۴۵ ثانیه در ۵۶ درجه سانتی گراد، طویل شدن ۱ دقیقه در ۷۲ درجه سانتی گراد و در انتها طویل شدن نهایی ۵ دقیقه در ۷۲درجه سانتی گراد.

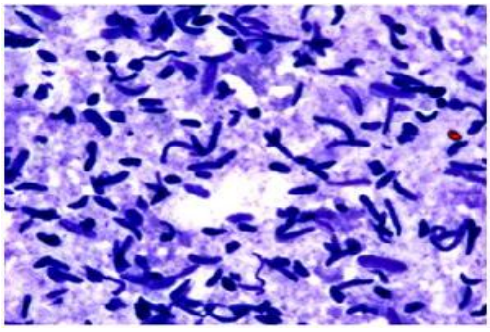
۱۲ محصول PCR (۳ قلب،۳ کبد،۳ دیافراگم،۳ عضله) جهت تعیین ترادف به شرکت پیشگام فرستاده شد و بعد از خالص سازی، توالی ژن ارسال و پس از ویرایش با نرم افزار کروماس، با ژنهای دیگر بر اساس آنالیز ناحیه 18s rRNA در بانک اطلاعات ژنی بررسی و ژنوتایپ آنها مشخص گردید. در نهایت جهت تجزیه و تحلیل داده ها از نرم افزار SPSS 16 استفاده شد.

یافته ها

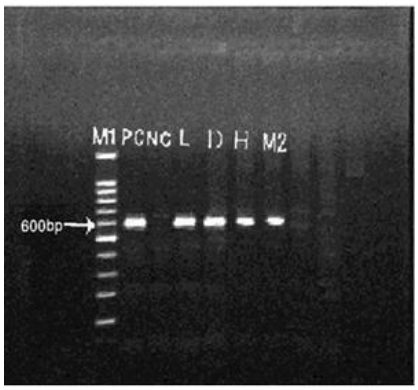
با روش هیستولوژی سارکوکیست ها در بافت ها مشاهده شدند (شکل۱). نتایج بدست آمده از روش هضم بافتی نشان داد که همه نمونه ها به برادی زوئیت سارکوسیستیس آلوده بودند (شکل ۲). با آنالیز PCR باند bp۶۰۰ بر روی ژل آگاروز مشاهده گردید (شکل ۳). نتایج بدست آمده از سکوانسینگ مشخص کرد که ۱۰۰ درصد بافت کبد و دیافراگم دارای ژنوتایپ سارکوسیستیس تنلا و ۶۶/۶۶ درصد و ۳۳/۳۳ درصد بافت قلب به ترتیب دارای ژنوتایپ سارکوسیستیس تنلا و سارکوسیستیس مولئی بودند و همچنین ۶۶/۶۶ و ۳۳/۳۳ درصد بافت عضله به ترتیب مربوط به ژنوتایپ سارکوسیستیس ژیگانته آ و سارکوسیستیس تنلا می باشد. در این مطالعه سارکوسیستیس تنلا، سارکوسیستیس ژیگانته آ و ساکوسیستیس مولئی از گوسفندان جدا شدند. ژنوتایپ و شماره ثبت در ۳ نشان داده شده است.



شکل ۱: کیست سارکوکیست رنگ آمیزی شده با هماتوکسیلین وائوزین در بافت گوسفندان



شکل ۲: برادی زوئیت سارکوسیستیس در بافت گوسفندان



شکل ۳: محصول PCR از DNA استخراج شده از بافت مختلف گوسفندان
Molecular weight marker (100bp):M1
Nc:Negative control
Pc:Positive control
L:کبد
D:دیافراگم
H:قلب
M2:عضله

