مجله دامپزشکی ایران

صاحب امتیاز: دانشگاه شهید چمران اهواز
مدیرمسئول : دکتر منصور میاحی

سردبیر
دکتر محمدرحیم حاجی‌حاجیکلائی

کارشناس مجله
منا عباسی

آدرس پستی سردبیر
اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، دانشکده دامپزشکی، سردبیر مجله علمی، کد پستی ۶۱۳۵۵، صندوق پستی ۱۴۵
تلفن و دورنگار: ۳۳۳۳۶۳۱۲ (۰۶۱)
E-mail: ivj@scu.ac.ir

- این مجله به استناد نامه شماره ۳/۲۹۱۰/۵۴۵ مورخ ۸۴/۵/۸ کمیسیون بررسی نشریات وزارت علوم، تحقیقات و فناوری دارای **درجه علمی ـ پژوهشی** می‌باشد.
- این مجله در فهرست نشریات علمی پژوهشی معتبر **ISC** که دارای ضریب تأثیر (**IF**) می‌باشند، قرار دارد. این اعتبار از سوی وزارت علوم، تحقیقات و فناوری تعیین شده است و در آئین‌نامه ارتقای مرتبه علمی دانشگاه‌ها و موسسات آموزشی مورد بهره‌برداری قرار می‌گیرد.
- متن کامل مقالات در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام (**ISC**) قابل دسترسی می‌باشد.

چاپ و صحافی
مرکز منطقه‌ای اطلاع‌رسانی علوم و فناوری و پایگاه استنادی جهان اسلام

بسم الله الرحمن الرحیم

مجله دامپزشکی ایران

فهرست مطالب

عنوان — **صفحه**

گزارش علمی

راهنمای تدوین مقاله جهت چاپ در نشریه دامپزشکی ایران

هدف از انتشـار مجله دامپزشـکی ایران، چاپ مقالات تحقیقاتی ـ پژوهشی در رشته‌های مختلف دامپزشکی، پزشکی، زیست شناسی و دیگر علوم مرتبط با کاربرد علمی و عملی در دامپزشـکی و پزشـکی، می‌باشـد. مقالاتی در این نشریه به چاپ خواهند رسید که حاوی یافته‌های جدید در رشـته‌های تخصـصـی دامپزشـکی باشند. گزارش درمانگاهی (Case report) نیز در این مجله قابل چاپ می‌باشـد. مقالات دریافت شـده پس از بررسی اولیه و داوری توسط متخصصین مربوطه و با تصـویب هیأت تحریریه به چاپ خواهند رسـید. تمام یا قسمتی از مقاله ارسالی نباید قبلاً در نشریه‌ای به چاپ رسـیده و یا اینکه همزمان به نشـریه‌ای دیگر ارسال شده باشد. در صورتیکه مقاله‌ای قبلا در کنگره و یا همایش علمی ارائه شده باشد، مشخصات کامل کنگره یا همایش مربوطه ذکر گردد. این مجله به صـورت فصـل‌نامه سـالانه در چهار شـماره چاپ و منتشر می‌گردد.

مقالات قابل چاپ

الف) مقاله پژوهشی

مقاله پژوهشـی، نتیجه کار پژوهشـی نویسـنده یا نویسـندگان بوده و بترتیب دارای عنوان، خلاصـه فارسـی، کلمات کلیدی، مقدمه، مواد و روش کار، نتایج، بحث، فهرست منابع و خلاصه انگلیسی می‌باشد و نباید از ۱۲ صفحه تجاوز نماید.

ب) مقاله پژوهشی کوتاه

این مقاله از جهت نوع کار و نحوه تدوین همانند مقاله پژوهشی است ولی با توجه به اهمیت و نتایج حاصل از پژوهش، مقاله بصـورت فشـرده و حداکثر در ۶ صـفحه مجله ارائه گردد. همچنین لازم اسـت بترتیب دارای عنوان، خلاصه فارسی، کلمات کلیدی، مقدمه، مواد و روش کار، نتایج، بحث، فهرسـت منابع و خلاصه انگلیسی باشد.

ج) گزارش درمانگاهی

این گزارش‌ها، موارد نادر و آموزنده درمانگاهی و آزمایشگاهی را در بر گرفته و بترتیب دارای عنوان، خلاصه فارسی، کلمات کلیدی، مقدمه، تاریخچه، روش تشخیص، بحث و نتیجه‌گیری، فهرست منابع و خلاصه انگلیسی می‌باشند و نباید از ۴ صفحه مجله تجاوز نمایند.

نکات ضروری جهت تدوین و ارسال مقاله

۱- **عنوان مقاله**، رسـا و در حدامکان مختصـر و در برگیرنده کل مطالب مقاله باشد.

عنوان مقاله، نام و نام خانوادگی نویسنده یا نویسندگان با ذکر رتبه علمی یا دانشـگاهی به دو زبان فارسـی و انگلیسـی همراه با نشـانی کامل پسـتی، شـماره تلفن همراه یا ثابت، دورنما و آدرس الکترونیکی نویسـنده مسئول در صفحه جداگانه‌ای (صفحه اول) درج گردد.

۲- **خلاصه مقاله**: با توجه به این که، مراجعه کنندگان به مقاله، در ابتدا از خلاصه مقاله جهت ارزیابی استفاده می‌کنند، و نظر به این که معمولاً خلا صه مقاله تو سط مراکز و مؤسسات اطلاع رسانی علمی منتشر می‌گردد، لذا این قسمت از مقاله باید دقیق، روان و حداقل ۲۰۰ و حداکثر ۳۰۰ کلمه را در برگرفته و بیان‌گر مسئله، هدف، روش کار، نتایج و نتیجه‌گیری کلی آن تحقیق باشد.

۳- **کلمات کلیدی** به عنوان معرف و راهنمای مقاله محسوب می شوند، حداقل در ۴ و حداکثر در ۸ کلمه از عنوان مقاله، انتخاب و در انتهای خلاصه فارسی آورده شوند.

۴- **مقدمه** در برگیرنده مطالبی در خصوص اهمیت تحقیق و سابقه علمی کار انجام شده می‌باشد.

۵- **مواد و روش کار** شامل شرح دقیق و کامل مواد مصرفی، تعداد، نوع و مشخصات نمونه‌ها، دستگاه‌هایی که اختصاصاً برای انجام پژوهش بکار رفته با ذکر مشخصات کامل آنها و روش اجرای کار می‌باشد. در صورتی که از روش‌های متداول استفاده شده باشد از شرح آنها خودداری و به ذکر مأخذ اکتفا گردد، ولی چنانچه از روش جدیدی استفاده شده باشد، شرح کامل آن روش همراه با ذکر اسامی علمی و منابع تهیه مواد مصرفی ضروری است. روش‌های آماری مورد استفاده به شیوه قابل درک و با استناد به مأخذ معتبر ارائه گردد.

۶- **نتایج** حاصل از تحقیق را می‌توان به صورت **جدول با همه خطوط**، نمودار و تصویر همراه با توضیحات لازم ارائه نمود. تصاویر، جداول و نمودارها باید کاملا روشن و براحتی قابل درک و در عین حال بیانگر واقعی نتایج حاصل از آزمایشات باشند. تصاویر و نمودارهای ارسالی واضح و از ارسال کپی آنها خودداری گردد. محورهای نمودار کاملاً تعریف شده باشد و از ذکر هرگونه توضیحات غیرضروری اجتناب گردد. هر کدام از جداول، نمودارها و تصاویر با شماره در متن مشخص و توضیحات جداول در بالای جدول و توضیحات نمودار ها در زیر نمودار ارائه گردد. کلیه تصاویر، جداول و نمودارها در متن مقاله و در جای مناسب گنجانده شوند. داده‌های ارائه شده در جداول و یا تصاویر نباید در این بخش مورد بحث و تفسیر قرار گیرند. نتایج ارائه شده در جداول نباید به صورت دیگری مانند نمودار و یا متن نوشتاری در مقاله تکرار گردند.

۷- **در قسمت بحث،** نتایج ارائه شده باید مورد تجزیه و تحلیل و تفسیر قرار گیرند و توجه خواننده را به موضوع اصلی تحقیق، فرضیه‌های مطرح شده در بخش مقدمه و نتایج بدست آمده از تحقیق جلب نمایند. در این قسمت می‌توان در مورد روابط بین عوامل تاثیر گذار و یا کاستی های علمی و طرح پیشنهادات و نظرات جدید بحث کرد. حتی‌المقدور موارد اتفاق نظر و یا اختلاف نتایج این تحقیق با تحقیقات انجام شده در این زمینه مورد بررسی قرار گیرد و بالاخره بر کاربردهای علمی و نظری دستاوردهای این تحقیق و استنتاج اساسی از این مطالعه تاکید نموده و از تکرار نتایج خودداری گردد.

۸- **نویســـنده یا نویســـندگان** می‌توانند از کمک‌های دیگران در انجام پژوهش و یا تهیه مقاله بنحو مقتضـی تشکر و قدردانی نمایند. لازم به ذکر است، در صورت برخورداری از حمایت مالی و اســتفاده از وســایل آزمایشگاهی می‌توان محل تحقیق و نام آن مؤسسه و یا افراد مرتبط را ذکر نمود.

۹- **خلاصه انگلیسی** کاملاً مطابق با خلاصه فارسی مقاله باشـــد و حداکثر در ۳۰۰ کلمه ارائه گردد. ذکر مشخصات کامل نویسنده یا نویسندگان همانند بخش فارسی ولی به زبان انگلیسی در صفحه اول، ضروری است.

۱۰- **فهرست منابع** صرفاً شامل کتب و مقالات علمی معتبر می‌باشـد و از پایان‌نامه‌ها، مقالات ارائه شـده در همایش‌ها و کنگره‌های علمی و ســـایت‌های اینترنتی استفاده نگردد.

نحوه درج منابع در متن مقاله

لازم است تمام منابع مورد استفاده در متن مقاله با ذکر نام نویسنده یا نویسندگان به شرح ذیل مورد استفاده قرار گیرند:

در صـــورت ذکر منبع در انتهای پاراگراف مربوطه، روش اشـــاره به آن در انتهای پاراگراف و در **داخل پرانتز** به شکل مثال‌های ذیل می‌باشد:

اگر یک نفر نویسنده باشد، (Mellor 2005)، **اگر دو نفر نویســـنده باشـــند،** (Arthur and Noakes 2011) و **بیش از دو نفر نویسنده،** (Pearson et al. 2012).

در صــورت ذکر منبع در شــروع پاراگراف مربوطه، روش اشــاره به آن در ابتدای پاراگراف و **بدون پرانتز** به شکل مثال‌های ذیل می‌باشد:

اگر دو نفر نویســـنده باشـــند Arthur و Noakes در ســال ۲۰۱۱، گزارش نمودند که . . . و **بیش از دو نفر نویسنده** Peason و همکاران در سال ۲۰۱۲ گزارش نمودند که . . .

نحوه ارائه فهرست منابع

کلیه منابع مورد استفاده در متن مقاله می‌بایست در فهرست منابع آورده شوند.

ضمناً کلیه منابع می‌بایست به زبان انگلیسی در فهرست منابع براساس حروف الفبا و بدون ذکر شماره نگاشته شوند. لازم به ذکر است که در خصوص منابع فارسی معادل انگلیسی آن آورده شده و در انتهای آن در درون پرانتز in persian آورده شود.

استفاده از پایان‌نامه، کنگره، کنفرانس، پروتکل و سایت در منابع قابل قبول نمی‌باشد.

نحوه نوشتن منابع در فهرست منابع مانند مثال‌های زیر است:

1- Arthur, G.H.; Noakes, D.E.; Pearson, H. and Parkinson, T.J. (1996). Veterinary Reproduction and Obstetrics. 7th ed. Saunders , London, Pp: 634-645.

2- Herbert, R.; Nanney, J. and Spano, J.S. (1986). Erythrocyte distribution in ducks. American Journal of Veterinary Research, 50 (2): 958-960.

ضمناً نام مجلات در قسمت منابع به طور کامل نوشته شــود و از ذکر حروف اختصــاری خودداری گردد. در

صــورتی که تعداد نویســندگان مقاله از ۶ نفر بیشــتر باشند بعد از نفر ششم با .et al ختم شود.

در صورتی که منبع، قسمتی از کتاب باشد نام خانوادگی نویسنده یا نویسندگان آن فصل کتاب همراه با حروف اول اسم، عنوان فصل، عنوان کتاب، نام خانوادگی نویسنده یا نویسندگان کتاب همراه با حروف اول اسم نویسنده، سال انتشار، شماره چاپ کتاب، محل انتشار کتاب و شماره صفحات ذکر گردد، مثال:

Macneely, M. Renal function. In: Gonnenwirth, A. and Jarret, L. (1988). Clinical Laboratory Methods and Diagnosis. 8th ed. London, Mosby, Pp: 504-509.

ارسال مقاله

مقالات از طریق ســـامانه الکترونیکی مجله به آدرس http//www.ivj.ir ارسال گردد.

مسئولیت مقاله

مســئولیت علمی و اخلاقی مقاله بر عهده نویســنده یا نویسندگان آن می‌باشد.

ارسال مقاله چاپ شده (Reprint)

به تعداد نویسندگان از مقاله چاپ شده برای نویسنده اول جهت توزیع بین دیگر نویســندگان مقاله، توســط پایگاه اســتنادی علوم جهان اســلام (ISC) ارســال می‌گردد.

قابل توجه همکاران محترم

با توجه به این که نشــریه دامپزشــکی ایران براســاس مصــوبه هیأت تحریریه مورخ ۱۳۹۸/۲/۱۸ تصــمیم دارد که یک شماره در سال را به زبان انگلیسی منتشر نماید، لذا جهت آگاهی از نحوه تنظیم و ارسال مقاله به زبان انگلیسی خواهشمند است به قسمت Guide for Authors در سایت نشریه به آدرس www.ivj.ir ، مراجعه نمایید.

DOI: 10.22055/IVJ.2020.225021.2245
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.1.5

بررسی باکتریولوژیک ضایعات کبدی و قلبی در تلفات طیور صنعتی

زلیخا آتابای[۱]، سیدمصطفی پیغمبری[۲*]، سیداحمد مدنی[۳] و اعظم یزدانی[۴]

[۱] دانش‌آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۲] استاد گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۳] استادیار گروه بهداشت و تغذیه دام و طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[۴] کارشناس ارشد گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱۰

چکیده

هدف از این مطالعه بررسی باکتریولوژیک ضایعات کبد و قلب در تلفات طیور صنعتی و بررسی نقش و میزان وقوع عفونت‌های باکتریال غیر از *اشریشیاکلای* در گله‌های طیور صنعتی و تعیین الگوهای حساسیت جدایه‌های حاصل بود. از خون قلب و سطح احشایی کبد ۶۱۴ لاشه تلف شده از ۱۵۰ گله (۱۱۸ گله گوشتی، ۱۴ گله تخم‌گذار، ۱۲ گله بوقلمون، ۲ گله مادر، ۲ گله بلدرچین و ۲ گله کبک) از ۱۸ استان کشور نمونه‌گیری انجام شد. جدایه‌ها بر اساس روش‌های رایج میکروبیولوژیک در حد جنس و گونه طبقه‌بندی شد. از ۴۸۴ جدایه حاصل، ۳۸۲ جدایه (۷۸/۹۲) *اشریشیاکلای*، ۳۷ جدایه (۷/۶۴ درصد) *سالمونلا*، ۱۸ جدایه (۳/۷۱ درصد) *پروتئوس*، ۱۷ جدایه (۳/۵۱ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۹ جدایه (۱/۸۵ درصد) *استرپتوکوکوس*، ۷ جدایه (۱/۴۴ درصد) *سودوموناس آئروجینوزا*، ۶ جدایه (۱/۲۳ درصد) *کلبسیلا*، ۵ جدایه (۱/۰۳ درصد) *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و ۴ جدایه (۰/۷۱ درصد) *استافیلوکوک*‌های کوآگولاز منفی بود و از ۱۶۵ مورد هیچ جرم باکتریایی جدا نشد. از یک گله بوقلمون در سن ۷ روزگی *سالمونلا* جداسازی شد. آزمایش تعیین حساسیت دارویی برای ۱۰۰ جدایه *اشریشیاکلای* از گله‌های گوشتی، ۲ جدایه *اشریشیاکلای* از گله بلدرچین و ۳۰ جدایه *سالمونلا* انجام شد. تعداد ۵۶ الگوی مقاومت در بین جدایه‌های *اشریشیاکلای* گله‌های گوشتی مشاهده شد بیشترین مقاومت دارویی جدایه‌ها به داکسی‌سایکلین، فلومکوئین، تتراسایکلین و انروفلوکساسین مشاهده شد. در ۳۰ جدایه *سالمونلا*، ۱۷ الگوی مقاومتی مشاهده شد و بالاترین میزان مقاومت دارویی به آمپی‌سیلین و نالیدیکسیک اسید مشاهده شد. همه‌ی جدایه‌های سالمونلا متعلق به گروه سرمی D بودند. نتایج نشان داد *اشریشیاکلای* مهم‌ترین عاملی است که از ضایعات کبد و قلب جدا می‌شود ولی به سایر عوامل باکتریایی نیز باید توجه شود. الگوی مقاومت داروئی جدایه حتی مربوط به یک واحد مرغداری متنوع بودند لذا آزمون تعیین حساسیت دارویی پیش از تجویز آنتی‌باکتریال‌ها ضروری است.

کلمات کلیدی: *اشریشیاکلای*، *سالمونلا*، کبد، قلب، مقاومت دارویی

مقدمه

افزایش رشد صنعت طیور در نتیجه‌ی به کارگیری روش‌های تولید متراکم و فن‌آوری جدید، حساسیت پرندگان به بیماری‌های واگیردار از جمله بیماری‌های باکتریایی را افزایش داده که این موضوع همه ساله خسارات

*نویسنده مسئول : سیدمصطفی پیغمبری، استاد گروه بیماری‌های طیور، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
E-mail: mpeigham@ut.ac.ir

اقتصادی قابل توجهی را به صنعت پرورش طیور جهان و ایران وارد می‌کند. کاهش سودآوری به واسطه‌ی عفونت‌های باکتریایی می‌تواند تمام مراحل تولید از جوجه‌کشی تا فرآوری تولید را در برگیرد. عقب‌ماندگی رشد، افزایش مرگ و میر و کاهش تولید میزان قابل توجهی از سوددهی را تحت تأثیر قرار می‌دهد. به علت تفاوت حدت باکتری‌های مختلف و همکاری مشترک این میکروارگانیسم‌ها با پاتوژن‌های دیگر و عوامل استرس‌زای محیطی، ارزیابی دقیق خسارات ناشی از بیماری‌های باکتریایی دشوار است (Swayne et al. 2020). بدون شک کبد و قلب از مهمترین ارگان‌های حیاتی بدن پرندگان محسوب می‌شوند که وقوع نارسایی در این ارگان‌ها از جمله عوامل بروز تلفات در پرندگان است. علاوه بر ضایعات پریکاردیت و پری‌هپاتیت که در اکثر موارد با عفونت‌های کلی‌فرمی همراه هستند، ضایعات سپتیک دیگر مانند انفارکتوس کبدی، هپاتیت همراه با نکروز سرسوزنی کانونی و اندوکاردیت وجتاتیو که بر اساس منابع موجود اکثراً در اثر عفونت با سایر اجرام باکتریایی اتفاق می‌افتند، در تلفات ارجاعی از گله‌های صنعتی دیده می‌شوند (Swayne et al. 2020). لذا به نظر می‌رسد بررسی دقیق‌تر ضایعات کبدی و قلبی عفونی در تلفات طیور صنعتی و حتی بومی، برای شناسایی عوامل اصلی و اجرام مسبب این ضایعات از نظر کاربردی بسیار با اهمیت باشد. کبد پرندگان اولین عضوی است که حین کالبدگشایی، مقابل دیدگان دامپزشک قرار می‌گیرد، همچنین این عضو از بزرگترین اعضای حفره‌ی سلومی پرندگان محسوب می‌شود. انفارکتوس کبدی، پری‌هپاتیت، هپاتیت نکروتیک و غیرنکروتیک به شکل حاد یا مزمن، هپاتوز و کلانژیوهپاتیت از جمله ضایعاتی هستند که توسط باکتری‌های مختلف در کبد ایجاد می‌شوند. باکتری‌های متعددی مانند انواع *سالمونلا* (Gast and Porter 2020)، *اشریشیا کلای* (Nolan et al. 2020)، *پاستورلا مولتوسیدا* (Blackall and Hofacre 2020)، کلستریدیوم‌ها (Boulianne et al. 2020) و بعضی دیگر باکتری‌ها (Abdul-Aziz 2020) می‌توانند موجب ضایعات کبدی شوند.

مقاومت باکتری‌ها به ترکیبات آنتی‌باکتریال که به طور عمده در نتیجه‌ی مصرف بی‌رویه و نادرست این ترکیبات می‌باشد، خطری جدی برای صنعت طیور و بهداشت عمومی است (Schwarz et al. 2001, Peighambari et al. 2018, 2019a, 2019b). مواد آنتی‌باکتریال مختلفی در طب دامپزشکی و پزشکی که مربوط به خانواده‌ی آنتی‌بیوتیکی متشابه هستند مورد استفاده قرار می‌گیرد و از این رو منجر به انتشار ژن‌های مقاوم مشابه می‌شود. مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی در دام‌هایی که به مصرف خوراکی می‌رسند از مشکلات و مسائل مهم در سازمان بهداشت جهانی می‌باشد. امروزه با وجود استفاده از ترکیبات متنوع آنتی‌باکتریال در صنعت طیور، میزان مقاومت علیه این آنتی‌بیوتیک‌ها رو به فزونی است. در حالی که می‌توان با استفاده صحیح و علمی از این ترکیبات از بروز مقاومت علیه آن‌ها جلوگیری کرد. هیچ آنتی‌بیوتیکی نسبت به پدیده‌ی ایجاد مقاومت مصون نیست، در نتیجه بروز مقاومت آنتی‌بیوتیکی برخلاف تمام تلاش‌هایی که صورت می‌گیرد، بسیار محتمل بوده و دور از انتظار نیست. رعایت بالاترین استاندارد مدیریتی و تهیه‌ی جوجه از گله‌های مادر و کارخانجات جوجه‌کشی با مدیریت خوب و عاری از بیماری، بهترین شیوه‌ی کنترل عفونت‌های باکتری *اشریشیاکلای* و سایر باکتری‌ها است. تجویز صحیح آنتی‌بیوتیک در صنعت طیور در شرایطی که اقدامات قرنطینه‌ای، بهداشتی و مدیریتی برای جلوگیری از ورود و انتشار میکروارگانیسم‌های عفونی موفق نباشد به عنوان یک نیاز مطرح است اما متأسفانه در پی استفاده‌ی زیاد و نامناسب آنتی‌بیوتیک‌ها در طی سال‌های اخیر شاهد افزایش درصد مقاومت باکتری‌ها به داروهای مختلف هستیم. در این مطالعه میزان شیوع اجرام باکتریایی مختلف در قلب و کبد و حساسیت دارویی جدایه‌های حاصل مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش کار

تعداد ۶۱۴ لاشه‌ی تلف شده از ۱۵۰ گله شامل (۱۱۸ گله گوشتی، ۱۴ گله تخم‌گذار، ۱۲ گله بوقلمون، دو گله مادر، دو گله بلدرچین و دو گله کبک) از ۱۸ استان کشور در مدت یک سال (تیرماه ۱۳۹۱ تا پایان خرداد ۱۳۹۲) ارجاع شده به یک کلینیک بیماری‌های طیور جهت نمونه-گیری انتخاب شد. بعد از کالبدگشایی و قبل از انجام هرگونه دستکاری، با سواب استریل از خون قلب و سطح احشائی کبد نمونه‌گیری شد و به صورت جداگانه ابتدا بر روی محیط آگار خوندار و سپس بر روی آگار مک کانکی کشت خطی داده شد (Waltman et al. 1998). ضایعات کالبدگشایی تلفات به طور کامل ثبت گردید. سپس پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انکوبه شدند. پس از رشد پرگنه‌ها، اجرام جداسازی شده با استفاده از تست‌های بیوشیمیایی شامل رنگ‌آمیزی گرم، کاتالاز و کوآگولاز، محیط‌های افتراقی (TSI, SIM, Urea, Simmons citrate agar) و محیط‌های MSA و SS-agar در حد جنس و گونه طبقه‌بندی شد. تک کلنی از محیط‌های مک‌کانکی و یا آگار خوندار توسط لوپ گرفته شده و به لوله‌های استریل حاوی ۳ میلی‌لیتر محیط BHI انتقال می-یافت و سپس به مدت ۱۸-۱۶ ساعت در شیکر انکوباتور در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد با سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. در مرحله‌ی بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از محیط BHI و ۰/۵ میلی‌لیتر از گلیسرول استریل به درون یک میکروتیوب ۱/۵ میلی‌لیتری استریل افزوده شد و پس از مخلوط کردن به مدت ۱ ساعت در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از این مرحله میکروتیوب‌ها به داخل فریزر ۷۰- درجه منتقل می‌شدند تا برای اهداف بعدی ذخیره شوند.

برای تعیین الگوی مقاومت دارویی، ۱۰۰ جدایه *اشریشیاکلای* از ۵۰ گله گوشتی که علائم تیپیک کلی-باسیلوز را داشتند، ۲ جدایه *اشریشیاکلای* از گله بلدرچین و ۳۰ جدایه *سالمونلا* که از کل گله‌های نمونه‌گیری شده جداسازی شده بود، انتخاب شد. روش کیفی به کار گرفته شده برای آزمایش حساسیت دارویی، آزمایش دیسک دیفوزیون به روش استاندارد Kirby-Bauer (Morshed and Peighambari 2010) بود. تعداد ۱۲ عامل آنتی-باکتریال مورد استفاده در آزمایش حساسیت دارویی *اشریشیاکلای* شامل: آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، انروفلوکساسین، فلومکوئین، جنتامایسین، لینکواسپکتین، نئومایسین، تتراسایکلین، سولفامتوکسازول + تری‌متوپریم، فلورفنیکل، فوزباک، کلیستین بود. تعداد ۲۰ عامل آنتی-باکتریال مورد استفاده در آزمایش تعیین حساسیت دارویی *سالمونلا* عبارت بودند از: آمپی‌سیلین، کلرامفنیکل، فورازولیدون، لووفلوکساسین، کانامایسین، دانوفلوکساسین، سفیکسیم، سفتی‌ریاکسون، نالیدیکسیک اسید، نئومایسین، نورفلوکساسین، تتراسایکلین، استرپتومایسین، سولفامتوکسازول + تری‌متوپریم، سفتازیدیم، فلورفنیکل، انروفلوکساسین، فلومکوئین، جنتامایسین، لینکواسپکتین. تمامی دیسک‌ها از شرکت پادتن طب (ایران) تهیه شدند. جدایه‌ها از فریزر خارج شده و در محیط آگار مک‌کانکی کشت داده شدند و سپس همان طور که قبلا شرح داده شده است (Morshed and Peighambari 2010)، آزمایش تعیین حساسیت داروئی انجام شد و نتایج بر اساس مقایسه با جدول تفسیر قطر هاله ممانعت شونده بر مبنای حساس، نسبتاً حساس و مقاوم طبقه‌بندی شدند (CLSI 2008).

تعیین گروه سرمی بر اساس روش استاندارد آگلوتیناسیون روی لام صورت گرفت. برای تعیین سروتیپ سالمونلای جداشده، از آنتی‌سرم‌های شرکت بهارافشان (تهران، ایران) استفاده شد. جهت تعیین گروه از کشت ۲۴ ساعته و خالص باکتری در روی محیط TSI، شیرابه غلیظی با سرم فیزیولوژی ۰/۸۵ درصد بر روی یک لام تمیز تهیه کرده و پس از کنترل اتوآگلوتیناسیون، یک قطره از آنتی‌سرم‌های موجود را روی آن قرار داده و با هم مخلوط گردید. نتیجه در برابر چراغ و در زمینه‌ی سیاه قرائت شد. در صورتی که آگلوتیناسیون در کمتر از ۲ دقیقه

مشاهده می‌شد واکنش مثبت تلقی می‌شد (Waltman et al. 1998).

نتایج

در کشت‌های جداگانه انجام شده از قلب و کبد ۶۱۴ لاشه، از ۱۶۵ لاشه هیچ گونه باکتری جدا نشد. از ۴۸۴ جدایه حاصل، ۳۸۲ جدایه (۷۸/۹۲ درصد) *اشریشیاکلای*، ۳۷ جدایه (۷/۶۴ درصد) *سالمونلا*، ۱۸ جدایه (۳/۷۱ درصد) *پروتئوس*، ۱۷ جدایه (۳/۵۱ درصد) *استافیلوکوکوس اورئوس*، ۹ جدایه (۱/۸۵ درصد) *استرپتوکوکوس*، ۷ جدایه (۱/۴۴ درصد) *سودوموناس آئروژینوزا*، ۶ جدایه (۱/۲۳ درصد) *کلبسیلا*، ۵ جدایه (۱/۰۳ درصد) *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و ۴ جدایه (۰/۷۱ درصد) *استافیلوکوک*‌های کوآگولاز منفی بود. نتایج جداسازی اجرام باکتریایی از گله‌های مختلف در Table 1 ذکر شده است.

علائم کالبدگشایی مشاهده شده در قلب اکثر لاشه‌ها شامل پریکاردیت، پتشی در چربی کرونر قلب، اکیموز در پرده اپیکارد، اپیکاردیت، فیبروز و چسبندگی پریکارد و اپیکارد، کاردیومگالی، خون‌ریزی در اندوکارد و هیدروپریکارد بود. هپاتیت، پری هپاتیت، تورم و رنگ-پریدگی کبد، خطوط طولی رنگ‌پریده در کبد، خون‌ریزی منتشر در پارانشیم کبد، لخته‌ی خون در اطراف کبد، شکننده شدن بافت کبد، رسوب اورات در کبد و نکروز منتشر ضایعاتی بودند که در کبد اکثر تلفات مشاهده شدند.

بالاترین میزان مقاومت دارویی به ترکیبات ضدمیکروبی داکسی‌سایکلین، فلومکوئین، تتراسایکلین و انروفلوکساسین مشاهده شد (Table 2). همه‌ی جدایه‌ها به کلیستین حساس بودند و بعد از آن بیشترین حساسیت دارویی به ترکیبات جنتامایسین، لینکواسپکتین و فسفومایسین مشاهده شد. در بین جدایه‌ها، دو جدایه به همه‌ی ترکیبات ضد-میکروبی حساس بوده و بقیه جدایه‌ها حداکثر به ۱۰ دارو مقاوم بودند. همچنین وقوع مقاومت چندگانه در بین جدایه‌ها بسیار شایع بود. دو جدایه *اشریشیا کلای* جدا شده از گله‌ی بلدرچین به جنتامایسین، کلیستین و فلورفنیکل حساس ولی به بقیه ترکیبات ۱۰۰ درصد مقاوم بودند. الگوی مقاومت ۱۰۰ جدایه‌ی *اشریشیاکلای* جدا شده از گله‌های گوشتی نسبت به ۱۲ عامل آنتی‌باکتریال بسیار متنوع بود و ۵۶ الگوی مقاومت به دست آمد (Table 3). تعداد ۱۳ جدایه (۱۳ درصد) *به* یک الگوی مقاومت تعلق داشتند. به طور کلی تعداد ۲۶ جدایه (۲۶ درصد) به چهار الگو و بقیه ۷۴ جدایه (۷۴ درصد) در ۵۲ الگوی مقاومت متفاوت توزیع شدند که یکی از آن‌ها شامل دو جدایه به هیچ کدام از ترکیبات ضدمیکروبی مقاوم نبودند.

در خصوص ۳۰ جدایه‌ی سالمونلا نتایج آزمایش حساسیت دارویی نشان داد که بالاترین میزان مقاومت به آمپی‌سیلین و نالیدیکسیک اسید بود و همه‌ی ۳۰ جدایه به ترکیبات ضدمیکروبی جنتامایسین، تری‌متوپریم + سولفامتوکسازول، دانوفلوکساسین، سفتازیدایم، سفیکسیم، سیپروفلوکساسین، فلورفنیکل، کلرامفنیکل و نورفلوکساسین کاملاً حساس بودند (Table 2). دو جدایه به همه‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها حساس بودند و سایر جدایه‌ها حداکثر به ۴ دارو مقاومت نشان دادند. الگوی مقاومت ۳۰ جدایه *سالمونلا* جدا شده نسبت به ۲۰ ترکیب ضدمیکروبی رایج در پزشکی و دامپزشکی بررسی شد. در مجموع ۱۷ الگوی مقاومت متفاوت مشاهده شد که فراوان‌ترین الگوی شامل ۶ جدایه (۲۰ درصد) بود که در بین ۲۰ ترکیب ضد-میکروبی فقط به نالیدیکسیک اسید مقاوم بودند. بقیه ۲۴ جدایه (۸۰ درصد) در ۱۶ الگوی مقاومت متفاوت توزیع شدند که یکی از آن‌ها شامل دو جدایه به هیچ کدام از ترکیبات ضدمیکروبی مقاوم نبودند.

نتایج تعیین گروه سرمی ۳۰ جدایه *سالمونلا* نیز نشان داد که تمامی جدایه‌ها گروه سرمی D (O9, O12) تعلق داشتند.

Table 1: Bacteriological examination results of sampled flocks

No.	Isolated Bacteria	Number (%) of bacteria isolated from different types of sampled flocks						
		All flocks (150)	Broiler (118)	Layer (14)	Broiler breeder (2)	Turkey (12)	Quail (2)	Partridge (2)
1	*E. coli*	382 (78.92)	328 (80.98)	20 (68.96)	4 (80)	23 (67.7)	2(66.67)	5(71.44)
2	*Salmonella*	37 (7.64)	34 (8.39)	-	-	3 (8.9)	-	-
3	*Proteus*	18 (3.71)	14 (3.45)	3 (10.34)	-	1 (2.74)	-	-
4	*S. aureus*	17 (3.51)	12 (2.96)	-	1 (20)	3 (8.9)	-	1(14.28)
5	*Streptococcus*	9 (1.85)	5 (1.23)	2 (6.9)	–	-	-	-
6	*Pseudomonas aeruginosa*	7 (1.44)	6 (1.48)	-	–	-	1 (33.33)	-
7	*Klebsiella*	6 (1.23)	3 (0.74)	-	–	2(5.88)	-	1(14.28)
8	*S. epidermidis*	5 (1.03)	1 (0.28)	2 (6.9)	–	2(5.88)	-	-
9	*Staphylococcus*	4 (0.71)	2 (0.49)	2 (6.9)	–	-	-	-

Table 2: The results of drug resistance test of bacterial isolates

No..	Drug	% Resistance of 100 *E. coli* isolates from broilers	% Resistance of 30 *Salmonella* isolates	% Resistance of 2 *E. coli* isolates from quails
1	Doxycycline	87	-	100
2	Flumequine	86	30	100
3	Tetracycline	86	16.68	100
4	Enrofloxacin	77	6.67	100
5	Trimethoprime+Sulfa	57	0	100
6	Florfenicol	56	0	0
7	Lincospectin	35	0	100
8	Fosfomycin	35	-	100
9	Neomycin	33	10	100
10	Ampicillin	31	96.67	100
11	Gentamicin	1	0	0
12	Colistin Sulphate	0	-	0
13	Nalidixic Acid	-	76.67	-
14	Furazolidone	-	3.33	-
15	Kanamycin	-	3.33	-
16	Streptomycin	-	0	-
17	Levofloxacin	-	0	-
18	Danofloxacin	-	0	-
19	Ceftazidime	-	0	-
20	Cefixime	-	0	-
21	Ciprofloxacin	-	0	-
22	Norfloxacin	-	0	-
23	Chloramphenicol	-	0	-

Table 3: Resistance patterns of 100 *Escherichia coli* isolates from broiler chickens to 12 antimicrobial agents

Pattern #	No. of isolate in pattern	Resistant to
1	13	D, NFX, FM, TE
2	5	D, NFX, FF, FM, TE, SXT
3	4	D, NFX, FF, FM, FO, TE
4	4	AM, D, NFX, FF, FM, TE, SXT
5-11	3	Variable
12-18	2	Variable
19	2	None of drugs tested
20-56	1	Variable

AM= Ampicillin FF= Florfenicol
TE= Tetracycline FM= Flumequine
D= Doxycycline FO= Fosbac
NFX= Enrofloxacin SXT= Trimethoprim + Sulfa

بحث

در این مطالعه ۶۱۴ نمونه از قلب و کبد تلفات ارجاعی به صورت جداگانه کشت داده شد و باکتری‌های گوناگونی از نمونه‌ها جدا شد اما از ۱۶۵ نمونه هیچ گونه جرم باکتریایی جدا نشد.

اشریشیاکلای بیماری‌زای پرندگان عامل اصلی کلی-باسیلوز است که باعث جراحات مختلفی مانند عفونت کیسه‌های هوایی، پریکاردیت، پریتونیت، سالپنژیت، سینوویت، استئومیلیت و عفونت کیسه‌ی زرده می‌شود و از این طریق خسارات اقتصادی زیادی را وارد می‌کند (Nolan et al. 2020). *اشریشیاکلای* در بوقلمون می‌تواند سبب سپتی‌سمی حاد در پرندگان جوان تا بیماری تحت حاد در پرندگان بالغ‌تر به همراه سینوزیت فیبرینی- چرکی یا التهاب گرانولوماتوزی منتشر شود.

همانگونه که انتظار می‌رفت در این بررسی *اشریشیاکلای* در تمام گله‌های نمونه‌گیری شده (گوشتی، تخم‌گذار، بوقلمون، مادر، بلدرچین و کبک) بیشترین سهم را در بروز تلفات با توجه به مشاهده‌ی جراحات تیپیک کلی‌باسیلوز در لاشه‌ها به خود اختصاص داد اما سایر اجرام نیز نقش داشتند و حدود ۲۰ درصد موارد را شامل شدند. بنابراین به نظر می‌رسد توجه به اجرام غیر از *اشریشیا کلای* و انجام اقدامات بهداشتی و کنترلی برای جلوگیری از بروز تلفات ناشی از آن‌ها نیز ضروری باشد.

از تلفات یک گله گوشتی در ۱۵ روزگی، ۱۰۰ درصد *سودوموناس* جدا شد. *سودوموناس* یک ارگانیسم فرصت طلب است که به دنبال ایجاد زخم، افت ایمنی و همچنین تزریقات و بهداشت پایین کلونیزه شده و موجب بیماری-زایی می‌شود (Abdul-Aziz 2020). در ۹ روزگی در این گله تزریق واکسن دوگانه صورت گرفته بود که احتمالاً به دلیل عدم رعایت بهداشت هنگام تزریق موجب کلونیزه شدن *سودوموناس* شده بود. ضایعات در این تلفات شامل پریکاردیت خفیف، پرخونی دوطرفه ریه‌ها، التهاب کیسه-های هوایی و عفونت کیسه‌ی زرده بود. آلودگی‌های سالمونلائی نیز در طیور از درجه اهمیت بالایی برخوردار هستند (Gast and Porter 2020). بررسی‌های متعدد در سال‌های اخیر آلودگی گله‌های طیور کشور را به سرووار-های مختلف سالمونلا نشان داده است (Peighambari et al. 2015, Doulatyabi et al. 2017, Mayahi et al. 2017, Peighambari et al. 2018, 2019a, 2019b). در این بررسی از یک گله بوقلمون در سن پایین (۷ روزگی) *سالمونلا* جداسازی شد. علایم شامل پری‌هپاتیت، رنگ-پریدگی کبد، پرخونی دوطرفه ریه و انتریت بود. با توجه به این که بوقلمون‌ها وارداتی هستند و معمولاً از اروپای شرقی وارد می‌شوند، احتمال این که این بوقلمون‌ها و یا تخم نطفه‌دار آن‌ها آلوده باشد، وجود دارد. بنابراین با توجه به انتقال عمودی سالمونلاها اجرای برنامه‌های قرنطیه و کنترل جوجه‌ی بوقلمون‌های وارداتی توسط اداره‌ی کل

دامپزشکی برای جلوگیری از گسترش و انتشار *سالمونلا* ضروری می‌باشد. باکتری‌های متفرقه نیز از عفونت‌های طیور جدا می‌شوند (Abdul-Aziz 2020). از تلفات دو سالن یک گله تخم‌گذار (۲۳۸ روزگی) با درگیری‌های دستگاه تولیدمثلی شامل سالپنژیت، پرخونی استیگما و تخمدان و پریتونیت تخم‌مرغی *پروتئوس* جداسازی شد. *استافیلوکوکوس اورئوس*، *استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس* و استرپتوکوک‌ها از مواردی با اندوکاردیت وجتاتیو، پتشی در چربی کرونر و اندوکارد، کاردیومگالی، ترد و شکننده شدن بافت کبد، باقی ماندن کیسه‌ی زرده، پری‌هپاتیت و هپاتیت جداسازی شدند. Hedegaard و همکاران در سال ۲۰۰۹ گزارش کردند، ارگانیسم‌های شبه استرپتوکوک‌ها از موارد سپتی‌سمی، سپتی‌سمی و اندوکاردیت دریچه‌ای و موارد سالپنژیت، پریتونیت و سپتی‌سمی و اندوکاردیت دریچه‌ای جداسازی شده است. Bisgaard و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش نمودند از ۴۲ مرغ که ضایعات قلبی و اندوکاردیت داشتند، *اوبیاکتریوم اندوکاردیتیدیس*، *انتروکوکوس فکالیس*، *استافیلوکوکوس اورئوس*، و *استرپتوکوکوس پلورانیمالیم* جداسازی شده است. در مطالعه‌ی حاضر، میزان عفونت *اشریشیا کلای* در گله‌های گوشتی در طول یکسال ۸۰/۹۸ درصد، بود و در فصول مختلف تفاوت آن چنانی نداشته و در فصول بهار، تابستان، پاییز و زمستان به ترتیب ۸۱/۳۳ درصد، ۷۲/۷۲ درصد، ۷۷/۶۵ درصد و ۷۵/۸۳ درصد بود.

گزارش‌ها در رابطه با افزایش مقاومت *اشریشیا کلای* نسبت به ترکیبات آنتی‌باکتریال در حال افزایش است و الگوی مقاومت دارویی نواحی مختلف جغرافیایی متنوع و در حال تغییر می‌باشد. بین ۱۰۰ جدایه *اشریشیا کلای* جداسازی شده از گله‌های گوشتی در این مطالعه، مشاهده شد تمامی جدایه‌ها به کلیستین حساس بودند و بیشترین حساسیت دارویی به آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین، لینکواسپکتین و فسفومایسین مشاهده شد. همچنین بیشترین مقاومت دارویی به داکسی‌سایکلین، فلومکوئین، تتراسایکلین و انروفلوکساسین بود که با مطالعات قبلی همخوانی داشت (Peighambari et al. 2015, Doulatyabi et al. 2017, Peighambari et al. 2018, 2019a, 2019b). نتیجه‌ی مقاومت بالا به آنتی‌بیوتیک‌های داکسی‌سایکلین، فلومکوئین، تتراسایکلین و انروفلوکساسین عمدتاً به دلیل مصرف فراوان و بی‌رویه و دوره‌ی ناکامل استفاده از این ترکیبات در قالب برنامه‌های درمانی، متافیلاکسی و پروفیلاکسی گله‌های طیور می‌باشد. حساسیت جدایه‌ها به جنتامایسین ناشی از استفاده‌ی محدود از این ترکیب دارویی در عرصه‌ی پیش‌گیری و درمان است. الگوهای مقاومت دارویی نیز بسیار متنوع بود. همچنین تنوع حتی در الگوی مقاومت دارویی جدایه‌های متعلق به یک واحد مرغ‌داری، اتخاذ برنامه‌های درمانی بر علیه بیماری‌های باکتریایی موجود در مرغداری را با مشکل مواجه می‌نماید، بنابراین آزمون حساسیت ضدمیکروبی برای هر مرغداری پیش از تجویز آنتی‌باکتریال‌ها بهتر است انجام شود. البته انجام آزمون حساسیت میکروبی به تنهایی ملاک انتخاب برای ترکیب مورد نظر نیست، زیرا دستیابی به حداقل غلظت ممانعت‌کننده از رشد در بافت مورد نظر نیز حائز اهمیت است. پایداری آنتی‌بیوتیک‌ها، توانایی آن در عبور از سدهای طبیعی بدن و فعال بودن در محل اثر نیز سه شاخص مهم در انتخاب داروهای آنتی‌باکتریال می‌باشند. البته این واقعیت مهم را نیز نباید از نظر دور داشت که ممانعت از مصرف یک آنتی‌باکتریال ضرورتاً منجر به کاهش دراماتیک فراوانی مقاومت به داروی مربوط نمی‌شود و لذا این باور که بروز مقاومت تنها به دلیل فشار ناشی از استفاده مداوم از عوامل ضدمیکروبی است مورد سوال قرار می‌گیرد و این امکان را مطرح می‌کند که عوامل دیگری در بقای ژن‌های مقاومت دارویی نقش داشته‌اند یا می‌توانند نقش داشته باشند که از آن جمله می‌توان به حضور ژن‌های مقاومت علیه داروهای ضدمیکروبی از زمانی پیش‌تر از آن که این داروها کاربرد بالینی در دامپزشکی یا پزشکی پیدا کنند و همچنین توانایی تبادل ژن‌های مقاومت در میزبان-های باکتریایی گوناگون اشاره نمود (Schwaz et al. 2001). سیاست‌های جدید دارویی و آنتی‌بیوتیکی در دامپزشکی

نیاز است تا بتوان از انتشار سویه‌های مقاوم از حیوان به انسان جلوگیری نمود و شکست‌های درمانی و مشکلات آتی را کاهش داد.