بحث

در این مطالعه، همه نمونه ها (قلب، کبد، دیافراگم، عضله) به سارکوسیستیس آلوده بودند. انسان ها از طریق خوردن گوشت های حاوی برادی زوئیت به سارکوسیستیس آلوده می شوند. مطالعات در ایران و جهان نشان داده است که چارپایان به این انگل آلوده هستند [۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۲، ۱۳، ۱۵، ۱۷، ۱۹، ۲۲]. مطالعات قبلی در سراسر دنیا نشان داده است که ۱۰۰-۷۰ در صد علف خواران به سارکوسیستیس آلوده بودند [۷،۸،۹،۱۰،۲۳]. بر طبق یک مطالعه ای در اتیوپی ۹۳ درصد گوسفندان به سارکوسیستیس عفونی هستند [۲۳]. در شمال چین هم شیوع عفونت سارکوسیستیس در حیوانات اهلی حدود ۱۰۰درصد گزارش شده است [۲۴]. محققان در ایران در استان های مختلف نشان دادند که شیوع سارکوسیستیس در بافت های حیوانات ۱۰۰درصد می باشد [۱۱،۱۲،۱۳،۱۴،۱۵،۲۰]. رضوی و همکاران که از روش هضم بافتی برای تعیین آلودگی استفاده کرده بودند نیز میزان آلودگی در لاشه های گوسفندان شیراز را ۱۰۰ در صد گزارش کردند [۲۵]. ارشد نیز در مطالعه ای با روش هضم بافتی نشان داد که میزان آلودگی به انگل سارکوسیستیس در دام های کشتارشده در شهر تبریز ۱۰۰ در صد می باشد [۲۶]. در شهر کرمان نیز علفخواران ۱۰۰ درصد به عفونت سارکوسیستیس آلوده بودند [۱۴]. نتیجه به دست آمده در مطالعه حاضر به نتایج مطالعات فوق کاملاً مطابقت دارد. ارجحیت مطالعه حاضر نسبت به مطالعات دیگر این است که علاوه بر روش هضم بافتی از روش هیستولوژی برای نشان دادن سارکوکیست در بافت استفاده شده است. گونه های مختلفی از انگل سارکوسیستیس از دنیا گزارش شده است. دازیلوا[1] در برزیل سارکوسیستیس تنلا را از گوسفندان جدا کرد [۱۸]. الهوست[2] در عربستان

1 -Dasilva
2 -Alhoost

صعودی، سارکوسیستیس مولئی را از گوسفندان گزارش کرده است [۲۷]. در ایران نیز، دیگر محققین گونه مختلفی را جدا کرده اند. نورانی سارکوسیستیس هومینیس را از گاوها جدا کرد [۱۲]. دلیمی نیزدر استان قزوین با کمک روش PCR-RFLP سارکوسیستیس ژیگانته آ و سارکوسیستیس آرتی کنیس از گوسفندان گزارش کرد [۱۳]. کیا در شمال ایران سارکوسیستیس میشریانا را ازگراز ها جدا کرد [۳]. بیشتر محققین با کمک PCR-RFLP گونه های مختلف سارکوسیستیس را شناسایی کرده اند. ولی در این مطالعه مشخص شد، شیوع انگل سارکوسیستیس در بافت گوسفندان بالا بوده و با کمک روش سکوانسینگ گونه های سارکوسیستیس تنلا، سارکوسیستیس ژیگانته آ و سارکوسیستیس مولئی جدا گردیدند، که بیشترین ژنوتایپ بدست آمده مربوط به سارکوسیستیس تنلا می باشد. سارکوسیستیس تنلا برای گوسفندان بیماریزا بوده و موجب بیماری حاد با علائم ائوزینوفیلی، میوزیت، سقط جنین و وتولد زود رس و فلج می شود [۴-۶]. همچنین درسارکوسیستوزیس مزمن انگل سارکوسیستیس موجب کاهش شیر، گوشت و پشم می گردد [۲۱].

در این مطالعه، چرخه زندگی گونه های سارکوسیستیس بدست آمده بین سگ و گربه (میزبان نهایی) و گوسفند (میزبان واسط) است. از آنجایی که شغل دامپروری در استان خراسان شمالی به عنوان یکی از مشاغل اصلی در این منطقه محسوب شده و تعداد سگ گله و ولگرد در این ناحیه فراوان است، بنابراین سیکل زندگی این گونه های سارکوسیستیس تکرار می شود، بنابراین باید گوشت های آلوده دور از دسترس سگها قرار گرفته و گوسفندهای آلوده درمان گردند.

نتیجه گیری

شیوع عفونت سارکوسیستیس در بافت گوسفندان در استان خراسان شمالی بالا می باشد. علاوه براین سارکوسیستیس تنلا و سارکوسیستیس ژیگانته آ وسارکوسیستیس مولئی برای اولین بار در این استان گزارش گردیده است .

تشکر و قدردانی

کد طرح ۵۶۱/پ/۹۱بوده و از طرف مرکز بیماریهای منتطقه بوسیله مورد تصویب قرار گرفته است و از همه همکاران که در این طرح با ما همکاری داشته اند کمال تشکر و قدر دانی را دارم.