دو جدایه *اشریشیا کلای* حاصل از گله بلدرچین در این مطالعه به آنتی‌بیوتیک‌های جنتاماسین، کلیستین و فلورفنیکل حساس بوده و به آنتی‌بیوتیک‌های آمپی‌سیلین، انروفلوکساسین، تتراسایکلین، تری‌متوپریم + سولفامتوکسازول، داکسی‌سایکلین، فسفومایسین، فلومکوئین، لینکواسپکتین و نئومایسین مقاوم بودند. با توجه به این که از ورود و گسترش صنعت پرورش بلدرچین به ایران بیش از ۱۰ –۱۵ سال نمی‌گذرد، بروز مقاومت در جدایه‌های حاصل از آن سریع بوده بنابراین اتخاذ برنامه‌هایی جهت کنترل استفاده‌ی آنتی‌بیوتیک‌ها و انجام مطالعات بیشتر در این زمینه ضروری است. شیوع سالمونلا در گله‌های گوشتی ۸/۳۹ درصد بود که با مطالعات پیشین هم‌خوانی داشت (Peighambari et al. 2015, Doulatyabi et al. 2017, Peighambari et al. 2018, 2019a, 2019b). الگوهای مقاومت نیز در جدایه-های *سالمونلا* از این گله‌ها در این مطالعه متنوع بوده و همه‌ی جدایه‌ها به جنتامایسین، تری‌متوپریم + سولفامتوکسازول، دانوفلوکساسین، سفتازیدایم، سفیکسیم، سیپروفلوکساسین، فلورفنیکل، کلرامفنیکل و نورفلوکساسین حساس بوده و بیشترین مقاومت دارویی را به داروهای آمپی‌سیلین و نالیدیکسیک اسید نشان دادند. در مطالعات Eram و همکاران، همه‌ی جدایه‌های *Salmonella* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های لووفلوکساسین و فوزباک حساس بودند. کمترین مقاومت دارویی به ترکیبات نورفلوکساسین، آمیکاسین، دانوفلوکساسین، ایمیپنم و سفتازیدایم مربوط بود و بیشترین میزان مقاومت دارویی نسبت به ترکیبات استرپتومایسین، فورازولیدون، نالیدیکسیک اسید، تتراسایکلین و لینکواسپکتین مشاهده شد (Eram et al. 2013).

تمامی جدایه‌های *سالمونلا* در این مطالعه، متعلق به گروه سرمی D بود. در مطالعات قبلی نیز سروگروپ D در زمره‌ی فراوان‌ترین گروه سرمی در گله‌های طیور کشور بود. البته در سال‌های اخیر در بسیاری از گله‌های گوشتی فراوانی سروگروپ C بر سروگروپ D پیشی گرفته است (Akbarian et al. 2012, Rahmani et al. 2013, Peighambari et al. 2015, Doulatyabi et al. 2017, Peighambari et al. 2018, 2019a, 2019b). تا دهه‌ی ۸۰ میلادی، سرووار *سالمونلا تیفی موریم* در دنیا در انسان و طیور غالب بود ولی از آن پس *سالمونلا انتریتیدیس* که در زمره‌ی گروه D است در انسان و گله‌های طیور دنیا و ایران غالب شده است. *سالمونلا انتریتیدیس* به محیط مرغ‌داری، مرغ و تخم‌مرغ به خوبی اداپته شده است (Andino and Hanning 2015). محتمل است که تفاوت‌ها در اداپته شدن سرووارها به بیان/عدم بیان ژن‌های فاکتورهای مختلف، تفاوت‌های سرووارها در مقاومت دارویی و عوامل دیگری که هنوز شناخته نشده‌اند می‌تواند بستگی داشته باشد.

کبد و قلب از مهم‌ترین ارگان‌های حیاتی پرندگان محسوب می‌شود که وقوع نارسایی در آن‌ها از جمله عوامل بروز تلفات در پرندگان است. طبق انتظار *اشریشیا کلای* در بین جدایه‌های حاصل از تلفات بیشترین میزان را به خود اختصاص داده بود اما سایر اجرام باکتریایی نیز به میزان ۲۰ درصد مؤثرند و در بین آن‌ها سالمونلاها، استرپتوکوک‌ها و استافیلوکوک‌ها دارای اهمیت هستند. بنابراین بررسی دقیق‌تر ضایعات برای جداسازی سایر عوامل مؤثر، انجام مطالعات گسترده‌تر بر روی جدایه‌های حاصل، تعیین فاکتورهای خطر، تعیین پاتوژنسیته جدایه‌ها در انواع گله-های طیور پیشنهاد می‌گردد. بررسی مقاومت دارویی جدایه‌ها نشان‌دهنده‌ی افزایش مقاومت جدایه‌ها نسبت به داروهای رایج در صنعت طیور است، علت تنوع گسترده‌ی مقاومت آنتی‌بیوتیکی بین جدایه‌ها، می‌تواند ناشی از استفاده‌ی بی‌رویه در آنتی‌بیوتیک‌ها، عدم تکمیل دوره‌ی درمان و انتقال مقاومت‌های ژنتیکی بین سویه‌ها باشد. بنابراین انجام آزمایش حساسیت دارویی پیش از تجویز پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از پرسنل آزمایشگاه گروه بیماری‌های طیور دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران و پرسنل آزمایشگاه دامپزشکی تهران جهت مساعدت در جمع‌آوری نمونه‌ها تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

این پژوهش با استفاده از اعتبار تحقیقاتی شماره ۲۲-۶-۷۵۰۸۰۰۷ شورای پژوهشی دانشگاه تهران انجام شد.

منابع

Abdul-Aziz, T. (2020). Miscellaneous and Sporadic Bacterial Infections. In: Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V., Suarez, D.L. (eds.). (14th ed.) Wiley-Blackwell Publication. Ames, Iowa, USA. p. 1043-1085.

Andino, A. & Hanning, I. (2015). *Salmonella enterica*: survival, colonization, and virulence differences among serovars. *The Scientific World Journal*, *520179*, 1-16.

Akbarian, R., Peighambari, S. M., Morshed, R., & Yazdani, A. (2012). Survey of *Salmonella* infection in Iranian poultry flocks. *Iranian Veterinary Journal*, *8*, 5-10.

Blackall, P. J. & Hofacre, C. L. (2020). Fowl cholera. In: Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V., Suarez, D.L. (eds.) (14th ed) John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA. p. 831-846.

Boulianne, M.; Uzal, F.A. and Opengart, K (2020). Clostridial Diseases. In: Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C.M., McDougald, L.R., Nair, V., Suarez, D.L. (eds.) (14th ed) John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA. p. 966-994.

Bisgaard, M., Bojesen, A. M., & Christensen, J. P. (2010). Observation on the incidence and aetiology of valvular endocarditis in broiler breeders and detection of a newly described taxon of *Pasteurellaceae*, *Avibacterium endocarditidis*. *Avian Pathology*, *39*, 177-181.

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI): Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. M100-S16. 18th Informational Supplement. (2008). CLSI Press. Wayne, PA, USA.

Doulatyabi, S., Peighambari, S. M., & Morshed, R. (2017). Survey of *Salmonella* infections in broiler farms around Sanandaj. *Journal of Ilam University of Medical Sciences*, *25*, 70-78.

Eram, N., Peighambari, S. M., & Yazdani, A. (2013). Study on *Salmonella* infection in broiler farms around Ghaemshahr: Determination of serotypes and drug resistance pattern of the *Salmonella* isolates. *Journal of Veterinary Laboratory Research*, *5*, 85-93.

Gast, R. K. & Porter, Jr., R. E. (2020). *Salmonella* Infections, In Diseases of Poultry. Swayne, D.E., Boulianne, M., Logue, C. M., McDougald, L. R., Nair, V., Suarez, D. L. (eds.) (14th ed) John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA. p. 719-753.

Mayahi, M., Talazadeh, F., Jafari, R. A. & Zamanian Keshavarz, V. (2017). Isolation of *Salmonella* from Iranian broiler breeder farms and feed. *Veterinary Clinical Pathology*, *11*, 263-275.

Morshed, R. & Peighambari, S. M. (2010). Drug resistance, plasmid profile and random amplified polymorphic DNA analysis of Iranian isolates of *Salmonella* Enteritidis. *New Microbiologica*, *33*, 47-56.

Nolan, L. K., Vaillancourt, J. P., Barbieri, N. L., & Logue, C. M. (2020). Colibacillosis. In: Diseases of Poultry. Swayne, D. E., Boulianne, M., Logue, C. M., McDougald, L. R., Nair, V., Suarez, D. L. (eds.) (14th ed) John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA. p. 770-830.

Peighambari, S. M., Sorahi Nobar, M., & Morshed, R. (2015). Detection of *Salmonella enterica* serovar Infantis among serogroup C *Salmonella* isolates from poultry using PCR and determination of drug resistance patterns. *Iranian Veterinary Journal, 11,* 54-60.

Peighambari, S. M., Morshed, R., Baziar, M., Sharifi, A., & Sadrzadeh, A. (2018). Salmonellosis in broiler flocks of Golestan province: frequency, serogroups and antimicrobial resistance patterns of *Salmonella* isolates. *New Findings in Veterinary Microbiology, 2,* 72-81

Peighambari, S. M., Morshed, R., Shojadoost, B., Nikpiran, H., Haghbin Nazarpak, H., Khakpour, M., Faghih Nasiri, Z., Fallahdoost, M., Kachabi, S. H., Voshtani, R., Rohollahzade, H., & Yazdani, A. (2019)a. Survey of non-typhoid *Salmonella* infections among some broiler flocks of Mazandaran and Gilan provinces, 2010-2015. *Iranian Journal of Veterinary Clinical Sciences, 12*, 69-80.

Peighambari, S. M., Qorbaniun, E., Morshed, R., & Haghbin Nazarpak, H. (2019)b. A survey on *Salmonella* infection in broiler farms around Mashhad city: Determination of serogroups and antimicrobial resistance pattern of the *Salmonella* isolates. *Iranian Veterinary Journal, 15,* 34-43.

Rahmani, M., Peighambari, S. M., Svendsen, C. A. Cavaco, L. M. Agersø, Y., & Hendriksen, R. S. (2013). Molecular clonality and antimicrobial resistance in *Salmonella enterica* serovars Enteritidis and Infantis from broilers in three Northern regions of Iran. *BMC Veterinary Research, 9,* 66.

Schwarz, S., Kehrenbery, C., & Walsh, T. R. (2001). Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *International Journal of Antimicrobial Agents, 17,* 431-437.

Swayne, D. E., Boulianne, M., Logue, C. M., McDougald, L. R., Nair, V., Suarez, D. L. (2020). Diseases of Poultry (eds.) (14th ed) John Wiley & Sons, Inc., NJ, USA.

Waltman, W. D., Gast, R. K., & Mallinson, E. T. (1998). Salmonellosis. In: A Laboratory Manual for the Isolation and Identification of Avian Pathogens, 4th Ed; Swayne, D. E., Glisson, J. R., Jackwood, M. M., Pearson, J. E., & Read, W. M., American Association of Avian Pathologists, Pennsylvania, USA.

Received: 05.04.2020
Accepted: 30.11.2020

DOI: 10.22055/IVJ.2021.266036.2341
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.2.6

تهیه‌ی پروفایل سنی براساس تغییرات دندان‌های پیش در مادیان‌های عرب خوزستان

کاوه خزائیل[1*]، حمید پسرک‌لی[2]، علیرضا قدردان‌مشهدی[3] و مهدی پورمهدی‌بروجنی[4]

[1] استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[2] دانش‌آموخته‌ی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[3] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[4] استاد گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۲۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۲

چکیده

اهمیت تخمین دقیق سن اسب که عمدتاً براساس ارزیابی دندان‌ها صورت می‌گیرد، بر همگان روشن است. توانایی تخمین سن، می‌تواند هنگام خرید دام، پیش‌بینی مدت زمان زندگی ورزشی مفید آن، کمک به تعیین پیش‌آگهی بیماری‌ها و اهداف بیمه‌ای به کار آید. در پژوهش حاضر بررسی دندان‌های پیش مادیان‌های عرب خوزستان با هدف تهیه‌ی پروفایل سنی بر اساس تغییرات دندان‌های پیش صورت گرفت. در این مطالعه، ۷۸ رأس مادیان عرب خوزستان مورد بررسی قرار گرفت. پس از تأیید اصالت دام، تصاویر با استفاده از دوربین دیجیتال از نماهای دهلیزی، پوزه‌ای و سطح جوشی دندان‌های پیش پایین تهیه شد. تصاویر تهیه شده مورد تجزیه و تحلیل رایانه‌ای قرار گرفته و پارامترهای مربوط به رویش دندان‌های شیری و دایمی و تعداد آن‌ها و تغییرات سطح جوشی دندان‌های پیش پایین بررسی گردیده و در نهایت، پروفایل سن دندانی ارایه شد. دندان پیش شیری سوم (dI3) در مادیان‌های عرب خوزستان، زمان رویش متنوعی داشت، در حالی که زمان رویش دندان‌های پیش شیری اول (dI1) و پیش شیری دوم (dI2) تقریباً مشابه با سایر اسبان بود. در دندان‌های دایمی، رویش زودتر از موعد دندان‌های پیش دایمی دوم (I2) و پیش دایمی سوم (I3) در مواردی مشاهده گردید. ستاره‌ی دندانی اولین بار حدود ۵/۵ سالگی روی سطح جوشی دندان‌های پیش پایین ظاهر شد و نقطه‌ی مینایی در دندان پیش دایمی اول (I1) حدود یک سال زودتر از موعد معمول پدیدار گردید. در مادیان‌های بررسی شده که در بازه‌ی سنی ۱۵ روز تا ۲۴ سال قرار داشتند، رویش دندان‌های پیش پایین و برخی تغییرات مورفولوژیک آن در مواردی زودتر از زمان معمول مشاهده گردید.

کلمات کلیدی: پروفایل سنی، تخمین سن، تغییرات دندانی، دندان‌های پیش، مادیان عرب خوزستان

مقدمه

اسب حیوانی زیبا و سحرآمیز است که دارای وقار، حساسیت و توانایی ورزشی بسیار مناسبی می‌باشد. در قاره‌ی آسیا که مهد پرورش اسب در جهان به حساب می‌آید، دو نژاد بزرگ اسب شامل نژادهای آرین و مغول

*نویسنده مسئول : کاوه خزائیل، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

E-mail: k.khazaeil@scu.ac.ir

مورد شناسایی قرار گرفته است. نژاد آرین شامل دو نوع اسب اصیل ایرانی (عرب) و اسب‌های بختیاری، قشقایی و دره شوری می‌باشد. نژاد مغول نیز اسبان ترکمن و کرد را شامل می‌گردد. نژادهای شناخته شده به عنوان نژادهای اصیل ایرانی عبارتند از: ترکمن، کرد، عرب و اسبچه‌ی خزر (Ahmadinejad, 2003). اگر چه در سال‌های اخیر صنعت پرورش و نگهداری اسب در ایران با اهداف مختلف مورد توجه بیش‌تری قرار گرفته و پیشرفت‌های چشمگیری را نیز دربرداشته است، اما همچنان بسیاری از مسایل پرورش، اصلاح نژاد، تغذیه و بیماری‌های این دام حل نشده باقی‌مانده که نیازمند تحقیق و پژوهش بیش‌تر می‌باشد. اهمیت تخمین دقیق سن اسب (که عمدتاً بر اساس ارزیابی دندان‌ها صورت می‌گیرد)، بر همگان روشن است (Muylle et al, 1996). توانایی تخمین سن، می‌تواند هنگام خرید دام، پیش‌بینی مدت زمان زندگی ورزشی مفید آن، کمک به تعیین پیش‌آگهی بیماری‌ها و اهداف بیمه‌ای به‌کار آید (Muylle et al, 1999). همچنین آنالیز مورفولوژیک دندان‌ها می‌تواند در مشخص نمودن نوع غذای خورده شده یا نوع محیطی که اسب‌ها در آن زندگی می‌کنند نیز مورد استفاده قرار گیرد. هم در طول دوره‌ی زندگی اسب‌ها و هم سال‌های زیادی پس از مرگ آن‌ها، ظاهر دندان‌ها ممکن است سن، جنس و وضعیت سلامت دام را مشخص سازد (Luszczyński & Pieszka, 2011).

تعیین سن اسب مبتنی بر ظاهر و مورفولوژی دندان‌های پیش، اولین بار ۶۰۰ سال قبل از میلاد مسیح مورد توجه قرار گرفته (Navin, 1882) و پس از آن در سراسر تاریخ به کار رفته است. امروزه این روش، یکی از کارهای معمول دامپزشکان اسب به حساب می‌آید. باید دانست که در تعیین سن یک اسب، ممکن است اختلاف نظر بین چند دامپزشک وجود داشته باشد (Richardson et al. 1994). باید در نظر داشت که تفاوت‌های نژادی یکی از پارامترهای تأثیرگذار بر تخمین سن اسب است (Gaspardy et al. 2009). همان طور که Muylle و همکاران (۱۹۹۸)، این تفاوت‌ها را بین اسبان عرب، سرعت و بارکش بلژیکی مشاهده نموده و گزارش کردند که سایش دندانی در اسبان عرب آهسته‌تر از ۲ نژاد دیگر بود. قابل توجه آن که برخی از محققان، تعیین سن براساس ساختمان دندان‌ها را نه تنها یک علم بلکه هنر نیز می‌دانند (Martin et al. 1999). اثر سن بر مورفولوژی دندانی اسب، بیش‌تر روی دندان‌های پیش مطالعه شده است. این امر احتمالاً به دلیل سهولت دسترسی به این دندان‌ها و تغییرات قابل توجه آن‌ها می‌باشد (Carmalt & Allen 2008). از جمله تحقیقات انجام شده می‌توان به مطالعات صورت گرفته بر روی اسبان تروبرد و اسب‌های بارکش بلژیکی اشاره کرد. Richardson و همکاران (۱۹۹۵)، در بررسی زمان رویش دندان‌های پیش دایمی پایینی در اسبان تروبرد، رویش زودتر از موعد دندان‌های I2 و I3 را در برخی موارد گزارش کردند. Muylle و همکاران (۱۹۹۷)، زمان رویش دندان‌های پیش دایمی در اسب‌های بارکش بلژیکی را تا ۷ ماه دیرتر از زمان معمول گزارش کردند.

از آن جا که لزوم تخمین دقیق سن اسب بر اساس وضعیت دندانی یک تکنیک علمی و توأم با هنرمندی است که تا به حال در مورد اسبان اصیل عرب خوزستان انجام نشده است و همچنین با توجه به علاقه‌مندی اسبداران به مبحث تخمین دقیق سن اسب و کاربردهای آن، در پژوهش حاضر مطالعه‌ی دندان‌های پیش مادیان‌های عرب خوزستان با هدف تهیه‌ی پروفایل سنی تغییرات آن‌ها صورت گرفت.

مواد و روش کار

در این پژوهش، ۸۴ رأس مادیان عرب خوزستان در سطح تعدادی از باشگاه‌های سوارکاری و مراکز نگهداری اسب مورد بررسی قرار گرفتند که ۶ رأس از این دام‌ها به دلیل مشکلات دندانی مداخله‌گر در مطالعه، از بررسی حذف شده و در نهایت ۷۸ رأس مورد ارزیابی شدند. این اسب‌ها از نظر بالینی به ظاهر سالم بوده و دندان‌های آن‌ها نیز در معاینه‌ی ابتدایی، مشکل قابل توجهی نداشتند. علت این که فقط مادیان‌ها مورد بررسی قرار گرفتند، اولاً جمعیت بیشتر آن‌ها نسبت به نریان‌ها در استان و ثانیاً سهولت

دسترسی و کار کردن با مادیان‌ها بود. جهت بررسی، مادیان‌ها با توجه به تغییرات مورفولوژیک ایجاد شده در دندان‌ها (Dyce et al. 2018)، به ۵ گروه سنی شامل: ۱) زیر ۱ سال، ۲) از ۱ سال تا کم‌تر از ۲/۵ سال، ۳) از ۲/۵ سال تا کم‌تر از ۵ سال، ۴) از ۵ سال تا کم‌تر از ۱۰ سال و ۵) بزرگ‌تر از ۱۰ سال تقسیم شدند.

در هر مورد، اطمینان از اصالت اسب با توجه به مستندات تبارشناسی ثبت شده در شناسنامه، پاسپورت یا داغ روی گردن صورت گرفته و سن دام نیز بر پایه همین اسناد یادداشت می‌شد. پس از تأیید اصالت مادیان، با مقید کردن دام، دهان آن باز شده و ابتدا از نماهای دهلیزی چپ (به‌صورت قراردادی) و پوزه‌ای از دندان‌های پیش روی هم قرار گرفته، با دوربین دیجیتال عکس گرفته می‌شد. سپس از نمای نزدیک، از سطح جوشی دندان‌های پیش پایینی و در صورت وجود ناودان گالوین روی دندان پیش گوشه‌ای بالا، از آن‌ها نیز تصویری تهیه می‌گردید. سن اشاره شده در زیرنویس تصاویر، سن تبارنامه‌ای حیوان بوده و لذا به صورت دقیق و حتی به روز قابل اشاره بود.

تصاویر تهیه شده مورد تجزیه و تحلیل رایانه‌ای قرار گرفته و پارامترهای مربوط به رویش دندان‌های شیری و دایمی و تعداد آن‌ها، تغییرات سطح جوشی دندان‌های پیش پایین شامل حضور و از بین رفتن فنجانک، نقطه‌ی مینایی، ستاره‌ی دندانی (Dyce et al. 2018, Richardson et al. 1995) و وجود و تغییرات شیار گالوین در دندان گوشه‌ای بالا (Dyce et al. 2018, Muylle et al. 2007) بررسی شد. شاخص وجود قلاب در دندان گوشه‌ای بالا سمت چپ نیز بررسی گردید. با توجه به این که وضعیت تغذیه و مدیریت اسبداری‌ها درمورد شاخص تراز شدن تاثیر مستقیمی دارد، این شاخص مدنظر ما قرار نگرفت.

نتایج

در این مطالعه ۷۸ رأس مادیان عرب خوزستان ارزیابی گردید که در بازه‌ی سنی ۱۵ روز تا ۲۴ سال قرار داشتند. تعداد و میانگین سنی مادیان‌های بررسی شده در هر گروه در Table 1 آورده شده است.

Table 1. Sample size and mean age of mares examined in each age group

Age groups	Number	Mean age ± Standard deviation (months)
I) under 1 year old	14	6.25 ± 4
II) between 1 year and less than 2.5 years old	15	19.13 ± 6.45
III) between 2.5 years and less than 5 years old	15	45 ± 6.88
IV) between 5 years and less than 10 years old	21	84.19 ± 13.59
V) older than 10 years old	13	199.23 ± 53.51
Total	78	

پروفایل سنی تغییرات مشاهده شده در دندان‌های پیش پایین مادیان‌های عرب خوزستان

گروه اول

تا ۱۵ روزگی: پیش‌های شیری مرکزی شروع به رویش کرده‌اند (Figure 1-A).

۱ ماهگی: از نمای پوزه‌ای، پیش‌های مرکزی بالایی و پایینی در تماس با یکدیگر قرار دارند. پیش‌های میانی از سطح لثه بیرون زده‌اند. سطح جوشی پیش‌های مرکزی اندکی ساییده شده‌اند و فنجانک در آن‌ها عمیق بود (Figure 1-B).

تا ۶ ماهگی: دندان‌های پیش میانی شیری درآمده‌اند و شروع به سایش کرده و دارای فنجانک بودند. در ۲ رأس از مادیان‌ها دندان پیش گوشه‌ای شیری دیده شد.

۶ ماهگی تا ۱ سالگی: دندان‌های پیش گوشه‌ای شیری درآمده بودند. از نمای پوزه‌ای، پیش‌های مرکزی و میانی در تماس با دندان‌های مشابه در فک پایین بودند، تاج هر یک از آن‌ها کاملاً پدیدار گشته بود (Figure 1-C). سطح لبی این دندان‌ها صاف (Smooth) بود. از نمای دهلیزی، پیش‌های کناری از سطح لثه بیرون زده‌اند اما در تماس با یکدیگر نبودند (Figure 1-D). سطوح جوشی دندان‌های مرکزی و میانی ساییدگی داشته و فنجانک دندان‌های مرکزی نسبت به دندان‌های میانی کم‌عمق‌تر بود.

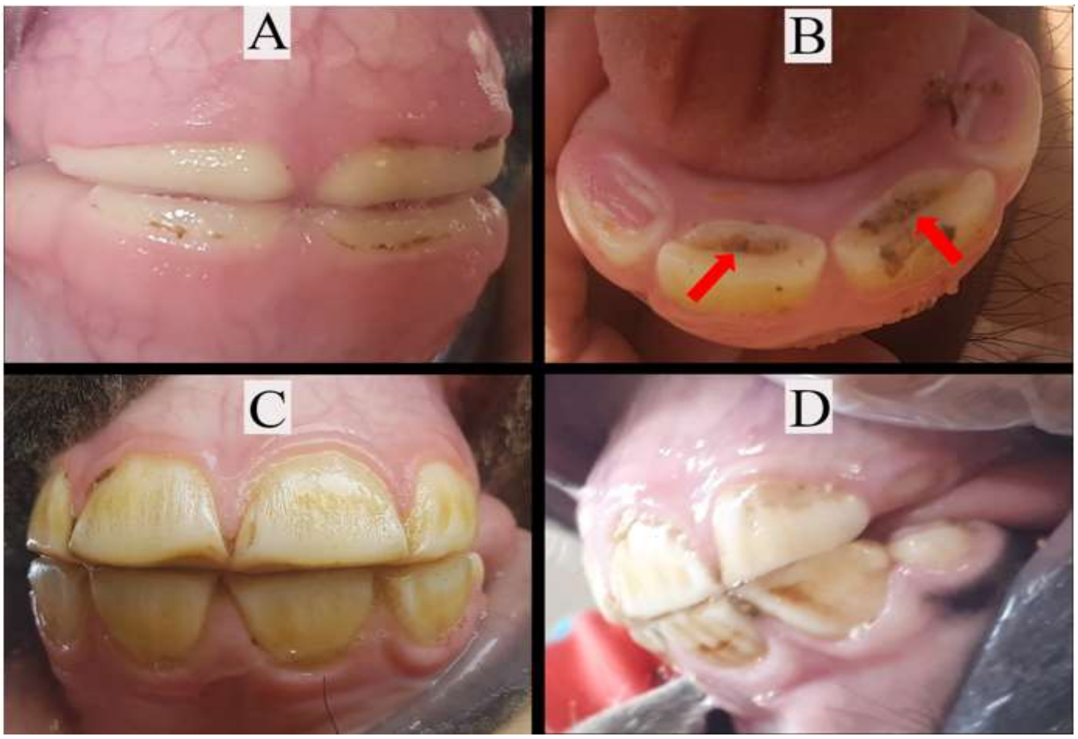

Figure 1. Changes of deciduous incisor teeth in group I (under 1 year old)
A: Rostral surface in 15 days old, B: Occlusal surface in 1 month old, C: Rostral surface in 7 months old, D: Vestibular surface in 10 months old. In figure B, arrows show the cup.

گروه دوم

۱ تا ۱/۵ سالگی: تاج دندان‌های پیش مرکزی و میانی پدیدار شد. از نمای دهلیزی، دندان‌های گوشه‌ای بالا و پایین به طور کامل با یکدیگر تماس ندارند. سطح جوشی در پیش مرکزی سایش زیادی دارد. ستاره‌ی دندانی در دندان‌های مرکزی و میانی به صورت یک خط عرضی تیره یا قهوه‌ای مایل به زرد ممکن است دیده شود (Figure 2-A).

۱/۵ تا ۲ سالگی: از نمای دهلیزی، همه‌ی دندان‌های پیش بالا و پایین در تماس با یکدیگر قرار دارند (Figure 2-B). سطوح جوشی در پیش‌های مرکزی و میانی ساییده شده اما در پیش‌های کناری، ساییدگی اندک بود.

از ۲ سال تا قبل از ۲/۵ سالگی: در ۲ رأس از مادیان‌ها، پیش‌های مرکزی دایمی بالا و پایین شروع به بیرون آمدن کرده ولی در تماس با یکدیگر نبودند (Figure 2-C). سطوح جوشی در پیش‌های مرکزی شیری موجود صاف (Level) شده بودند (Figure 2-D). ستاره‌ی دندانی در پیش‌های شیری پایینی مشخص است.

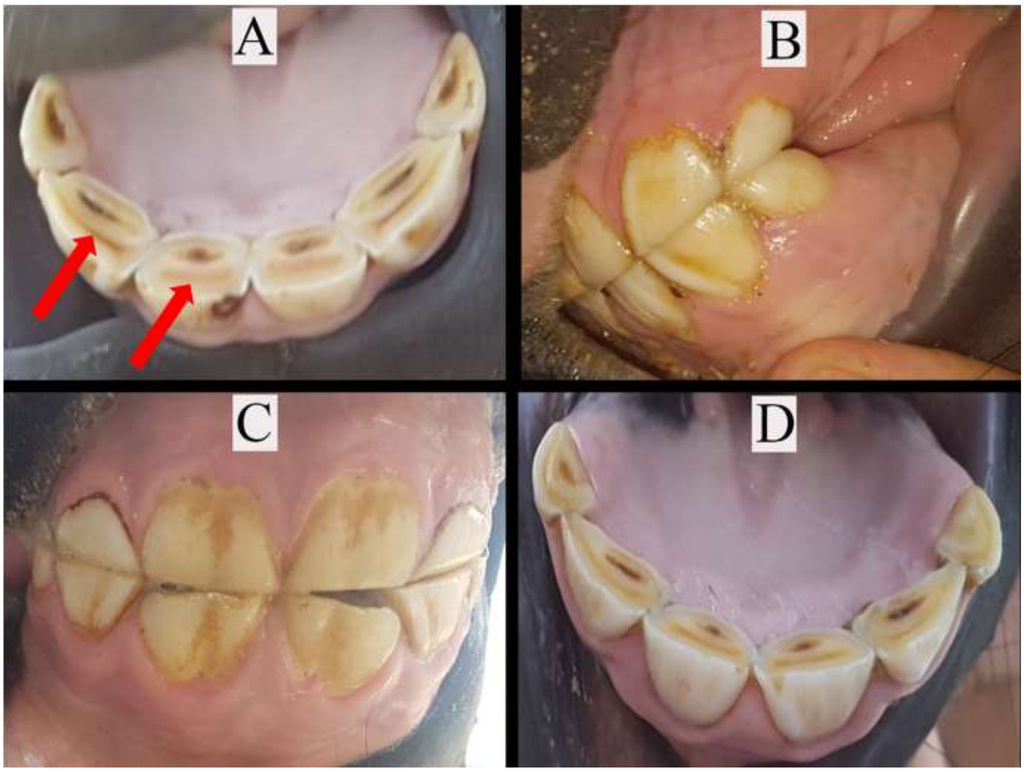

Figure 2. Changes of incisor teeth in group II (between 1 year and less than 2.5 years old)
A: Occlusal surface in 1 year and 4 months old, B: Vestibular surface in 1 year and 10 months old, C: Rostral surface in 2 years and 2 months old, D: Occlusal surface in 2 years and 5 months old. In figure A, arrows show the dental star.

گروه سوم

۲/۵ سالگی تا کم‌تر از ۳ سالگی: دندان‌های پیش مرکزی دایمی در همه مادیان‌ها درآمده و کاملاً در تماس با یکدیگر بوده و هم سطح با پیش‌های میانی شیری بودند (Figure 3-A). سطوح جوشی پیش‌های میانی شیری کاملاً ساییده و تراز (Level) بودند.

۳ تا ۳/۵ سالگی: از نمای پوزه‌ای، ۴ پیش مرکزی دایمی بالا و پایین دیده می‌شدند که شروع به سایش کردند و در مقایسه با دندان‌های شیری مجاور، پهن‌تر و بزرگ‌تر بودند. سطح جوشی هر یک از پیش‌های مرکزی دایمی دارای یک فنجانک عمیق بود. معمولاً پیش‌های میانی دایمی جایگزین شیری‌های خود شده بودند.

۳/۵ تا ۴ سالگی: از نمای پوزه‌ای، هر فک دارای ۴ دندان پیش دایمی بود و پیش‌های مرکزی دایمی در تماس با یکدیگر قرار داشتند. از نمای دهلیزی، دندان‌های گوشه‌ای شیری کوچک به نظر می‌رسیدند (Figure 3-B).

۴/۵ سالگی: دندان‌های گوشه‌ای دایمی از سطح لثه بیرون زده بودند (Figure 3-C). سطوح جوشی در پیش‌های مرکزی و میانی دارای فنجانک مشخصی بوده اما در دندان‌های گوشه‌ای، برخی مادیان‌ها دارای فنجانک بودند (Figure 3-D).

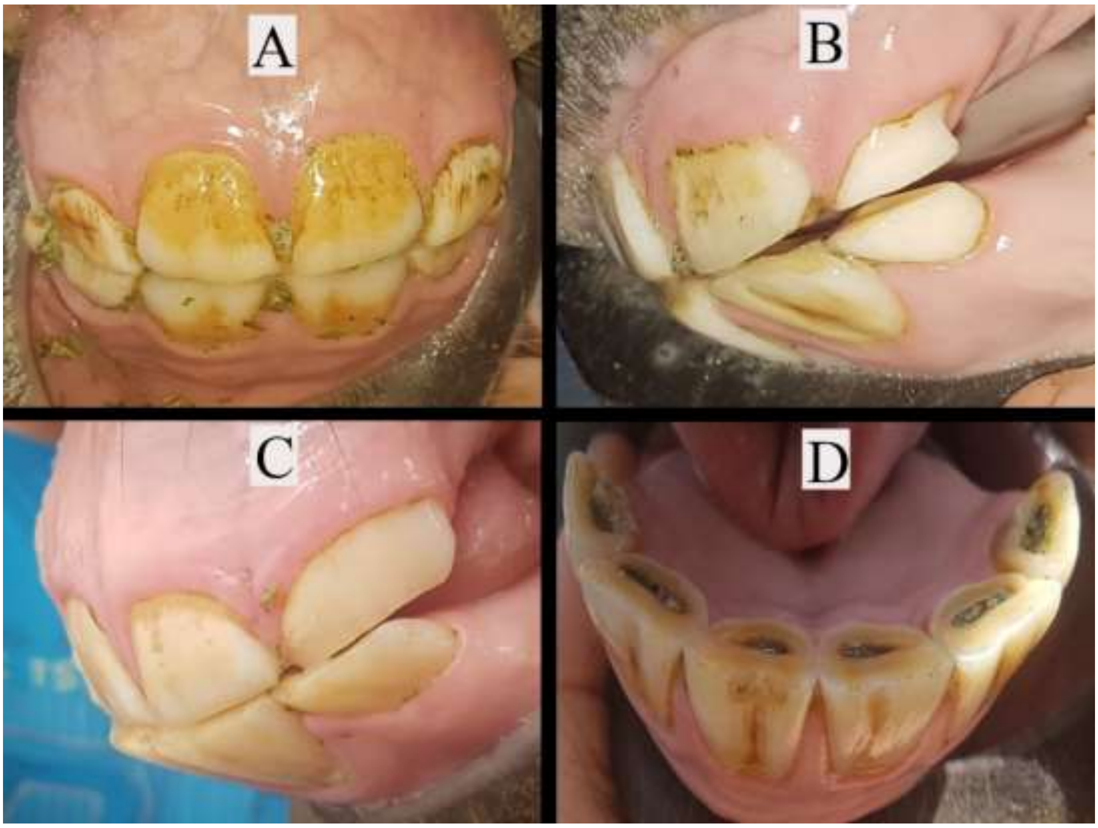

Figure 3. Changes of incisor teeth in group III (between 2.5 years and less than 5 years old)
A: Rostral surface in 2 years and 11 months old, B: Vestibular surface in 3 years and 11 months old, C: Vestibular surface in 4 years and 5 months old, D: Occlusal surface in 4 years and 6 months old.

گروه چهارم

۵ سالگی: همه‌ی دندان‌های دایمی درآمده و دارای فنجانک بودند. سطوح جوشی پیش‌های مرکزی و میانی به طور عرضی گسترش یافته (به شکل بیضی عرضی) و ساییدگی نشان می‌دادند (Figure 4-A).

۶ سالگی: سطح جوشی پیش‌های مرکزی پایین صاف شده و فنجانک آن‌ها معمولاً از بین رفته بود. امکان مشاهده‌ی ستاره‌ی دندانی در پیش‌های مرکزی وجود داشت (Figure 4-B).

۷ سالگی: در نمای دهلیزی دندان‌ها، امکان مشاهده‌ی قلاب (Hook) ۷ سالگی یا زایده‌ی دم چلچله در دندان I_3 بالا وجود داشت (Figure 4-C). فنجانک دندان‌های پیش میانی معمولاً از بین رفته یا در حال از بین رفتن بود.

۸ سالگی: سطوح جوشی پیش‌های پایین صاف بوده و فنجانک آن‌ها معمولاً از بین رفته بود. سطوح جوشی پیش‌های مرکزی در حال گرد شدن بود و در دندان‌های میانی و گوشه‌ای به شکل بیضی عرضی بودند. ستاره‌ی دندانی به شکل یک خط عرضی زرد تیره یا قهوه‌ای متمایل به زرد در پیش‌های مرکزی در بیش‌تر مادیان‌ها دیده می‌شدند. امکان مشاهده‌ی نقطه‌ی مینایی در پیش‌های مرکزی وجود داشت (Figure 4-D).

۹ سالگی: از نمای دهلیزی، قلاب ۷ سالگی معمولاً ناپدید شده بود. ستاره‌ی دندانی و نقطه‌ی مینایی در دندان‌های میانی معمولاً مشاهده می‌شدند.

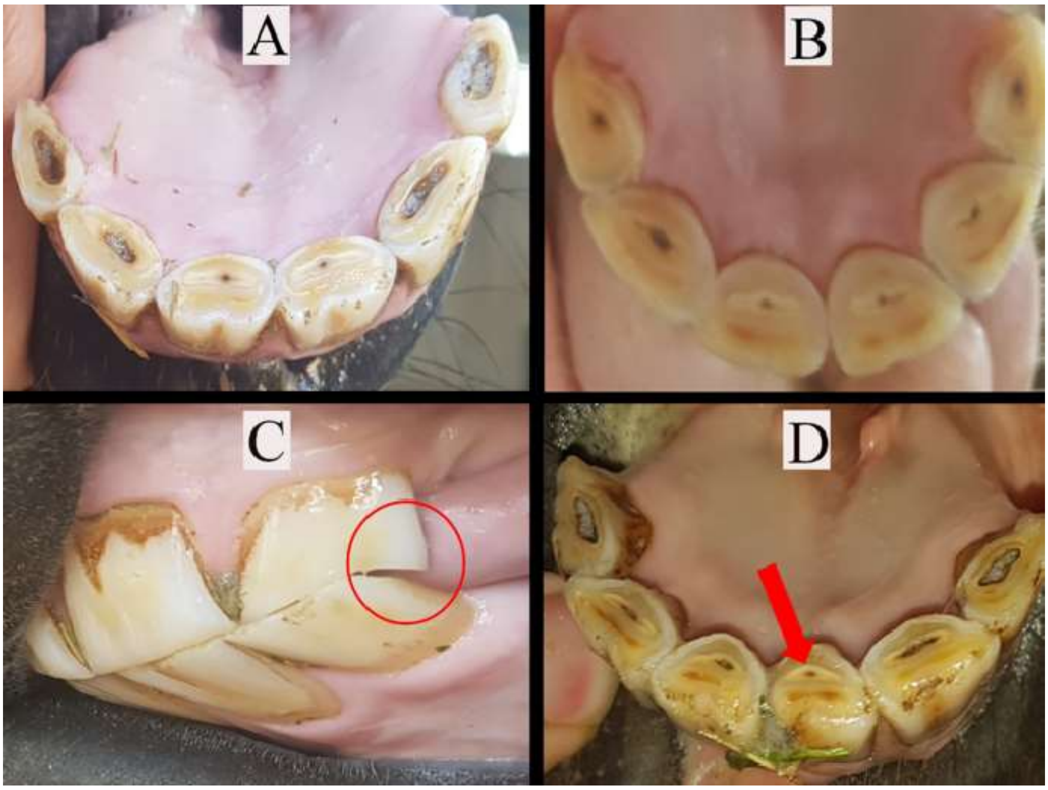

Figure 4. Changes of incisor teeth in group IV (between 5 years and less than 10 years old)
A: Occlusal surface in 5 years and 5 months old, B: Occlusal surface in 6 years and 3 months old, C: Vestibular surface in 7 years and 5 months old, D: Occlusal surface in 8 years and 2 months old. In figure C, circle shows the hook. In figure D, arrow shows the enamel spot.

گروه پنجم

۱۰ سالگی: در نمای دهلیزی، ناودان گالوین ممکن بود نزدیک به خط لثه روی سطح لبی دندان گوشه‌ای بالایی دیده شود.

۱۱ سالگی: در نمای دهلیزی، امکان مشاهده‌ی مجدد قلاب در دندان گوشه‌ای بالایی وجود داشت.

۱۲ سالگی: هر دو کمان دندان‌های پیش اریب‌تر و باریک‌تر شده و زاویه بین دندان‌های گوشه‌ای بالا و پایین حادتر می‌گردید (تصویر ۵- A). سطوح جوشی پیش‌های مرکزی گرد شده و در میانی‌ها در حال گرد شدن بود (تصویر ۵-B).

۱۵ سالگی: در نمای دهلیزی، ناودان گالوین تا نیمه‌ی سطح لبی دندان گوشه‌ای بالایی می‌رسد (تصویر ۵-C). سطوح جوشی پیش‌های مرکزی پایین مثلثی شکل بودند و در پیش‌های میانی و گوشه‌ای در حال گرد شدن بودند.

همه‌ی پیش‌های پایین دارای یک ستاره‌ی دندانی گرد و تیره در مرکز خود بودند.

۲۰ سالگی: ناودان گالوین تمام طول گوشه‌ای‌های بالایی را در سطح لبی آن‌ها در برگرفته است (تصویر ۵-D). سطوح جوشی پیش‌های پایین مثلثی شکل بودند.

۲۰ تا ۲۴ سالگی: حادتر شدن زاویه بین دندان‌های گوشه‌ای بالا و پایین بیشتر به چشم می‌آمد. ناودان گالوین از انتهای پروکسیمال سطح لبی تاج دندان گوشه‌ای شروع به ناپدید شدن کرده و در سن ۲۴ سالگی تا نیمه از بین می‌رفت.

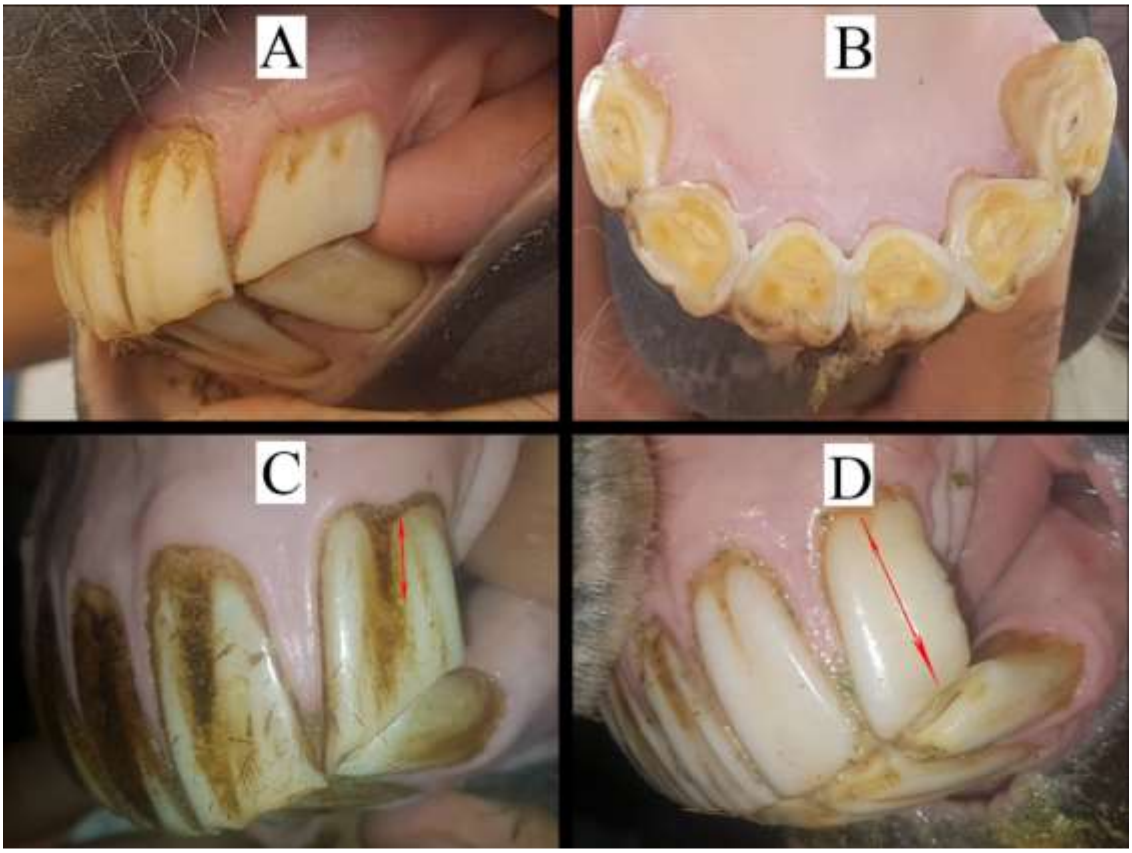

Figure 5- Changes of incisor teeth in group V (older than 10 years old)
A: Vestibular surface in 12 years old, B: Occlusal surface in 12 years old, C: Vestibular surface in 15 years old, D: Vestibular surface in 20 years old. Arrow shows the size of galvayne's groove at clinical crown length in upper tooth I_3.

بحث

منابع آناتومی دامپزشکی، زمان رویش دندان dI_1 در اسب را از تولد تا یک هفتگی بیان نموده‌اند (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, Getty 1975, König & Liebich 2020, Schummer & Nickel 1979). برای رویش dI_2 در اسب، زمان‌های متفاوتی در منابع ذکر شده است؛ از جمله، ۳-۴ هفتگی و به ندرت تا ۸ هفتگی (Schummer & Nickel 1979)، ۴-۶ هفتگی (Getty 1975)، ۱ ماهگی (De Lahunta & Habel 1986) و ۶ هفتگی (Dyce et al. 2018, König & Liebich 2020). بیش‌ترین اختلاف در مورد رویش دندان‌های پیش شیری در منابع در دسترس، مربوط به دندان dI_3 می‌باشد. به طوری که از ۵ تا ۹ ماه (Schummer & Nickel 1979)، ۶ تا ۹ ماه (Getty 1975)، ۶ ماه (Dyce et al. 2018, König & Liebich 2020) و ۸ ماه (De Lahunta & Habel 1986) ذکر گردیده است. این اختلاف زمان‌ها در مطالعه‌ی حاضر نیز مشاهده گردید و دندان dI_3 در مادیان‌های عرب خوزستان، زمان رویش متنوعی داشت. در حالی که زمان رویش دندان‌های dI_1 و dI_2 تقریباً مشابه با سایر اسبان بود.