References

1. Dubey JP, Speer CA, Fayer R, Sarcocystosis of Animals and Man, Boca Raton1989:166-170.
2. Tenter AS, Current research on Sarcocystis spp, of domestic animals, Int J. Parasitol1995; 25:1311-1330.
3. Kia EB, Mirhendi H, Rezaeian M, Zahabiun F, Sharbatkhori M, First molecular identification of Sarcocystis miescheraina (Protozoa, Apicomplexa) from wild boar (Susscrofa) in Iran, Exp Parasitol 2011;127(3):724-726[Persian]
4. Beyazit A, Yazicioglu O, KaraerZ, The prevalence of ovine Sarcocystis species in Izmir province, Ankara,Univ Vet 2007; 54:111-116.
5. Dubey JP, (1990), Neospora caninum: a look at a new Toxoplasma-like parasite of dogs and other animals: Compend. Contin, Educ Pract Vet1990; 12:653-663.
6. Henderson JM, Dies KH, Haines DM, Higgs GW, Ayroud M, Neurological sympt oms associated with sarcocystosis in adult sheep, Can Vet J 1997; 38:168-170.
7. Britt DP , Baker JR, Causes of death and illness in the native sheep of North Ronaldsay, Orkney. I. Adult sheep, Br Vet J1990; 146: 129-142.
8. More G, Abrahamovich P, Jurado S, Bacigalupe D , Marin JC, Prevalence of Sarcocystis spp. in Argentinean cattle, Vet Parasitol 2011;177: 162-165.
9. Pena HF, Ogassawara S , Sinhorini IL, Occurrence of cattle Sarcocystis spp. in raw kibbe from Arabian establishments in the city of Sao Paolo, Brazil and experimental transmission to humans, J Parasitol 2001; 87: 1459-1465.
10.Pereira A , Bermejo M, Prevalence of Sarcocystis cysts in pigs and sheep in Spain, Vet Parasitol 1988; 27: 353-355.

11.Oryan A, Ahmadi N , Mousavi SM, Prevalence, biology, and distribution pattern of Sarcocystis infection in water buffalo (Bubalus bubalis) in Iran, Trop Anim Health Prod2010; 42: 1513-1518[Persian]
12.Nourani H, Matin S, Nouri A, Azizi H, Prevalence of thin-walled Sarcocystis cruzi and thick-walled Sarcocystis hirsuta or Sarcocystis hominis from cattle in Iran, Trop Anim Health Prod 2010; 42(6): 1225-7[Persian]
13.DalimiAsl A, Paykari H, Smaeilzade M, Valizade M, Karimi G, Motamedi G, Godarzi M, Detection of Sarcocystis spp. of slaughtered sheep in Gazvin Ziaran slaughter house by molecular assay, J modarres Medical Science 2008; 11:65-72 [Persian] .
14.14 - Nourollahi Fard SR, Asghari M, Nouri F, Survey of Sarcocystis infection in slaughtered cattle in Kerman, Iran, Trop Anim Health Prod 2009; 41: 1633-1636[Persian]
15.Valinezhad A, Oryan A, Ahmadi N, Sarcocystis and its complications in camels(Camelus dromedarius) of eastern provinces of Iran, Korean J Parasitol 2008; 46: 229-234[Persian]
16.Borji H, Azizzadeh M, Kamelli M**,** A retrospective study of abattoir condemnation due to parasitic infections: economic importance in Ahwaz, southwestern Iran, J Parasitol 2012;98(5):954-957[Persian]
17.Hamidinejat H, Hekmatimoghaddam H, Jafari H, Sazmand A, Molayan P, Derakhshan L, Mirabdollahi M, Prevalence and distribution patterns of Sarcocystis in camels in Yazd province, Iran, J parasit Dis 2012;25:1-2[Persian]
18.DaSilva RC, Su C, Langoni H, First identification of Sarcocystis ovicanis (Railliet, 1886) Moulé, 1886 (Protozoa: Apicomplexa) by PCR in naturally infected sheep from Brazil, Vet Parasitol 2009; 165(3-4): 332-6.
19.Gjerde M, Ultrastructure of the cysts of Sarcocystis grueneri from cardiac muscle of reindeer (Rangifer tarandus tarandus), Z Parasitenkd.1985;71(2):189-198.
20.Shahbazi A, Asform Sh, Falah S, Khanmohamadi M, nematollahi A, Moharami T, Identification of Sarcocystis ovicanis and Sarcocystis articanis from slaughtered sheep using PCR-RFLP in Tabriz province, J pathobiol 2013;10(2): 959-964. [Persian]
21.Anja R, Tenter A, Comparison of Immunological and molecular methods for diagnosis of Infections with pathogenic Sarcocystis species in sheep, TokaiJ Expclin Med 1999; 23:293-302.
22.Savini G, The epidemiology of Sacocystis in cattle of Western Australia, Epidemiol, Infect 1992**;**108: 107- 113.
23.Woldemeskel M , Gebreab F, Prevalence Sarcocystis in livestock of northwest Ethiopia, Zentralbl Vet 1994; 3: 55-58.
24.Zuo YX, Cocci dia: Coccidia and Coccidiosis of Domestic Animals and Man, Tian Jing Sci entific and Technical Publishing House, China 1992:125.
25.Razavi, SM,Shekarforoush SS, Farahani M, Sarihi K, Prevalence of Sarcocyst in slaughtered sheep in Shiraz, Iran,J. Vet Parasitol 2003; 17:139-41[Persian]
26.Arshad M, Dalimi A, Ghaffari far F, Comparative study on Sarcocystis diagnosis in meat of slaughtered sheep in Tabriz, Pajouhesh& Sazandegi 2007; 75: 68-72[Persian]
27.Al-Hoot AS, Al-Qureishy SA, Al-Rashid K, Bashtar AR, Microscopic study on Sarcocystis moulei from sheep and goats in Saudi Arabia, J Egypt Soc Parasitol 2005; 35(1): 295-312.