مشابه با نتایج مطالعه‌ی حاضر بیش‌تر منابع در دسترس، زمان رویش دندان‌های پیش پایینی در اسب را به ترتیب از مرکزی به کناری ۲/۵، ۳/۵ و ۴/۵ سالگی گزارش کرده‌اند (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, Getty 1975, König & Liebich 2020, Lowder & Mueller 1998, Martin et al. 1999). هر چند که در برخی منابع تا

۶ ماه تأخیر برای رویش هر کدام از دندان‌های یاد شده ذکر شده است (Schummer & Nickel 1979, Silver 1963). Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵، در بررسی زمان رویش دندان‌های پیش دایمی پایینی در اسبان تروبرد، رویش زودتر از موعد دندان‌های I_2 و I_3 را همچون پژوهش حاضر در برخی موارد گزارش کردند. با این وجود در بیش‌تر موارد، دندان‌ها در زمان موعود رویش یافته بودند. Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۷، زمان رویش دندان‌های پیش دایمی در اسب‌های بارکش بلژیکی را تا ۷ ماه دیرتر از زمان معمول گزارش کردند. بدیهی است که تفاوت‌های گزارش شده علاوه بر تفاوت گونه‌ها می‌تواند به دلیل تفاوت‌های نژادی و سویه‌ای بین اسبان مختلف باشد.

منابع در دسترس، زمان از بین رفتن فنجانک در دندان‌های پیش شیری را تقریباً مشابه با اسبان عرب بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر گزارش کرده‌اند. از جمله، Silver در سال ۱۹۶۳ که ۲۴–۱۲ ماهگی و König و Liebich در سال ۲۰۲۰ که ۲۴–۱۰ ماهگی را بیان داشتند. در خصوص از بین رفتن فنجانک در دندان‌های پیش دایمی، همچون پژوهش حاضر طیف وسیع سنی در منابع مختلف گزارش شده است. بیش‌تر منابع کالبدشناسی دامپزشکی، سن ۶ تا ۸ سال را زمان از بین رفتن فنجانک دندان‌های پیش پایین عنوان کرده‌اند (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, König & Liebich 2020, Martin et al. 1999). در حالی که در بررسی روش‌های مختلف تعیین سن حیوانات اهلی، زمان از بین رفتن فنجانک دندان‌های پیش دایمی اسبان ۷ تا ۹ سال بیان شده است (Silver 1963). Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵، زمان از بین رفتن فنجانک‌ها در دندان‌های پیش دایمی اسبان تروبرد را ۳ تا ۱۷ سال گزارش کردند. Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۶، به از بین رفتن فنجانک دندان‌های پیش دایمی اسبان سرعت در سن ۷ تا ۱۴ سال اشاره داشتند. از بین رفتن فنجانک در اسب‌های بارکش بلژیکی در سنین ۵ تا ۱۰ سال گزارش شده، به طوری که اسبان بیش‌تر از ۱۱ سال بر روی دندان‌های پیش پایین فاقد فنجانک بودند (Muylle et al. 1997). در مطالعه‌ای که در سال ۱۹۹۸ بر روی اسبان عرب در کشور بلژیک انجام گردید، از بین رفتن فنجانک I_1 در سن ۶ تا ۷ سالگی، I_2 در ۷ تا ۱۱ سالگی و I_3 در ۹ تا ۱۵ سالگی گزارش گردید (Muylle et al. 1998).

تفاوت‌های مشاهده شده در سن از بین رفتن فنجانک دندان‌های پیش پایین علاوه بر تفاوت‌های گونه‌ای، نژادی و سویه‌ای می‌تواند به دلیل تفاوت در عمق فنجانک دندان‌ها و همچنین نسبت متفاوت سایش در دندان‌های تک‌سمیان مختلف باشد. نکته‌ی مهم دیگری که می‌تواند باعث به وجود آمدن این طیف سنی شده باشد، به خاطر این واقعیت است که ارزیابی این شاخص توسط افراد مختلف و با استفاده از حواس ظاهری (دیدن) صورت می‌گیرد. لذا ممکن است دندانی که توسط یک فرد فاقد فنجانک تشخیص داده شود، به وسیله‌ی فرد دیگری دارای فنجانک سطحی و کم‌عمق طبقه‌بندی گردد. شاید به همین دلیل باشد که برخی محققین (Muylle et al. 1997)، برای ناپدید شدن فنجانک در تخمین سن اسب ارزش زیادی در نظر نگرفته‌اند. به نظر می‌رسد چنانچه اندازه‌گیری عمق فنجانک‌ها امکان‌پذیر باشد، این چالش تا حد زیادی برطرف خواهد شد. هر چند که انجام این کار در اسبان زنده آسان نیست. علی‌رغم آنچه گفته شد، در پژوهش حاضر همانند مطالعه‌ی Luszczynski و همکاران در سال ۲۰۱۵، از بین رفتن فنجانک، شاخص مناسبی برای تخمین سن دندانی تشخیص داده شد. Luszczynski و Pieszka در سال ۲۰۱۱، نیز این شاخص را جهت تخمین سن اسب‌های هوکول (نوعی اسبچه) قابل اعتماد معرفی کردند.

زمان ظهور ستاره‌ی دندانی در منابع کالبدشناسی دامپزشکی ۸ سالگی عنوان شده است (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, Getty 1975). در حالی که در این مطالعه، در حدود ۵/۵ سالگی این شاخص اولین‌بار مشاهده شد. زمان گرد شدن ستاره‌ی دندانی نیز در منابع، ۱۵ تا ۱۶ سال (تقریباً مشابه با پژوهش حاضر) بیان گردیده است (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018). Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵،

ظهور ستاره‌ی دندانی را در اسبان تروبرد در سن ۳ سال و ۹ ماه گزارش کردند. Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۶، ستاره‌ی دندانی I_1 تا I_3 را در اسبان سرعت به ترتیب در سن ۵ سالگی، بیش از ۶ سال و ۷ تا ۸ سال مشاهده نمودند. در اسبان بارکش بلژیکی، ستاره‌ی دندانی در دندان‌های پیش پایین به ترتیب در سنین ۴، ۵ و ۶ تا ۷ سال دیده شد (Muylle et al. 1997). این در حالی است که همین محققان، در اسبان عرب کشور بلژیک، ظهور ستاره‌ی دندانی در دندان‌های پیش پایین را ۵ تا ۷ سالگی یعنی ۲ تا ۳ سال زودتر از بیش‌تر گزارشات بیان داشتند (Muylle et al. 1998) که از این بابت تقریباً مشابه با نتایج پژوهش حاضر بود.

همان طور که پیش از این گفته شد، ظهور ستاره‌ی دندانی در مادیان‌های عرب خوزستان همچون اسبان عرب و غیر عرب بررسی شده توسط سایر محققان، قبل از ۸ سالگی (زمان اشاره شده در منابع کالبدشناسی دامپزشکی) رخ داده است. از طرفی ظهور ستاره‌ی دندانی به دلیل پراکندگی سنی زیاد در پژوهش حاضر به عنوان شاخص قابل اعتمادی شناخته نشد، حال آن که Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۷، این پارامتر را یکی از قابل اعتمادترین ویژگی‌های دندانی در اسبان بارکش بلژیکی گزارش نمودند. برخلاف نظر آن‌ها، Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵، پراکندگی سنی زیادی را در این شاخص (همچون پژوهش حاضر) بیان داشتند. به نظر می‌رسد ظهور ستاره‌ی دندانی به دلیل این که به شدت تحت تأثیر نوع تغذیه، آرایش دندان‌ها و میزان سایش است، دارای طیف سنی زیادی بوده و تفاوت‌های نژادی و فردی که بر دندان‌بندی و شکل آرواره‌های اسبان مؤثرند، مزید بر علت هستند. لذا با توجه به تفاوت‌های مشاهده شده با منابع کالبدشناسی دامپزشکی، بهتر است این شاخص با احتیاط بیش‌تری مورد قضاوت و استفاده قرار گیرد. البته انجام مطالعات وسیع‌تر در نژادهای مختلف اسب در آینده شاید بتواند سبب تغییر سنین ارایه شده مرتبط با این شاخص در منابع کالبدشناسی دامپزشکی گردد.

بررسی منابع کالبدشناسی دامپزشکی نشان داد که نقطه‌ی مینایی بین سنین ۹ تا ۱۱ سالگی بر روی دندان‌های پیش پایین اسب ظاهر شده و در ۱۳ تا ۱۶ سالگی از بین می‌رود (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, Martin 2002). بنابراین به نظر می‌رسد نقطه‌ی مینایی در دندان‌های پیش مادیان‌های عرب خوزستان به ویژه در دندان I_1 حدود یک‌سال زودتر از موعد معمول ظاهر شده، در حالی که در دندان‌های I_2 و I_3 یک تا دو سال دیرتر مشاهده می‌شود. اما زمان از بین رفتن این شاخص در مادیان‌های عرب بررسی شده تقریباً مشابه با سایر اسبان و سنین ثبت شده در منابع می‌باشد.

شاخص تغییرات شکل سطح جوشی، متنوع‌ترین و پر تفاوت‌ترین پارامتر در مطالعات انجام شده بر روی دندان‌های پیش اسب گزارش شده است. الگوی تغییر شکل از بیضی عرضی به گرد و سپس مثلثی، همچون این پژوهش در بیش‌تر منابع مورد اشاره قرار گرفته است، اما سن وقوع این تغییرات در منابع و مطالعات مختلف، متفاوت بود. به طوری که زمان گرد شدگی از ۹ تا ۱۰ سالگی (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018)، ۹ تا ۱۲ سالگی (Martin 2002, Schummer & Nickel 1979)، ۱۲ تا ۱۷ سالگی (König & Liebich 2020) و ۱۵ سالگی (Getty 1975) ذکر شده است. مثلثی شکل شدن سطح جوشی دندان‌های پیش در ۱۴ تا ۱۷ سالگی (Schummer & Nickel 1979)، ۱۵ تا ۱۷ سالگی (Martin 2002)، ۱۶ تا ۱۷ سالگی (De Lahunta & Habel 1986) و ۱۶ تا ۱۸ سالگی (Dyce et al. 2018) گزارش گردیده است. البته برخی منابع (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018) به عدم پیروی تغییرات دندان I_3 از الگوی یاد شده اشاره کرده‌اند.

در مطالعات انجام شده توسط محققان مختلف نیز پراکندگی سنی زیادی در ارتباط با این شاخص گزارش شده است. Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵، اشاره داشتند که علی‌رغم وجود همبستگی معنی‌دار بین شکل سطح جوشی دندان‌های پیش اسب تروبرد و سن، این

پارامتر به دلیل پراکندگی بالای داده‌ها شاخص خوبی جهت تخمین سن نبود. Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۷، وقوع تغییرات شکل سطح جوشی دندان‌های پیش را در اسبان بارکش ۱ سال زودتر از اسبان سرعت گزارش کردند. همچنین بر اساس نظر این محققان، تغییرات در اسبان عرب دیرتر از اسبان بارکش و سرعت رخ داد (Muylle et al. 1998). این محققان نیز همچون برخی منابع کالبدشناسی دامپزشکی (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018)، عدم پیروی دندان I_3 از الگوی مورد انتظار تغییرات شکل سطح جوشی را گزارش نمودند.

با بررسی منابع و مطالعات مختلف، به نظر می‌رسد تغییرات شکل سطح جوشی در مادیان‌های عرب خوزستان تا حد زیادی مطابق با الگوی ذکر شده‌ی Martin در سال ۲۰۰۲ باشد. اگر چه به دلیل تنوع سنی زیاد و پراکندگی داده‌های ثبت شده، این شاخص در مطالعه‌ی حاضر به عنوان پارامتر مناسب جهت تخمین سن تشخیص داده نشد. در تأیید این نتایج، Luszczynski و Pieszka در سال ۲۰۱۱، شکل سطح جوشی را جهت تخمین سن در اسبان هوکول قابل اعتماد ندانستند.

بیش‌تر منابع کالبدشناسی دامپزشکی سن ظاهر شدن قلاب را ۷ سالگی عنوان کرده‌اند. به عقیده‌ی ایشان این شاخص در ۹ سالگی ناپدید شده و مجدداً بین ۱۱ تا ۱۳ سالگی ظاهر می‌شود (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, König & Liebich 2020, Martin 2002). البته به مشاهده‌ی این شاخص تا ۲۰ سالگی نیز اشاره شده است (Getty 1975).

Muylle و همکاران در سال ۲۰۰۷، با بررسی اسبان استانداردبرد، بارکش بلژیکی، عرب و اسبچه‌ی شت‌لندی، سن مشاهده‌ی قلاب را ۵ تا ۱۹ سالگی گزارش کردند. این شاخص در ۱۶ درصد از اسبان بررسی شده توسط ایشان مشاهده گردید. مطالعات دیگر این محققان در اسبان عرب (Muylle et al. 1998)، بارکش (Muylle et al. 1997) و سرعت (Muylle et al. 1996) نیز به بی‌ارزش بودن شاخص قلاب در تخمین سن اسب اشاره کرده است.

Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۵، امکان مشاهده‌ی قلاب دندان گوشه‌ی بالا را در اسبان تروبرد از حدود ۵ تا ۱۸ سالگی بیان نمودند. با توجه به آنچه که در منابع کالبدشناسی دامپزشکی گفته شده، به نظر می‌رسد زمان ظاهر شدن قلاب در مادیان‌های عرب خوزستان نیز همچون سایر اسبان باشد. به هر حال، رخداد نسبتاً پایین این شاخص از یک طرف و امکان مشاهده‌ی مجدد آن در سنین مختلف سبب می‌شود که قلاب به عنوان پارامتر مناسب و قابل اعتمادی جهت تخمین سن دندانی اسب محسوب نگردد.

منابع کالبدشناسی دامپزشکی سن پدیدار شدن ناودان گالوین را اکثراً ۹ تا ۱۰ سالگی ذکر کرده‌اند و تقریباً در تمام آن‌ها، به پیش‌روی ناودان تا ۲۰ سالگی و پس از آن پس‌روی و ناپدید شدن تا ۳۰ سالگی اذعان شده است (De Lahunta & Habel 1986, Dyce et al. 2018, Getty 1975, Martin 2002). بیش‌تر گزارش‌های در دسترس نیز سن پدیدار شدن ناودان در اسب را بعد از ۹ سالگی (Muylle et al. 1996, Muylle et al. 1997, Muylle et al. 1998) ذکر کرده‌اند. البته در یک مورد به مشاهده‌ی ناودان گالوین در یک اسب تروبرد به سن ۴ سال و ۱۱ ماه اشاره شده است (Richardson et al. 1995). با توجه به سن پیدایش ناودان گالوین در پژوهش حاضر (۱۱ سال و ۱۰ ماه)، این یافته مشابه با گزارش Muylle و همکاران در سال ۱۹۹۸، در اسبان عرب می‌باشد. چرا که ایشان نیز سن ۱۱ سال و ۶ ماه را زمان پیدایش ناودان گالوین ذکر کردند (Muylle et al. 1998).

با وجود تاکید بر حضور تقریباً همیشگی ناودان گالوین در اسب‌های میان‌سال و مسن، به دلیل تنوع در طول آن، این ویژگی تخمین سن در برخی مطالعات، مناسب تشخیص داده نشده است (Muylle et al. 1996, Muylle et al. 1999, Muylle et al. 1997, Muylle et al. 1998). این امر احتمالاً به دلیل عدم در نظر گرفتن میزان پیش‌روی و پس‌روی ناودان تا میانه‌ی دندان به ترتیب در ۱۵ و ۲۵ سالگی (الگوی ذکر شده در منابع کالبدشناسی دامپزشکی)

می‌باشد. در پژوهش حاضر که پیش‌روی و پس‌روی ناودان گالوین براساس الگوی منابع یاد شده ارزیابی گردید، این شاخص نشانه‌ی مفیدی جهت تخمین سن (در اسبان گروه پنجم) شناخته شد، به طوری که با تقریب ۱ تا ۲ سال، امکان تخمین سن را فراهم می‌ساخت. در تأیید این نتایج، مطالعه‌ی Richardson و همکاران در سال ۱۹۹۴، نیز ناودان گالوین را ویژگی مفیدی برای تخمین سن اسب معرفی کرده است. به هر حال، با توجه به این که در اسبان مسن تغییرات سطح جوشی چندان قابل اعتماد نیستند، به نظر می‌رسد ناودان گالوین بتواند با اختلاف چندساله به چالش تخمین سن پاسخ دهد.

در مادیان‌های بررسی شده که در بازه‌ی سنی ۱۵ روز تا ۲۴ سال قرار داشتند، رویش دندان‌های پیش پایین و برخی تغییرات مورفولوژیک آن در مواردی زودتر از زمان معمول مشاهده گردید که شاید به دلیل بلوغ جسمی سریع‌تر در مادیان‌های عرب خوزستان باشد، همانند آنچه Luszczyński و همکاران در سال ۲۰۱۵ در اسبان عرب اروپای شرقی گزارش کرده‌اند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهش و فن‌آوری دانشگاه شهید چمران اهواز برای تأمین منابع مالی این پروژه تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی را در این پژوهش شناسایی نکردند.

منابع مالی

این پژوهش به وسیله‌ی حمایت مالی دانشگاه شهید چمران اهواز (پژوهانه شماره: scu,VB98.293) انجام شده است.

منابع

Ahmadinejad, M. (2003). *Horse Behavior* (1st Edition). College of Applied Science and the skill of Agriculture. Tehran, Iran. Pp. 104-116. (In Persian).

Carmalt, J. L., & Allen, A. L. (2008). Morphology of the occlusal surfaces of premolar and molar teeth as an indicator of age in the horse. *Journal of Veterinary Dentistry*, 25(3), 182-188.

De Lahunta, A., & Habel, R. E. (1986). *Applied Veterinary Anatomy* (1st Edition). WB Saunders Company. Philadelphia, USA. Pp. 5-16.

Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. (2018). *Text Book of Veterinary Anatomy* (5th Edition). WB Saunders Company. Philadelphia, USA. Pp. 512-520.

Getty, R. (1975). *Sisson and Grossman's the Anatomy of the Domestic Animals*, Vol. 1. (5th Edition). WB Saunders Company. Philadelphia, USA. Pp. 460-470.

König, H. E., & Liebich, H. G. (2020). *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: textbook and colour atlas* (7th Edition). Schattauer Verlag. Stuttgart, Germany. Pp. 286-293.

Lowder, M. Q., & Mueller, P. E. (1998). Dental embryology, anatomy, development and aging. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*, 14(2), 227-245.

Luszczyński, J., & Pieszka, M. (2011). Usefulness of selected incisor characteristics for determining the age of Hucul horses. *Annals of Animal Science*, 11(4), 569-575.

Luszczyński, J., Pieszka, M., Długosz, B., & Plucińska, N. (2015). Comparison of changes on the incisors of Arabian and Anglo-Arabian horses. *Medycyna Weterynaryjna*, 71(12), 782-786.

Martin, M. T., Martin, M. T., Scrutchfield, W. L., & Joyce, JR. (1999). A systematic approach to estimating the age of a horse. *AAEP Proceedings, Lexington*, 45, 273-275.

Martin, T. M. (2002). *American Association of Equine Practitioners guide for determining the age of the horse* (6th Edition). Fort Dodge. Iowa, USA.

Muylle, S., Simoens, P., & Lauwers, H. (1996). Ageing horses by an examination of their incisor teeth: an (im) possible task?. *Veterinary Record*, 138(13), 295-301.

Muylle, S., Simoens, P., & Lauwers, H. (1999). Age-related morphometry of equine incisors. *Journal of Veterinary Medicine*, 46(10), 633-643.

Muylle, S., Simoens, P., Lauwers, H., & Van Loon, G. (1997). Ageing draft and trotter horses by their dentition. *Veterinary Record*, 141(1), 17-20.

Muylle, S., Simoens, P., Lauwers, H., & Van Loon, G. (1998). Ageing Arab horses by their dentition. *Veterinary Record*, 142(24), 659-662.

Muylle, S., Van Loon, G., & Simoens, P. (2007). Galvayne's groove and the presence of a hook on the upper corner incisors are poor indicators of age in horse teeth. *Pferdeheilkunde*, 23(1), 59.

Navin, J. N. (1882). *Navin's Veterinary Practice* (1st Edition). Indianapolis, Fairmount. Indiana, USA. Pp. 431-446.

Richardson, J. D., Cripps, P. J., & Lane, J. G. (1995). An evaluation of the accuracy of ageing horses by their dentition: changes of dental morphology with age. *Veterinary Record*, 137, 117-121.

Richardson, J. D., Lane, J. G., & Waldron, K. R. (1994). Is dentition an accurate indication of the age of a horse?. *Veterinary Record*, 135(2), 31-34.

Richardson, J. D., Cripps, P. J., Hillyer, M. H., O'Brien, J. K., Pinsent, P. J., & Lane, J. G. (1995). An evaluation of the accuracy of ageing horses by their dentition: a matter of experience?. *Veterinary Record*, 137(4), 88-90.

Schummer, A., & Nickel, R. (1979). *The Viscera of the Domestic Mamals* (2nd Edition). Verlag Paul Parey. Berlin, Germany, Pp. 75-80, 93-97.

Silver, I. A. (1963). *The Ageing of Domestic Animals* (1st Edition). Science in Archaeology: a comprehensive survey of progress and research. New York, USA. Pp. 250-268.

Received: 09.01.2021
Accepted: 02.05.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2021.238283.2282
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.3.7

بررسی هم‌زمان سیکلوفسفامید و عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر کیفیت اسپرم و متعاقب آن رشد جنین‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی در موش سوری

نرگس دل‌گرم[۱]، مجید مروتی‌شریف‌آباد[۲*]، الهام صالحی[۲]، محمد افخمی‌اردکانی[۳] و محمدسعید حیدرنژاد[۴]

[۱] دانش‌آموخته کارشناسی ارشد علوم جانوری، آموزشکده‌ی پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

[۲] دانشیار گروه علوم پایه، آموزشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

[۳] دانش آموخته دکترای تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

[۴] دانشیار گروه علوم جانوری، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۴/۱۶ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۲۵

چکیده

سیکلوفسفامید یکی از رایج‌ترین داروهای ضد سرطان می‌باشد. باعث آسیب به بافت بیضه و ناباروری می‌شود. این مطالعه با هدف بررسی هم‌زمان سیکلوفسفامید و عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر کیفیت اسپرم و متعاقب آن رشد جنین‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی در موش‌های سوری طراحی شد. در این مطالعه تجربی، ۳۶ موش سوری نر نژاد NMRI با وزن تقریبی۳۶-۳۰ گرم به طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. پس از عادت یافتن با محیط به مدت یک هفته، تیمار تمامی گروه‌ها روزانه به مدت ۲۸ روز انجام شد. گروه‌ها به صورت گروه کنترل، گروه سیکلوفسفامید، دو گروه سیکلوفسفامید همراه با دوز mg/kg ۴۰۰ و ۲۰۰ گرده نخل و دو گروه، گرده نخل به تنهایی، با دوز mg/kg ۴۰۰ و ۲۰۰ تقسیم شدند. متعاقب توزین و تشریح جهت استحصال اسپرم تمامی حیوانات آسان‌کشی شدند. جهت تحریک تخمک‌گذاری با استفاده از PMSG و HCG از ۶ سر موش سوری ماده‌ی بالغ بارور استفاده شد. لقاح در محیط کشت HTF+BSA 4mg انجام شد. تخمک‌های لقاح یافته به مدت ۱۲۰ ساعت انکوبه شدند و مراحل رشد جنینی و میزان باروری داخل آزمایشگاهی در تمامی گروه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج مطالعه نشان داد که درصد تخم لقاح یافته، جنین‌های دو سلولی، مورولا، بلاستوسیت و درصد جنین‌های هچ شده، در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی سیکلوفسفامید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافته است، اما فراسنجه‌های ذکر شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای mg/kg ۴۰۰ و ۲۰۰ متعاقب تجویز سیکلوفسفامید نسبت به گروه سیکلوفسفامید افزایش معنی‌دار داشت. گروه سیکلوفسفامید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری در درصد جنین‌های متوقف شده داشته است. درصد جنین‌های متوقف شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای بالا و پایین متعاقب تجویز سیکلوفسفامید نسبت به گروه سیکلوفسفامید کاهش معنی‌دار نشان داد. عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل دارای اثر محافظتی در برابر سمیت ناشی از سیکلوفسفامید بر لقاح و روند رشد جنین‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی است.

کلمات کلیدی: موش سوری، گرده‌ی نخل، سیکلوفسفامید، لقاح آزمایشگاهی

مقدمه

سرطان در نتیجه‌ی تقسیم غیرقابل کنترل سلول‌ها در اثر عوامل محیطی و اختلالات ژنتیکی به وجود می‌آید (Rezvanfar et al. 2008). سیکلوفسفامید یک عامل آلکیله کننده و یکی از انواع داروهای شیمی‌درمانی است که اثرات

*نویسنده مسئول : مجید مروتی‌شریف‌آباد، دانشیار گروه علوم پایه، آموزشکده پیرادامپزشکی، دانشگاه اردکان، اردکان، ایران

E-mail: mmorovati@ardakan.ac.ir

دارویی چشم‌گیری در درمان بیماری‌های متعدد از جمله سرطان دارد (Ahmed & Dickens 2018). این دارو با عوارض جانبی متعددی همراه و از طریق القای استرس اکسیداتیو و افزایش سطح رادیکال‌های آزاد در بدن اثرگذار می‌باشند (Hosseini et al. 2010). به طور طبیعی اسپرم‌ها برای ظرفیت‌پذیری، واکنش آکروزومی و چسبندگی به تخمک، مقادیر اندکی ROS[1] در حالت طبیعی تولید می‌کنند. این مقدار ROS اضافی توسط آنتی‌اکسیدان‌های مایع انزال خنثی می‌شود. در صورتی که فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها به دلایلی کاهش پیدا کند، استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد که عملکرد سلول، حیات و سایر پارامترهای آن را مختل می‌سازد (Shahidi & Zhong 2015). طبق مطالعات انجام شده در مایع منی مردان نابارور ۲۵–۴۵ درصد (ROS) وجود دارد که این مقدار بالای اکسیژن مبنی بر ناباروری می‌باشد (De Lamirande & Gagnon 1995). استرس اکسیداتیو دارای اثر مخرب روی تکامل جنین است. ROS ناشی از متابولیسم جنین یا از محیط اطراف، نه تنها باعث تغییر بیش‌تر مولکول‌های سلول می‌شود، بلکه باعث القای توقف و یا کندی در تکامل اولیه‌ی جنین نیز می‌شود (Momtahan et al. 2019). در همین راستا wan و همکارانش گزارش کردند افزودن آنتی‌اکسیدان‌ها نسبت تکوین بلاستوسیت در جنین‌های موش را بهبود می‌بخشد (Chaudière et al. 1999). حضور آنتی‌اکسیدان‌ها وضعیت ثابتی از سطح ROS در پلاسمای سمینال ایجاد کرده و رادیکال‌های آزاد؛ اسپرم را در برابر ROS محافظت می‌کند (Sen&Chakraborty 2011). گیاهان دارویی در طول تاریخ پزشکی اهمیت زیادی داشته‌اند. یکی از این گیاهان، نخل خرما (*Phoenix dactylifera*) و از خانواده‌ی اریکاسه است (Mozaffarian 1390). گرده‌ی درخت نخل در ظاهر شبیه غبار و در زیر میکروسکوپ به رنگ زرد مایل به قهوه‌ای مشاهده می‌شود (Hashempour 1378). گرده‌ی نخل حاوی مواد ذخیره‌ای پروتئین، چربی، کربوهیدرات و منبع ویتامین‌های A, E, C و املاح معدنی از قبیل: عنصر بور، روی، سلنیوم، آهن، مولیبدون، مس، منگنز، کبالت، نیکل، اسید آمینه‌های اصلی و اسیدهای چرب است (Hassan 2011). عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل یک افزایش دهنده‌ی جنسی و به عنوان یک تحریک‌کننده پیش انزالی جهت بهبود بخشیدن به ناتوانی جنسی گزارش شده است. به علت وجود آلکالوئیدها، ساپونین و فلاونوئیدها میل جنسی را افزایش می‌دهد (Abedi et al. 2013). بر اساس مطالعات انجام شده میزان قابل توجهی عصاره‌ی الکلی گرده‌ی نخل در حفاظت و بهبود ساختمان بیضه در موش-های دیابتی مؤثر و بر تغییر مقدار تستوسترون بیضه ناشی از دیابت اثر تنظیم‌کنندگی داشته است (Kazeminia 2014). بنابراین به نظر می‌رسد آنتی‌اکسیدان‌های مختلف موجود در گرده‌ی نخل مانند فلاونوئید، کاروتنوئیدها و تانن‌ها مسیرهای ضد آپوپتوزی در سلول‌های کشت داده شده را مهار کنند و از این راه نقش مهمی در تعادل زنده ماندن و تکثیر سلول‌ها دارند (Abedi et al. 2014, Dostal et al. 1996) همچنین مطالعات Jashni & Jahromi در سال ۲۰۱۶ نشان داد که تأثیر گرده‌ی نخل بر روند فولیکولوژنز پس از درمان با سیکلوفسفامید در موش صحرایی باعث بهبود اثرات مضر سیکلوفسفامید می‌گردد (Jahromi & Jashni 2016). مطالعات انجام شده حاکی از آن است گیاهانی که دارای ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فلاونوئیدها هستند قادرند سمیت ناشی از تجویز سیکلوفسفامید را که سبب بروز استرس اکسیداتیو و افزایش رادیکال‌های آزاد هستند در بافت بیضه کاهش دهند. از آن جا که تا کنون اثر داروی گیاهی عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در کاهش اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از تجویز سیکلوفسفامید بر روی رشد جنین‌های حاصل از لقاح داخل آزمایشگاهی در موش‌های تحت درمان با

1- Reactive Oxygen Species

سیکلوفسفامید مورد مطالعه قرار نگرفته است، در این مطالعه بررسی هم‌زمان سیکلوفسفامید و عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل بر کیفیت اسپرم و متعاقب آن رشد جنین‌های حاصل از لقاح آزمایشگاهی در موش‌های سوری مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد وروش کار

تهیه و آماده‌سازی داروی سیکلوفسفامید

داروی سیکلوفسفامید (Endoxan®,Baxter Oncology Gmbh, Gerrmany). ساخت کشور آلمان از داروخانه‌ی تخصصی بیمارستان یزد خریداری شد و به صورت تک دوز (Mg/kg/BW) ۱۰۰ ، به صورت داخل صفاقی تزریق شد.در این مطالعه با توجه به میانگین وزن موش ها(۲±۳۳/۴۴ گرم)(تعداد:۱۸ سر) که دریافت کننده داروی سیکلوفسفامید بودند،به ازاء هر موش ۰۰۳۳/.گرم از پودر داروی سیکلوفسفامیددر ۰/۲ میلی لیتر اب مقطر استریل حل شد و با سرنگ انسولین به صورت داخل صفاقی تزریق شد (Selvakumarand et al. 2006).

تهیه و آماده‌سازی عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل

گرده‌های خریداری شده، از نخلستان‌های استان خوزستان، جمع‌آوری شده بود. سپس عصاره این گرده‌ها با دو غلظت مختلف جهت گاواژ استخراج گردید، بدین صورت که بر حسب میانگین وزن موش‌ها (۶ سر موش دریافت کننده عصاره با دوز پایین و ۶ سرموش دریافت کننده عصاره با دوز پایین به همراه سیکلوفسفامید با میانگین وزنی ۳۳/۶۷ گرم)برای تهیه‌ی دوزmg/kg ۲۰۰ ،به ازاءهر سر موش ۰/۰۰۶۷g پودر گرده‌ی نخل توسط ترازو وزن شد و برای ۱۲ سر موش ۰/۰۸۰۴ گرم پودر گرده‌ی نخل توسط ترازو وزن شد ودر ۱۲ میلی لیتر آب مقطر استریل حل شد. سپس توسط کاغذ صافی محلول صاف گردید وبه هر موش ۱ میلی از محلول فوق به صورت گاواژ (خوراکی)خورانده شد. برای تهیه‌ی دوزmg/kg ۴۰۰ (۶ سر موش دریافت کننده عصاره با دوز بالا و ۶ سرموش دریافت کننده عصاره با دوز بالا به همراه سیکلوفسفامید با میانگین وزنی ۳۴/۸۳ گرم)، به ازاءهر سر موش ۰/۰۱۳۹g پودر گرده‌ی نخل توسط ترازو وزن شد و برای ۱۲ سر موش ۰/۱۶۶۸ گرم پودر گرده‌ی نخل توسط ترازو وزن شد و در ۱۲ میلی‌لیتر آب مقطر استریل حل شد؛ سپس توسط کاغذ صافی محلول صاف گردید وبه هر موش ۱ میلی لیتر از محلول فوق به صورت گاواژ (خوراکی)خورانده شد. (Shafiei Sarvestani 1378).

حیوانات آزمایشگاهی

در این مطالعه‌ی تجربی تعداد ۳۶ سر موش سوری نر نژاد NMRI با وزن تقریبی ۳۶-۳۰ گرم از مرکز پرورش و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی مرکز ناباروری یزد تهیه گردید. حیوانات در شرایط ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی و در دمای ۱±۲۲ درجه‌ی سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۱۰±۵۰ درصد به مدت ۳۵ روز در قفس‌هایی از جنس پروپیلن نگهداری شدند. پس از عادت یافتن حیوانات با محیط به مدت یک هفته، تیمار تمامی گروه‌ها روزانه به مدت ۲۸ روز انجام شد و حیوانات به طور تصادفی به ۶ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. گروه اول: این گروه به عنوان گروه کنترل در نظر گرفته شد (صرفاً آب مقطر دریافت کردند). گروه دوم: سیکلوفسفامید را به میزان Mg/kg ۱۰۰ به صورت تک دوز و داخل صفاقی دریافت کردند. گروه سوم: سیکلوفسفامید را به میزان ۱۰۰Mg/kg به صورت تک دوز، داخل صفاقی و روزانه Mg/kg ۲۰۰ عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل را به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه چهارم سیکلوفسفامید را به میزان Mg/kg ۱۰۰ به صورت تک دوز، داخل صفاقی و روزانه ۴۰۰Mg/kg عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل را به صورت خوراکی دریافت کردند. گروه پنجم: حیوانات این گروه روزانه Mg/kg ۲۰۰ عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل دریافت کردند. گروه ششم: حیوانات این گروه روزانه Mg/kg ۴۰۰ عصاره‌ی آبی گرده-ی نخل دریافت کردند (Mousavi Tometri 2018). ۲۴

ساعت پس از آخرین تیمار، حیوانات به طور دقیق وزن و از طریق جابه‌جایی مهره‌های گردنی آسان‌کشی شدند.

آماده کردن موش‌ها برای لقاح آزمایشگاهی (تخمک گیری)

برای انجام این مطالعه به تحریک تخمک‌گذاری نیاز بود که بدین منظور پس از پایان دوره درمان، جهت تحریک تخمک‌گذاری ۷۲ ساعت قبل از لقاح آزمایشگاهی ابتدا موش‌های ماده‌ی بالغ جهت تنظیم سیکل جنسی در چرخه‌ی نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی قرار گرفتند. سپس موش‌های سوری ماده‌ی بالغ جوان آماده‌ی تحریک تخمک‌گذاری شدند. برای این کار میزان ۱۰ واحد بین‌المللی (IU) هورمون گنادوتروپین مادیان آبستن (PMSG) شرکت (Folligon–هلند) به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر به روش داخل صفاقی تزریق شد. ۴۸ ساعت بعد از تزریق، هورمون گنادوتروپین جفت انسان (HCG) ساخت شرکت (Folligon –هلند) را به میزان ۱۰ واحد (IU) به مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر از طریق داخل صفاقی به همان موش ماده تزریق شد. عمل تخمک‌گذاری ۱۳ساعت بعد از تزریق HCG انجام شد. یک روز قبل از عمل لقاح محیط کشت برای اسپرم و تخمک تهیه شد، سپس به مدت ۱۲ ساعت در انکوباتور ۵٪CO_2 در دمای۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفتند. پتری دیش‌های لقاح با محیط کشت HTF قطره‌گذاری شدند. چندین قطره‌ی ۱۰ میکرولیتری و چندین قطره‌ی ۱۰۰ میکرولیتری برای شستشو در پتری دیش‌های استریل حاوی محیط کشت گذاشته شدند و روی آن‌ها با روغن معدنی پوشانده شد. گروه‌های مختلف بعد از لقاح برای انجام (In Vitro Culture) در محیط کشت HTF به صورت قطره‌های ۱۰۰ میکرولیتری در پتری‌دیش قطره‌گذاری شده، کشت شدند (Oh & Funahashi 1998). حدود ۱۰–۱۲ ساعت (صبح روز بعد) پس از تزریق HCG موش‌های ماده به روش جابه‌جایی مهره‌های گردنی آسان‌کشی شدند. سپس لوله‌های رحمی (اوویداکت) جدا شده و در داخل محیط کشت که از قبل به تعادل رسیده بود در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد گذاشته شدند. تخمک‌ها به همراه توده‌ی کومولوسی پس از تکنیک شکافتن توسط سرنگ انسولین از ناحیه‌ی آمپول و اویداکت در زیر لوپ خارج شدند و پس از شستشو در داخل قطرات لقاح ۵۰۰ میکرولیتری محیط کشت HTF دارای BSA، به میزان ۴mg/ml زیر روغن معدنی (*Mineral oil sigma*) انتقال یافتند. سپس اسپرم‌ها که مرحله‌ی ظرفیت‌پذیری (با ایجاد برش در ناحیه‌ی شکم و بعد از جدا کردن بافت‌های اطراف، دم اپیدیدیم از بیضه جدا شد و در میکروتیوب حاوی ml ۱ محیط کشت HTF قرار گرفت. این محیط قبلا جهت تعادل در داخل انکوباتور قرار داده شده بود. پس از ایجاد چند برش، دم اپیدیدیم به قطعات ریز تقسیم شد و سپس به مدت ۳۰ دقیقه در داخل انکوباتور CO2 ٪۵ قرار گرفت. بعد از گذشت ۶۰ دقیقه اسپرم‌ها خارج شده و در محیط کشت پخش شدند. پس از ظرفیت یابی اسپرم‌ها به قطرات لقاح اضافه شدند و به تعداد یک میلیون به ازای هر میلی‌لیتر محیط کشت افزوده شدند. جهت بررسی جنین‌ها، تهیه‌ی محیط کشت در شرایط کاملاً استریل و در زیر هود انجام گرفت. محاسبه‌ی درصد سلول‌های تخم، جنین‌های دو سلولی و بلاستوسیت‌ها: پس از مرحله‌ی لقاح، میزان باروری آزمایشگاهی و روند رشد رویانی در زیر میکروسکوپ اینورت ارزیابی شد. به ترتیب مراحل انجام شده شامل: ۱- ارزیابی پیش هسته حدود ۴ الی۶ ساعت پس از اضافه کردن اسپرم به قطرات لقاح و شستشوی اووسیت‌های لقاح یافته با مشاهده پیش هسته‌های نر و ماده و دومین گویچه‌ی قطبی هر گروه بررسی شد و درصد لقاح هر گروه بیان گردید ۲–ارزیابی میزان رشد ازمایشگاهی جنین: ۲۴ ساعت پس از قرار دادن پتری‌دیش‌ها داخل انکوباتور ۳– درصد رویان‌های دو سلولی، پس از ۴ الی ۵ روز و درصد رویان‌های بلاستوسیست‌ها مورد ارزیابی قرارگرفت (Oh &Funahashi 1998).

بررسی آماری

داده‌های حاصل از این مطالعه با استفاده از نرم‌افزارآماری Minitab و روش آماری پروپیورشن–۲

(مقایسه نسبت‌ها) تجزیه و تحلیل شدند و اختلاف در سطح P<0.05 معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مقایسه‌ی میانگین نشان داد که درصد تخم لقاح یافته و درصد جنین‌های دو سلولی در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی سیکلوفسفامید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌دار یافته است (P<0.05) در حالی که فراسنجه‌های ذکر شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده گرده‌ی نخل در دوزهای بالا و پایین متعاقب تجویز سیکلوفسفامید نسبت به گروه سیکلوفسفامید افزایش معنی‌دار داشت (P<0.05). همچنین در این گروه‌ها درصد تخم لقاح یافته و درصد جنین‌های دو سلولی نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<0.05). در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای بالا و پایین نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار در درصد تخم لقاح یافته مشهود بود (P<0.05). ولی درصد جنین‌های دو سلولی تفاوت معنی‌دار نسبت به گروه کنترل نشان نداد (P<0.05) (Table1, Fig1 A,B). گروه سیکلوفسفامید نسبت به گروه کنترل کاهش معنی-داری در درصد مورولا و بلاستوسیت و درصد جنین‌های هچ شده داشته است (P<0.05). درصد مورولا، بلاستوسیت، درصد جنین‌های هچ شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای بالا و پایین متعاقب تجویز سیکلوفسفامید نسبت به گروه سیکلوفسفامید افزایش معنی‌دار نشان داد (P<0.05). همچنین در این گروه‌ها درصد مورولا، بلاستوسیت و جنین‌های هچ شده نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نشان داد (P<0.05). درصد مورولا در گروه‌های دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای بالا اختلاف معنی-دار با گروه کنترل داشت (P<0.05). اما دوز پایین گرده‌ی نخل نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار در درصد مورولا نشان نداد. بین موش‌های گروه دریافت کننده‌ی سیکلوفسفامید به همراه دوز پایین و بالا گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌دار در درصد بلاستوسیت مشاهده شد (P<0.05). درصد بلاستوسیت در موش‌های گروه دریافت کننده دوز بالا و پایین گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل نشان نداد. بین موش‌های گروه دریافت کننده-ی سیکلوفسفامید به همراه دوز پایین و بالا گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌دار در درصد جنین‌های هچ شده مشاهده شد (P<0.05). در موش‌های گروه دریافت کننده‌ی دوز پایین گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل مشهود نبود. اما درصد جنین‌های هچ شده در موش‌های گروه دریافت کننده‌ی دوز بالا اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل نشان داد (P<0.05) (Table1, Fig1 D,E). همچنین که گروه سیکلوفسفامید نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌داری در درصد جنین‌های متوقف شده داشته است (P<0.05). درصد جنین‌های متوقف شده در موش‌های گروه دریافت‌کننده‌ی گرده‌ی نخل در دوزهای بالا و پایین متعاقب تجویز سیکلوفسفامید نسبت به گروه سیکلوفسفامید کاهش معنی‌دار نشان داد (P<0.05) همچنین در این گروه‌ها درصد جنین‌های متوقف شده نسبت به گروه کنترل تفاوت معنی‌دار را نشان داد (P<0.05). بین موش‌های گروه دریافت کننده‌ی سیکلوفسفامید به همراه دوز پایین و بالا گرده‌ی نخل تفاوت معنی‌دار در درصد جنین‌های متوقف شده مشاهده شد (P<0.05). در موش‌های گروه دریافت کننده‌ی دوز پایین و بالا گرده‌ی نخل اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل مشهود نبود (Table1, Fig1 F).

Table 1: Results of in vitro fertilization in different groups

Group	Fertilization (percentage)	twocelledembryos (percentage)	Morula (percentage)	Blastocysts (percentage)	Hatchedembryos (percentage)	Stoppedembryos (percentage)
Control	83/67	72/04	70/33	33/63	75/55	67/27
Cyclophosphamide	01/49 a	35/27 a	32/24 a	67/22 a	40/16 a	40/56 a
high doses of palm pollen	67/94 a,b	16/77 b	70/74 a,b	67/62 b	25/59 a,b	50/26 b
low doses of palm pollen	39/92 a,b	70/74 b	98/73 b	67/59 b	33/57 b	33/28 b
cyclophosphamide groups with high doses of palm pollen	39/78 a,b,c,d	67/63 a,b,c,d	48/57 a,b,c,d	75/56 a,b,c,d,e	00/52 a,b,c,d,e	50/31 a,b,c,d,e
cyclophosphamide groups with low doses of palm pollen	33/76 a,b,c,d	33/60 a,b,c,d	33/56 a,b,c,d	/۶۷55 a,b,c,d	50/46 a,b,c,d	00/35 a,b,c,d

Represent significant differences from
a :Control group (P <0.05)
b : Represent significant differences from cyclophosphamide group (P <0.05)
c : Represent significant differences from high doses of palm pollen group (P <0.05)
d: Represent significant differences from low doses of palm pollen group (P <0.05)
e: Represent significant differences from cyclophosphamide groups with low doses of palm pollen (P <0.05)

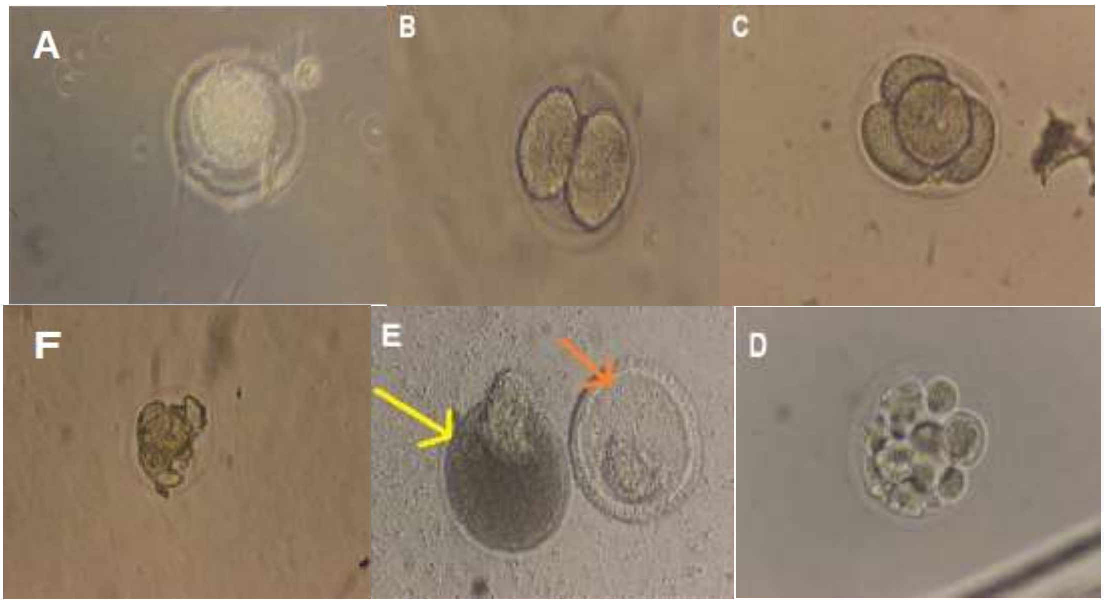

Fig1: Fig 1-Royan growth in the culture area under invert microscope with X400 magnification. As shown in the fig(A) fertilized oocyte with a male pronucleus and a female pronucleus is visible.5 hours after conception, one healthy embryo in a two-cell stage (B), Embryo in the 4-cell stage(C), One embryo in dense morula stage, three to four days after embryo culture in HTF medium(D). The embryo in the blastocyst stage :yellow arrow (E).one blastocyte embryo is hatched three to four days after the culture of the embryos: orange arrow (E) .one fragmented and lysis embryo 24 hours after embryo culture following cyclophosphamide administration (F).