Original Article

Survey of prevalence and genotyping of Sarcocystis parasite in sheep of North Khorasan province

SalehiM[1], Bahari P[2], Javidi K[3], Ghafouri M[4], Seedabadi M[5]*

[1]Assistant professor of parasitology, Vector born Disease research Center, North Khorasan University of Medical science, Bojnurd, Iran
[2]Ph.D of veterinary microbiology, professional laboratory in north khorasan Veterinary Office, shirvan, Iran.
[3]Pathologist, pathobiological laboratory, shirvan, Iran
[4]Assistant Professor of Infection disease, Vector born Disease research Center, north Khorasan University of medical scince, Bojnurd, Iran
[5]M.sc of veterinary parasitology, Professional laboratory in north khorasan Veterinary Office, shirvan, Iran.

***Corresponding Author:** Professional laboratory in north khorasan Veterinary Office, shirvan, Iran
Email: m.baran64@gmail.com

Submitted:28 Jan 2014
Revised:8 Apr 2014
Accepted: 26 May 2014

Abstract

Background & Objective: *Sarcocystosis is caused by the genus of Sarcocystis, an intracellular protozoan parasite in the phylum Apicomplexa. More than one hundred species of Sarcocystis can infect domestic and wild animals. This parasite is pathogenic for animals such as cattle and sheep; it also causes gastrointestinal symptoms in humans. The objective of this study was to determine the prevalence and genotyping of Sarcocystis strains in North Khorasan province.*

Materials&Methods: *In this study, 320 samples of liver, diaphragm, heart and muscles were collected from 80 sheep (40 males and 40 females).The histological study was conducted for finding Sarcocyst. Furthermore, for observation of sarcocystis bradyzoite, 70 g of each tissue were digested using tissue digestion. PCR analysis was performed on all samples. Sequencing was done on 12 PCR product. Also, genotyping was carried out by Blast search and the homology analysis on 18 sRNA region. Data were analyzed by SPSS 16 software.*

Results*. Sarcocyts were seen using histological method. Tissue digestion method showed that all samples(100%)were infected with Sarcocystis. Genotyping of 12 samples proved that sarcocystis belonged to Sarcocystis tenella (75%), Sarcocystis moulei (8/33%), and Sarcocystis gigantea (16/66%).*

Conclusion*: The prevalence of Sarcocystis infection was high in the tissues of sheep in North Khorasan province. Moreover, Sarcocystis tenella, Sarcocystis moulei and Sarcocystis gigantea were reported for the first time in this province and Sarcocystis tenella was the most common species.*

Keywords: *Sarcocystis, Genotyping, sheep, North khorasan province*