بحث

یافته‌های این مطالعه نشان داد که تجویز داروی سیکلوفسفامید در نتایج حاصل از لقاح آزمایشگاهی اثرات منفی دارد و باعث کاهش معنی‌داری در درصد لقاح، درصد جنین‌های دو سلولی، چهار سلولی، مورولا، بلاستوسیت‌ها و درصد جنین‌های هچ شده و افزایش معنی‌دار در درصد جنین‌های متوقف شده، می‌شود. این مشاهدات بیان‌گر اثرات سمی سیکلوفسفامید بر فعالیت‌های تولید مثلی از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو می‌باشد. از طرفی استفاده

از عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل به طور هم زمان به همراه سیکلوفسفامید به عنوان یک آنتی‌اکسیدان برای کاهش اثرات منفی سیکلوفسفامید در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی-گرم بر کیلوگرم اثرات سمی دارو را جبران نمود و درصد لقاح، جنین‌های دو سلولی، درصد بلاستوسیت و درصد جنین‌های هچ شده را افزایش داد و سبب افزایش کیفیت و رشد جنین‌ها در محیط آزمایشگاه شد. سیکلوفسفامید یکی از انوع داروهای شیمی درمانی است. یکی از مهم‌ترین عوارض جانبی سیکلوفسفامید اثر مخرب بر ارگان‌های جنسی و تغییر عملکرد سیستم تناسلی در جنس نر و ماده می‌باشد و ممکن است منجر به ناباروری شود (Mousavi et al. 2015). در مطالعات Iranian Fam و همکاران گزارش شده است که داروی سیکلوفسفامید سبب افزایش میزان آپوپتوز در سلول‌های اسپرمی و در نهایت کاهش تعداد سلول‌های زایا شده و از طریق برهم زدن تعادل اکسیداسیون –احیا موجب بروز استرس‌های اکسیداتیو، اختلال در روند اسپرماتوژنز و در نهایت مسمومیت تولیدمثلی می‌شود (Iranian Fam et al. 2016). در همین راستا گزارش شده در تشکیل تخمک‌ها در تخمدان و شکل‌گیری اسپرم‌ها در بیضه تداخل ایجاد می‌کند و ناباروری در هر دو جنس را موجب می‌گردد (Korkmaz 2007). که با نتایج مطالعه‌ی حاضر بر روی اثر سیکلوفسفامید بر کاهش اسپرماتوژنز همخوانی دارد. یون هیدروکسیل، سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن، رادیکال پروکسی و یون هیپوکلریت، گونه‌های فعال اکسیژن و عوامل اکسیدکننده‌ی بسیار فعالی از گروه رادیکال‌های آزاد هستند (Armstrong & Stratton 2016). به طور طبیعی اسپرم برای ظرفیت‌پذیری، واکنش آکروزومی و چسبندگی به تخمک مقادیر اندکی ROS در حالت طبیعی تولید می‌کنند. این مقدار ROS اضافی توسط آنتی‌اکسیدان‌های مایع انزال خنثی می‌شود. در صورتی که فعالیت این آنتی‌اکسیدان‌ها به دلایلی کاهش پیدا کند، استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد که عملکرد سلول، حیات آن و سایر پارامترهای آن را مختل می‌سازد (Shahidi & Zhong 2015). این رادیکال‌های آزاد به شدت ناپایدار می‌باشند و سریعاً با مولکول‌های زیستی واکنش نشان می‌دهند و منجر به ایجاد و گسترش انواع آسیب‌های سلولی از جمله پراکسیداسیون غشای پلاسمایی اکسیداسیون اسیدهای آمینه و نوکلئیک، آپوپتوز و نکروز می‌شود که در نهایت منجر به کاهش قدرت زیست‌پذیری و تکوین جنین‌ها در محیط کشت می-گردد (Guerin et al. 2001) که با مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی دارد. یافته‌های مطالعه‌ی حاضر نشان دادند سیکلوفسفامید باعث افزایش درصد جنین‌های متوقف شده می‌شود که می‌توان نتیجه گرفت سیکلوفسفامید با تولید ROS مانع رشد جنین‌ها می‌شود، بنابراین به منظور کاهش اثرات استرس اکسیداتیو ناشی از به کارگیری سیکلوفسفامید می-توان از مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی که تخریب ناشی از ROS را کاهش می‌دهند استفاده کرد. در واقع برای مقابله با آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد، سیستمی به نام سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی وجود دارد که این سیستم مواد مغذی هستند و می‌توانند از تخریب سلول‌های بدن جلوگیری کنند. داروهای گیاهی به دلیل مواد مؤثره‌ی موجود در آن و همراه بودن آن‌ها با مواد دیگر پیوسته از یک حالت تعادل بیولوژیک برخوردار هستند که در بدن انباشته نمی‌شود و اثرات جانبی به بار نمی‌آورند. به همین جهت برتری قابل ملاحظه‌ای نسبت به داروهای شیمیایی نشان می‌دهند (Zamani 2000). بر اساس یافته‌های محققان مصرف برخی از داروهای گیاهی می تواند در باروری عمومی و رفع ناتوانی جنسی ناشی از تعداد کم اسپرم، التهاب پروستات و حرکت کند اسپرم تأثیر مثبت داشته باشد (Falahati &Malekzadeh 2016). گیاهان دارویی به خصوص گیاهانی که سرشار از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی هستند با دارا بودن خاصیت آنتی‌اکسیدانی، موجب افزایش اسپرم، کاهش اسپرم‌هایی با مورفولوژی غیرطبیعی و همچنین باعث افزایش درصد لقاح می‌شود (Iranianfam 2016). در سال‌های اخیر تحقیقات زیادی در مورد خرما و تأثیر مواد شیمیایی آن بر اندام‌های مختلف

و مواد متشکله‌ی آن صورت گرفته است از جمله: TRF[1] ایزوله شده از روغن خرما که از پرولیفراسیون سلول‌های سرطانی سینه جلوگیری می‌کند (Nesaretnam 1992). همچنین قدرت مهار پراکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون پروتئین‌های میتوکندری‌های مغز و میکروزوم‌های کبد موش را دارد (Pereira & Das 1990) از پودر هسته‌ی نخل در درمان بیماری‌هایی از قبیل پیری زودرس، کم‌خونی و ضعف قوای جنسی بهره‌گیری شده است (Dornbusch 1981). عصاره‌ی الکلی گرده‌ی نخل به میزان قابل توجهی در حفاظت و بهبود ساختمان بیضه در موش‌های دیابتی مؤثر بوده است و بر تغییر مقدار تستوسترون بیضه ناشی از دیابت اثر تنظیم کنندگی دارد (Kazeminia et al. 2014). همچنین استفاده از عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل به علت وجود آلکالوئیدها، ساپونین و فلاونوئیدها میل جنسی را افزایش می‌دهد (Abedi et al. 2013). نتایج مطالعات پیشین نشان می‌دهد آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در بهبود اثرات مخرب سیکلوفسفامید مفید باشند (Afkhami-Ardakan 2017). همچنین محققان در مطالعات پیشین نشان داده‌اند گرده‌ی نخل منبع جدیدی از عوامل ضدسرطانی غیرسمی است که به عنوان یک مکمل غذایی در پیش درمانی سرطان استفاده می‌شود (Rasouli 2018). مطالعات محققین دیگر نشان می‌دهد عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل دارای خواص محافظتی بر روی استرس اکسیداتیو حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از سیکلوفسفامید است (Arbabian et al. 2018) که همگی با مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد. بنابراین به نظر می‌رسد به علت وجود آنتی‌اکسیدان‌های مختلف در گرده‌ی نخل مانند فلاونوئید، کاروتنوئیدها و تانن‌ها که مسیرهای ضد آپوپتوزی در سلول‌های کشت داده شده را مهار می‌کنند، نقش مهمی که این ترکیب در تعادل زنده ماندن و تکثیر سلول‌ها دارد قابل توجیه باشد (Abedi 2014). در نتیجه‌گیری نهایی از این مطالعه می‌توان اظهار نمود که به کارگیری عصاره‌ی آبی گرده‌ی نخل با دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم متعاقب تجویز سیکلوفسفامید می‌تواند از اثرات مخرب سیکلوفسفامید بکاهد و نتایج حاصل از لقاح آزمایشگاهی را بهبود بخشد.

در مطالعه‌ی حاضر، گرده‌ی نخل افزایش معنی‌داری در درصد لقاح، جنین‌های دو سلولی، مورولا، بلاستوسیتبلاستوسیت هچ شده و کاهش معنی‌داری در درصد جنین‌های متوقف شده نسبت به گروه سیکلوفسفامید نشان داد. سمیت تولیدمثلی ناشی از تجویز سیکلوفسفامید به واسطه‌ی استرس اکسیداتیو رخ می‌دهد و یک آنتی‌اکسیدان قوی مانند گرده‌ی نخل سیستم تولید مثلی را از آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو ایجاد شده به وسیله‌ی سیکلوفسفامید که اغلب موجب ناباروری می‌شود، محافظت می‌نماید به طوری که در مطالعه‌ی حاضر گرده‌ی نخل به علت دارا بودن خواص کارتنوئیدی-ترکیبات پلی-فنلی و فلاونوئیدی با خواص آنتی‌اکسیدانی، سمیت ناشی از سیکلوفسفامید را کاهش داد و در افزایش کیفیت سلول-های جنسی میزان لقاح، بهبود روند رشد جنین‌ها در محیط آزمایشگاه و کاهش توقف در مراحل مختلف رشد جنینی مؤثر واقع شد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از سرکار خانم دکتر مهین دهستانی و تمام کسانی که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند کمال تشکر و قدردانی را داریم.

1 Tocotrienol Rich Fraction

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه این پایان نامه در قالب پژوهانه از دانشگاه اردکان تأمین شده است.

منابع

Abedi, A.; Karimian, S. M.; Parviz, M.; Mohammadi, P. &Roudsari, H. R. S. (2014). Effect of aqueous extract of *Phoenix dactylifera pollen* on dopamine system of nucleus accumbens in male rats. Neuroscience &medicine, 5(01): 49.

Abedi, A.; Parviz, M.; Karimian, S. M. &Rodsari, H. R. S. (2013). Aphrodisiac activity of aqueous extract of *Phoenix dactylifera pollen* in male rats. Advances in Sexual Medicine, 3(01): 28.

Afkhami-Ardakani, M., Hassanzadeh, S., Shahrooz, R., Asadi-Samani, M., Latifi, M., & Luther, T. (2017). Phytotherapy & phytopharmacology for reduction of cyclophosphamide-induced toxicity in the male urinary system. Journal of Renal Injury Prevention, 6(3): 164-170.

Al-Gboori, B. & Krepl, V. (2010). Importance of date palms as a source of nutrition. Agricultura Tropica et Subtropica, 43(4): 348-351.

Amjad, L. Master Thesisof Science in Plant Science.Tehran Teacher Training University. 1998 (in Persian)

Arbabian, M.; Amir zadgan, M.; Tvalaee, M. & Nasr Asfahani, M. (2018). Oxidative stress & its effects on male infertility: An overview article. Scientific Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences, 17 (3): 253-274. (in Persian)

Armstrong, D. & Stratton, R. (2016). Oxidative Stress & Antioxidant Protection. John Willy and Sons.

Bahmanpour, S.; Talaei, T.; Vojdani, Z.; Panjehshahin, M.; Poostpasand, A.; Zareei, S. & Ghaeminia, M. (2006). Effect of *Phoenix dactylifera pollen* on sperm parameters & reproductive system of adult male rats. Iranian Journal of medical sciences, 31(4).

Chaudière, J. & Ferrari-Iliou, R. (1999). Intracellular antioxidants: from chemical to biochemical mechanisms. Food & chemical toxicology, 37(9-10): 949-962

De Lamirande, E. & Gagnon, C. (1995). Impact of reactive oxygen species on *spermatozoa*: a balancing act between beneficial & detrimental effects. Human Reproduction, 10(suppl_1), 15-21.

Dickens, E. & Ahmed, S. (2018). Principles of cancer treatment by chemotherapy. Surgery (Oxford), 36(3): 134-138

Dornbusch, S.M.; Carlsmith, J. M.; Gross, R. T.; Martin, J. A.; Jennings, D.; Rosenberg, A. &D uke, P. (1981). Sexual development, age, & dating: Acomparison of biological & social influences upon one set of behaviors. ChildDevelopment,52(1) :179-85

Dostal, L. A., Faber, C. K., & Zandee, J. (1996). Sperm motion parameters in vas deferens & cauda epididymal rat sperm. Reproductive Toxicology, 10(3), 231-235.

Falahati, A. M. (2016). Study of the effect of date *palm pollen* on the expression of PRDX1 & PRDX6 antioxidant genes in infertile men (Doctoral dissertation, Hormozgan University of Medical Sciences). (in Persian).

Guerin, P.; El Mouatassim, S. & Menezo, Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo & its surroundings. Human reproduction update, 7(2): 175-189.

Hashem pour, M. (1999). Date treasure. first Volume (general). Tehran, Agricultural Education Publishing: 668. (in Persian)

Hassan, H. M. (2011). Chemical composition & nutritional value of *palm pollen grains*. Global Journal of Biotechnology and Biochemistry Research, 6(1): 1-7.

Hosseini, A.; Zare, S.; Pakdel, F. G. & Ahmadi, A. (2010). Effects of *vitamin E & Ginseng* extract on fertility changes inducedby cyclophosphamide in rats. Journal of Reproduction & Infertility, 11 (14).

Iranifam, N.; Hasan zadeh, Sh. & Najafi GH. (2016). Effect of Hydroalcoholic Flower Extraction on *Yarrow* on In vitro Fertilization and Fetal Growth Process In Small Laboratory White Mouse. Qom Journal of Medical Sciences, 10 (11): 25- 33. (in Persian)

Jashni, H. K., & Jahromi, H. K. (2016). Effects of *palm pollen* on folliculogenesis process after treatment with cyclophosphamide among rats. Journal of Fundamental and Applied Sciences, 8(4): 1998-2007

Johnson, D. (2011). Introduction: date palm biotechnology from theory to practice. In Date palm biotechnology .Springer : 1-11

Kazeminia, S. M.; Kalaee, S. E. V. & Nasri, S. (2014). Effect of Dietary Intake Alcoholic Extract of *Palm Pollen* (*L. Phoenix dactylifera*) on Pituitary-Testicular Axis in Male Diabetic Rats. Journal of Mazandaran University of Medical Sciences, 24: 167S-175S.

Khakzad Bonab, F. (2015). Evaluation of the protective effect of hydro-alcoholic extract of the fruit of the plant "to" *Cydonia oblonga Miller quince* on spermatogenesis process in male rats under chemotherapy. End - Master's thesis, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz. (in Persian)

Koppers, A. J.; De Iuliis, G. N.; Finnie, J. M.; McLaughlin, E. A. & Aitken, R. J. (2008). Significance of mitochondrial reactive oxygen species in the generation of oxidative stress in spermatozoa. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 93(8): 3199-3207

Korkmaz, M. (2007). The effects of leadership styles on organizational health. Educational Research Quarterly, 30(3): 23-55.

Lenzi, A.; Culasso, F.; Gandini, L.; Lombardo, F. & Dondero, F. (1993). Andrology: Placebo-controlled, double-blind, cross-over trial of glutathione therapy in male infertility. Human Reproduction, 8(10): 1657-1662.

Momtahan, N.; Crosby, C. O. & Zoldan, J. (2019). The Role of Reactive Oxygen Species in In Vitro Cardiac Maturation. Trends in molecular medicine,25(6):482-493

Mousavi, M.; Jaafari barmak, M.; Nik serasht, M.; Sadeghi, H.; Hadayatpour, A.; Aobiadi, H. & Mahmodi, R. (2015). The protective effect of ellagic acid on the toxicity induced by cyclophosphamide on the ovaries of rats. Journal Armaghan-e-Danesh, 20 (7): 601- 610. (in Persian).

Mousavi Tometri, Golchin, Hassanzadeh, Shapour, Malekinejad, & Najafi Tazand. (2018). Protective effect of *Spirulina* (*Arthospira platensis*) on in vitro fertilization and fetal growth in mice receiving cyclophosphamide. Journal of Fasa University of Medical Sciences, 8 (2): 785-794. (in Persian)

Mozaferian, V. (2011). Plant classification. Tehran, Amirkabir Publications,: 355- 357. (in Persian)

Nesaretnam, K.; khor, H.T. & Ganeson, J. (1992). the effect of Vitamin E Tocotrienols from *palm oil* on chemically Induced Mammary carcinogenesis in female rats, Nutrition Research and Practice. 12: 879-892.

Oh, S. H.; Miyoshi, K& Funahashi, H. (1998). Rat oocytes fertilized in modified rat 1-cell embryo culture medium containing a high sodium chloride concentration & bovine serum albumin maintain developmental ability to the blastocyst stage. Biology of reproduction, 59(4): 884-889.

Pereira, T. A.; Sinniah, R. & Das, N. P. (1990). Effect of dietary *palm oil* on lipoprotein lipases: lipoprotein levels & tissue lipids in rat. Biochemical medicine & metabolic biology, 44(3): 207-217

Rasouli, H.; Norooznezhad, A. H.; Rashidi, T.; Hoseinkhani, Z.; Mahnam, A.; Tarlan, M. &Mansouri, K. (2018). Comparative in vitro/theoretical studies on the anti-angiogenic activity of date *pollen* hydro-alcoholic extract: Highlighting the important roles of its hot polyphenols. BioImpacts, 8(4): 281.

Rezvanfar, M.; Sadrkhanlou, R.; Ahmadi, A.; Shojaei-Sadee, H.; Rezvanfar, M.; Mohammadirad, A& Abdollahi, M. (2008). Protection of cyclophosphamide-induced toxicity in reproductive tract histology, sperm characteristics, &DNA damage by an herbal source; evidence for role of free-radical toxic stress. Human & experimental toxicology, 27(12): 901-910

Selvakumar, E.; Prahalathan, C.; Mythili, Y. & Varalakshmi, P. (2004). Protective effect of dl-α-lipoic acid in cyclophosphamide induced oxidative injury in rat testis. Reproductive Toxicology, 19 (2): 163-167.

Sen, S. & Chakraborty, R. (2011). The role of antioxidants in human health. In Oxidative stress: diagnostics, prevention, & therapy, ACS Publications : 1-37.

Shafiee, M. (1999). Investigation of the effect of *phoenix dactliyfera* on *pollen* grains on histological changes of testicles & spermatogenesis of Syrian mice Blb / c. Master of Science in Animal Sciences (Developmental Orientation). Tehran Teacher Training University. (in Persian)

Sikka, S. C. (2001). Relative impact of oxidative stress on male reproductive function. Current medicinal chemistry, 8(7): 851-862.

Singh, M.; Singh, K. P.; Shukla, S. & Dikshit, M. (2015). Assessment of in-utero *venlafaxine* induced, ROS-mediated, apoptotic neurodegeneration in fetal neocortex & neurobehavioral sequelae in rat offspring. International Journal of Developmental Neuroscience, 40: 60-69.

Zamani, S.(2020). Medicinal Plants.Method of cultivation, harvesting and color illustration,Mosalla publication: 376

Received: 06.07.2020
Accepted: 13.02.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2021.259701.2327
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.4.8

فراوانی آلودگی به تخم توکسوکارا در پارک‌های عمومی شهر کرمانشاه

فرید رضائی[1*]، مریم کریمی‌دهکردی[2] و فاطمه عزیزی‌نژاد[3]

[1] استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[2] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شهرکرد، دانشگاه آزاد اسلامی، شهرکرد، ایران
[3] دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۹/۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۱۱

چکیده

توکسوکاریازیس یکی از مهم‌ترین عفونت‌های انگلی است که شیوع جهانی دارد. آلودگی به این انگل در انسان از طریق تماس مستقیم با سگ و گربه و یا تماس با منابع آلوده به تخم انگل نظیر خاک و چمن مکان‌های عمومی که در مسیر رفت و آمد سگ‌ها و گربه‌ها هستند و همچنین مصرف سبزیجات آلوده ایجاد می‌شود. هدف از مطالعه‌ی حاضر بررسی میزان آلودگی خاک و چمن پارک‌های عمومی شهر کرمانشاه به تخم *توکسوکارا* بود. مطالعه‌ی حاضر که به صورت توصیفی و به شکل بررسی مقطعی انجام شد، تعداد ۱۲۰ نمونه خاک و تعداد ۱۲۰ نمونه چمن از مجموع ۱۶ پارک عمومی مهم در سطح شهر کرمانشاه جمع‌آوری شد و سپس آلودگی انگلی نمونه‌های اخذ شده از خاک و چمن به روش رسوب شناورسازی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که از مجموع ۱۶ پارک بررسی شده ۱۵ پارک از نظر نمونه‌ی خاک (۹۳/۷ درصد) و ۱۳ پارک از نظر نمونه‌های چمن (۸۱/۲ درصد) آلوده به تخم گونه‌های *توکسوکارا* بودند. همچنین فراوانی آلودگی با تخم گونه‌های *توکسوکارا* در نمونه‌های خاک ۷۰/۸ درصد و در نمونه‌های چمن ۳۰/۸ درصد بود. نتایج بررسی حاصل از این مطالعه نشان داد که آلودگی پارک‌های کرمانشاه با تخم گونه‌های *توکسوکارا* بالاست که این امر سبب افزایش احتمال ابتلا به عفونت‌های توکسوکاریایی در انسان می‌شود. در نتیجه برای کاهش خطر آلودگی انسان احتیاج به برنامه‌های پیش‌گیرانه و کنترلی مانند ممانعت از آلودگی محیط به خصوص مکان‌های عمومی مانند پارک‌ها، با مدفوع سگ‌ها توصیه می‌شود.

کلمات کلیدی: *توکسوکارا*، لارو مهاجر احشایی، گربه، سگ، کرمانشاه

مقدمه

توکسوکاریازیس یکی از مهم‌ترین بیماری‌های انگلی مشترک بین انسان و دام با انتشار جهانی و توسط نماتودهای جنس *توکسوکارا* ایجاد می‌شود. دو گونه *توکسوکارا کنیس* و *توکسوکارا کتی* اصلی‌ترین عوامل توکسوکاریازیس در انسان هستند (Shchelkanov et al. 2020). این دو گونه انگل‌های روده‌ای با فراوانی بالا در سگ‌ها و گربه‌ها هستند که در اکثر توله سگ‌ها و گربه‌های تازه متولد شده و همچنین سگ و گربه‌های بالغ یافت می‌شوند (Otero et al. 2018). مطالعات اپیدمیولوژی نشان

*نویسنده مسئول : فرید رضائی، استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
E-mail: f.rezaei@razi.ac.ir

می‌دهد که *توکسوکارا کنیس* یکی از شایع‌ترین و با گسترش وسیع جغرافیایی در میان گونه‌های انگلی مشترک است که از پایین قطب شمال تا مناطق استوایی رخ می‌دهد. فراوانی سرمی آن در کودکان ساکن کشورهای صنعتی نظیر نیوزلند ۰/۷ درصد، ژاپن ۱/۶ درصد، دانمارک ۲/۴ درصد، استرالیا ۷/۵ درصد، ایالات‌متحده ۱۴ درصد و لهستان ۱۵ درصد و کمتر از کشورهای کمتر صنعتی مانند نیجریه ۳۰ درصد، اندونزی ۶۳/۲ درصد، مالزی ۷۵ درصد، برزیل ۳۶ درصد و پرو ۳۷ درصد گزارش شده است (Macpherson 2013). همچنین فراوانی سرمی توکسوکارا در جمعیت انسانی ایران ۹/۳ درصد (Vafae Eslahi et al. 2020) و در کودکان ماهیدشت شهرستان کرمانشاه ۸/۴۶ درصد (Akhlaghi et al. 2005) گزارش شده است. هر چند اطلاعاتی از فراوانی توکسوکارا در گوشتخواران کرمانشاه در دسترس نیست ولیکن متوسط فراوانی آن در ایران ۲۴/۲ درصد در سگ و ۳۲/۶ درصد در گربه گزارش شده است (Vafae Eslahi et al. 2020). انگل *توکسوکارا* عمدتاً در سگ و گربه‌ها ایجاد عفونت می‌کند، اما زمانی که حیوان آلوده با انسان زندگی می‌کند، توکسوکاریازیس انسانی رخ می‌دهد (Nava et al. 2020). در روند بیماری‌زایی *توکسوکارا* تخم‌ها در خاک آزاد می‌شوند که این عمل نقش کلیدی در انتقال بیماری به انسان دارد (Rezanezhad et al. 2017). در انسان به عنوان میزبان تصادفی، لاروهای آزاد شده از تخم *توکسوکارا* با نفوذ به دیواره‌ی روده‌ی انسان از طریق عروق خونی و لنفاوی روده به کبد، ریه‌ها و گاهی به قلب و سیستم اعصاب مرکزی مهاجرت کرده و باعث ایجاد سندروم لاروهای مهاجر احشایی می‌شود و یا این که به داخل کره‌ی چشم وارد شده و باعث سندروم لاروهای مهاجر داخل چشمی می‌شوند و در آن جا به عنوان لاروهای مهاجری که از نظر متابولیکی فعال‌اند، برای ماه‌ها بدون رشد و تمایز باقی می‌مانند (Rastgoo et al. 2019, Nava et al. 2020, GharaDaghi et al. 2011, Akhlaghi et al. 2005). علاوه بر این اختلال نادر اما محتمل ناشی از توکسوکاریازیس التهاب بافت قلب و نارسایی قلبی می‌باشد. اگر چه سگ‌ها و گربه‌ها میزبان معمول *توکسوکارا* هستند، تماس مستقیم با این حیوانات به عنوان یک خطر بالقوه در نظر گرفته نمی‌شود؛ زیرا تخم‌هایی که از طریق مدفوع میزبان‌های نهایی دفع می‌شوند، باعث آلودگی محیط می‌شوند. تخم‌ها بسته به نوع خاک و شرایط محیطی دما و رطوبت پس از ۲ الی ۶ هفته عفونی می‌شوند. همچنین تخم‌های *توکسوکارا* بسیار مقاوم بوده و در شرایط بهینه می‌توانند برای ماه‌ها یا حتی سال‌ها باقی بمانند (Maurelli et al. 2019). به طوری که این تخم‌ها در مراحل ابتدایی تکامل قادرند ۳ تا ۵ سال در شرایط محیطی زنده بمانند (Abou-El-Naga 2018). در ایران سگ‌ها و گربه‌های ولگرد منبع اصلی آلودگی پارک‌ها و اماکن عمومی با تخم گونه‌های *توکسوکارا* هستند. حیوانات در سراسر کشور غالبا می‌توانند آزادانه در پارک‌ها رفت و آمد داشته باشند، به ویژه حیواناتی که در اطراف شهرها زندگی می‌کنند (Saraei et al. 2012). بنابراین تماس با خاک و خاک خواری مهم‌ترین راه برای آلوده شدن انسان شناخته شده است (Zibaei et al. 2010. Ahmad et al. 2011). در ایران به دلیل گسترش سریع زندگی آپارتمانی در ۳–۲ دهه‌ی اخیر تمایل به گذراندن اوقات فراغت در پارک‌های عمومی افزایش یافته است بنابراین افرادی که برای تفریح به این مکان‌ها می‌روند ممکن است در خطر ابتلا به عفونت‌های انگل‌های روده‌ای قابل انتقال از حیوانات باشند (Saraei et al. 2012). دیدن سگ‌ها و گربه‌ها در پارک‌های عمومی بسیاری از شهرهای ایران امری عادی می‌باشد. به علاوه در سال‌های اخیر تعداد سگ‌ها و گربه‌ها در ایران در حال افزایش است (Ghashghaei et al. 2016). این حیوانات پارک‌های عمومی را همانند سایر جاها آلوده می‌کنند. بنابراین میزان آلودگی انسان به انگل‌های قابل انتقال از حیوانات، با درک همه‌-گیرشناسی آن‌ها می‌تواند به حداقل ممکن برسد. در این راستا توکسوکاریازیس یک بیماری مهم مشترک انسان و دام بوده و نگرانی بهداشت عمومی در بیشتر کشورهاست. ایران به عنوان یک کشور در حال توسعه با نرخ بالای توکسوکاریازیس در کودکان از این آسیب مستثنی نیست (Tavassoli et al. 2012). بسیاری از مطالعات گذشته در

ایران نشان می‌دهد که میزان فراوانی آلودگی به تخم گونه‌های *توکسوکارا* به طور معنی‌داری در نمونه‌های خاک در حال افزایش است (Maleki et al. 2018). با توجه به استفاده کودکان از محیط و وسایل بازی و تماس با خاک پارک‌های آلوده به مدفوع سگ‌ها و گربه‌های بیمار، مطالعات همه-گیرشناسی در زمینه‌ی روش انتقال و منابع اصلی انتقال آلودگی به انسان در چنین مناطقی از اهمیت زیادی برخوردار است و با توجه به آن می‌توان تدابیر مناسبی جهت کنترل و پیش‌گیری از بیماری‌های انگلی اتخاذ کرد (Khazan et al. 2012, Ghorbani et al. 2013, Overgaauwet al. 2009). لذا با توجه به اهمیت بهداشتی و پیامدهای ناشی از شیوع انگل *توکسوکارا* در جامعه، مطالعه‌ی حاضر جهت بررسی میزان آلودگی چمن و خاک در پارک‌های شهر کرمانشاه پرداخته است. از آن جایی که تا کنون در هیچ یک از مطالعات انجام شده در استان کرمانشاه به میزان آلودگی چمن به تخم *توکسوکارا* پرداخته نشده است و تنها آلودگی خاک مورد بررسی قرار گرفته است، مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی میزان آلودگی خاک و چمن پارک‌های شهر کرمانشاه انجام شد.

مواد و روش کار

تعداد ۱۲۰ نمونه خاک و تعداد ۱۲۰ نمونه چمن از مجموع ۱۶ پارک عمومی در سطح شهر کرمانشاه به طور تصادفی از اردیبهشت تا آذر ماه جمع‌آوری شد. پارک‌های مورد مطالعه شامل: پارک‌های کوهستان، طاق‌بستان غربی و شرقی، شاهد، فدک، زیبا پارک، کودک، پونه، لاله، آزادگان، معلم، شیرین، شهید لرستانی، باران، نشاط و بلوار طاق بستان بود (Fig 1). از مجموع ۱۶ پارک مورد مطالعه پارک‌های طاق بستان غربی و شرقی، کوهستان، بلوار طاق بستان، باران، نشاط و فدک در شمال، پارک‌های معلم، پونه، کودک و شهید لرستانی، شاهد و زیبا پارک در مرکز و پارک‌های لاله، آزادگان و شیرین در جنوب شهر کرمانشاه واقع هستند. هیچ یک از پارک‌های مورد مطالعه دارای دیوارکشی یا حصار نبود. بسته به اهمیت و مساحت پارک از ۲۰-۳ جایگاه، نمونه‌های ۲۰۰ گرمی از خاک و نمونه‌های ۵۰ گرمی از چمن جمع‌آوری شد. نمونه‌های خاک از عمق ۲-۱ سانتی‌متری و در اطراف درختان و گل‌ها در نزدیکی وسایل بازی کودکان، محل نشستن و چهار طرف پارک بود. نمونه‌گیری در ساعات اولیه صبح تا نزدیک ظهر و قبل از آب‌پاشی چمن پارک انجام شد. نمونه‌ها به صورت جداگانه در داخل کیسه‌های نایلونی قرار گرفته و به هر نمونه شماره شناسایی اختصاص داده شده و به آزمایشگاه انگل‌شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه رازی منتقل شدند.

در ابتدای کار نمونه‌های خاک توزین شده و به میزان ۲۰۰ گرم از هر نمونه در داخل سینی‌های پلاستیکی قرار داده شد و سپس شماره شناسایی اختصاصی هر نمونه بر روی سینی برچسب زده و تا زمان بررسی درون آزمایشگاه قرار داده شد. نمونه‌های چمن نیز توزین شده و به میزان ۵۰ گرم از هر نمونه در داخل کیسه‌های نایلونی قرار داده شد، سپس شماره شناسایی اختصاصی هر نمونه بر روی کیسه‌ی نایلونی برچسب زده و تا زمان بررسی درون آزمایشگاه قرار داده شد.

در Table 1 وضعیت کلی پارک‌های مورد مطالعه آمده است. تعداد نمونه‌ها بر اساس مساحت پارک انتخاب شد و نمونه‌های خاک و چمن از قسمت‌های مختلف پارک اخذ گردید. با توجه به این جدول از پارک طاق‌بستان غربی ۱۸ نمونه، از پارک‌های طاق بستان شرقی و کوهستان هر کدام ۱۵ نمونه، از پارک‌های شیرین، لاله و آزادگان هر کدام ۱۰ نمونه، از بلوار طاق بستان و پارک‌های شاهد، معلم و فدک هر کدام ۶ نمونه و از پارک‌های پونه، نشاط، کودک، شهید لرستانی، نشاط و باران هر کدام ۳ نمونه خاک و چمن جمع‌آوری شد.

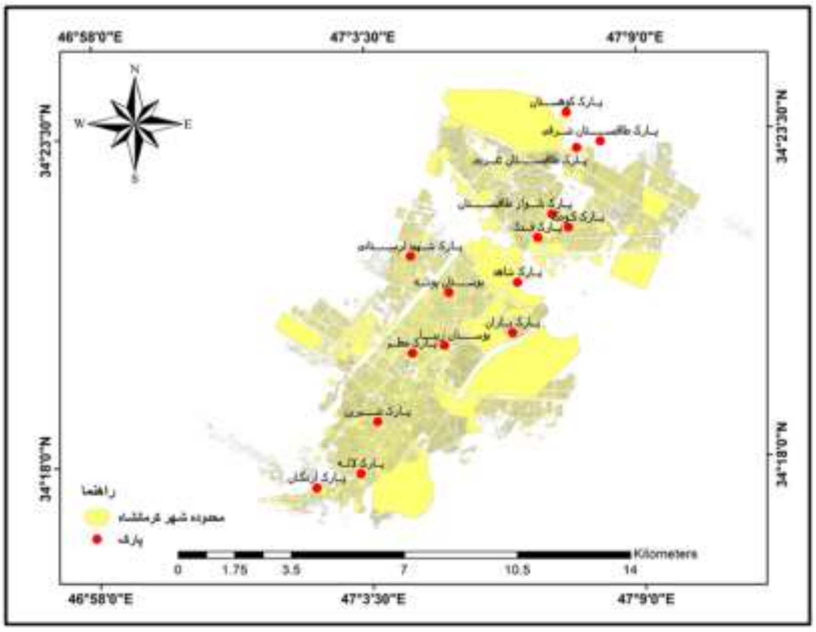

Fig 1. GPS map of studied public parks in Kermanshah city

Table 1: Number of samples taken from public parks studied in Kermanshah

	Soil		Grass	
Park name	Sample number	Percentage of total samples	Sample number	Percentage of total samples
West taqbostan	18	15	18	15
East taqbostan	15	12.5	15	12.5
Koohestan	15	12.5	15	12.5
Shirin	10	8.3	10	8.3
Laleh	10	8.3	10	8.3
azadegan	10	8.3	10	8.3
Taqbostan Boulevard	6	5	6	5
Shahed	6	5	6	5
Moalem	6	5	6	5
Fadak	6	5	6	5
Puneh	3	2.5	3	2.5
Neshat	3	2.5	3	2.5
Koodak	3	2.5	3	2.5
Shahid Lorestani	3	2.5	3	2.5
Ziba Park	3	2.5	3	2.5
Baran	3	2.5	3	2.5
Total	120	100	120	100

در آزمایشگاه جهت بررسی آلودگی انگلی نمونه‌های اخذ شده از خاک و چمن از روش رسوب شناورسازی استفاده گردید. در ابتدای کار نمونه‌های خاک با استفاده از الک ۱۵۰ میکرومتری غربال شده و سپس خاک الک شده در داخل بشر ۲ لیتری قرار ریخته شد و با ۵۰۰ میلی‌لیتر آب به همراه پنج درصد محلول توئین ۲۰ به حالت تعلیق درآمد محلول به دست آمده به منظور جداسازی انگل‌ها به مدت ۵ دقیقه کاملاً هموژن گردید و سپس از یک گاز غیر استریل عبور داده شده و به یک ظرف رسوب (بشر ۲ لیتری) انتقال داده شد. خاک از روی گاز غیر استریل برداشته شده و شست و شوی خاک به شیوه‌ی قبل دو مرتبه‌ی دیگر انجام شده و یک مجموعه ۱/۵ لیتری از مایع

به ظرف رسوب منتقل شد. ظرف رسوب برچسب‌گذاری و به مدت ۲۴ ساعت در محیط آزمایشگاه قرار داده شده تا رسوب تشکیل گردد. پس از یک شبانه‌روز محلول رویی ظرف رسوب به وسیله‌ی پوار دور ریخته شد و رسوب باقی‌مانده به لوله‌های آزمایش منتقل شد و پس از برچسب‌گذاری به مدت ۱۵ دقیقه در ۲۰۰۰ دور سانریفیوژ شد. سپس مایع رویی لوله‌ی سانتریفیوژ برداشته شده و یک محلول فوق اشباع از قند با رسوب مخلوط و لوله‌ها از مایع پر شدند و سپس یک لامل بالای هر لوله به آرامی لغزیده شد. پس از ۱۵ دقیقه لامل به مرکز یک لام تمیز بدون چربی منتقل شده و نمونه جهت بررسی میکروسکوپی در زیر میکروسکوپ نوری با استفاده از بزرگنمایی ×۴۰۰ و ×۱۰۰۰ مورد بررسی قرار گرفتند و در صورت مشاهده تخم *توکسوکارا* یا اجرام انگلی دیگر، مشاهدات برای هر نمونه ثبت شد. برای بررسی نمونه‌های چمن نیز از روش رسوب- شناورسازی که شبیه نمونه‌های خاک است، استفاده شد (Tavassoli et al. 2008).

نتایج

در مطالعه‌ی حاضر از مجموع ۱۶ پارک بررسی شده آلودگی خاک با تخم گونه‌های *توکسوکارا* در ۱۵ پارک (۹۳/۷ درصد) و آلودگی چمن در ۱۳ پارک (۸۱/۲ درصد) مشاهده شد. نتایج به دست آمده نشان داد آلودگی در نمونه‌های خاک ۷۰/۸ درصد و در نمونه‌های چمن ۳۰/۸ درصد می‌باشد. شدت آلودگی در پارک‌های بررسی‌شده از ۱-۴۰۰ تخم انگل برای نمونه‌های چمن و ۱۰-۱ تخم انگل برای نمونه‌های خاک در هر میدان میکروسکوپی متغیر بود. هر سه نوع تخم دفرمه، حاوی لارو و فاقد لارو در نمونه‌های خاک و چمن پارک‌های مورد بررسی یافت شد که درصد بالایی از تخم‌های مشاهده شده (۴۷ درصد) حاوی لارو بودند.

وضعیت آلودگی انگلی در پارک‌های بررسی‌شده در Table 2 مشخص شده است.

Table 2: Soil and grass contamination of *Toxocara* egg status in studied public parks

	Soil			Grass	
Park name	Number of samples	Frequency of contamination	Percentage of contamination	Frequency of contamination	Percentage of contamination
West taqbostan	18	14	77.7	3	16.6
East taqbostan	15	13	86.6	0	0
Koohestan	15	12	80	6	60
Shirin	10	8	80	0	0
Laleh	10	4	40	8	80
azadegan	10	8	80	2	20
Taqbostan Boulevard	6	4	66.6	4	66.6
Shahed	6	2	33.3	3	50
Moalem	6	4	66.6	4	66.6
Fadak	6	6	100	6	100
Puneh	3	3	100	0	0
Neshat	3	3	100	3	100
Koodak	3	1	33.3	1	33.3
Shahid Lorestani	3	0	0	1	33.3
Ziba Park	3	2	66.6	1	33.3
Baran	3	1	33.3	1	33.3

با توجه به داده‌های Table 2 بیشترین میزان آلودگی خاک در پارک‌های فدک، پونه و نشاط (۱۰۰ درصد) مشاهده شد، پس از آن به ترتیب پارک طاق بستان شرقی (۸۶/۶ درصد)، پارک‌های کوهستان، شیرین و آزادگان (۸۰

درصد)، بلوار طاق بستان و پارک‌های معلم و زیبا پارک (۶۶/۶ درصد)، پارک لاله (۴۰ درصد) و پارک‌های شاهد، کودک و باران (۳۳/۳ درصد) قرار گرفتند. در بین پارک‌های مورد مطالعه، پارک شهید لرستانی هیچ‌گونه آلودگی نشان نداد. همچنین در مورد میزان آلودگی چمن، بیشترین میزان آلودگی در پارک‌های فدک و نشاط (۱۰۰ درصد) مشاهده شد، پس آن به ترتیب پارک‌های لاله (۸۰ درصد)، پارک معلم و بلوار طاق بستان غربی (۶۶/۶ درصد)، کوهستان (۶۰ درصد)، شاهد (۵۰ درصد)، کودک، شهید لرستانی، باران و زیبا پارک (۳۳/۳ درصد)، آزادگان (۲۰ درصد) و طاق بستان (۱۶/۶ درصد) قرار گرفتند. همچنین در پارک-های طاق بستان شرقی، شیرین و پونه آلودگی مشاهده نشد. درصد آلودگی در پارک‌های واقع در شمال شهر بیشتر از پارک‌های واقع در مرکز و جنوب شهر بود. بیشترین شدت آلودگی در پارک فدک مشاهده شد که در نمونه‌های چمن و خاک به ترتیب تا ۴۰۰ و ۵ تخم انگل در هر میدان میکروسکوپی مشاهده شد. پس از آن بیشترین شدت آلودگی به ترتیب در پارک‌های معلم با ۱۲-۱ و ۵-۱ تخم انگل، نشاط با ۳-۱ و ۱۰-۲ تخم انگل، بلوار طاق بستان با ۴-۱ و ۷-۱ تخم انگل، طاق بستان با ۷-۱ و ۳-۱ تخم انگل، آزادگان با ۵-۱ و ۳-۱ تخم انگل، کوهستان با ۵-۱ و ۲-۱ تخم انگل و پارک شرقی با ۱-۴. ۰ تخم انگل در هر میدان میکروسکوپی به ترتیب در نمونه‌های خاک و چمن بود. کمترین شدت آلودگی در پارک‌های شهید لرستانی، باران و شاهد مشاهده شد که تعداد تخم انگل مشاهده شده در نمونه‌های خاک و چمن در نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی انگلی ۱ تخم انگل بود. شدت آلودگی در پارک‌های شیرین، لاله، پونه، کودک و زیبا پارک با مشاهده ۳-۱ تخم انگل در نمونه‌های مثبت از نظر آلودگی انگلی متوسط بود.

سایر انگل‌های مشاهده شده در نمونه‌های خاک و چمن شامل: تخم سایر نماتودها و تخم تنیا (در ۱ درصد نمونه-ها)، لارو نماتودهای آزادزی (در ۱۰۰ درصد نمونه‌ها) و جرب اویباتیده (در ۳۳ درصد نمونه‌ها) بود.

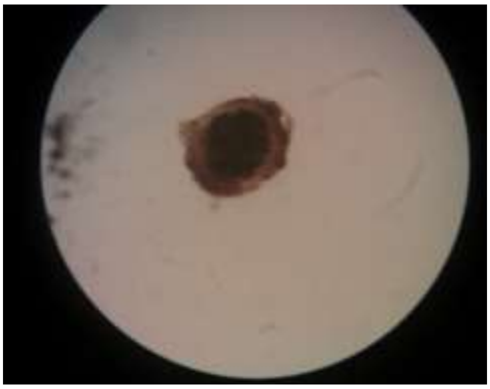

Fig 2: *Toxocara* **egg separated from soil**

Fig 3: Microscopic image from *Toxocara* **eggs observed in sample of Fadak park (the most polluted park)**

بحث

کشورهای در حال توسعه به دلیل عواملی مانند فقر اقتصادی، شرایط اجتماعی و فرهنگی، وضعیت اقلیمی، نبود امکانات بهداشتی و بی‌توجهی به بهداشت فردی و اجتماعی به میزان بیشتری در معرض آلودگی‌های انگلی قرار دارند (Wakid et al. 2009). ایران جزء مناطقی است که شیوع آلودگی‌های انگلی در آن قابل توجه است (Sharifi Sarasiabi et al. 2002). در مطالعات مختلف انجام شده، میزان شیوع بیماری‌های انگلی در نقاط مختلف کشور و جهان متفاوت است. تفاوت میزان آلودگی بستگی به فرهنگ، اقلیم، روش بررسی و جمع‌آوری نمونه دارد. نرخ آلودگی در بیشتر پارک‌های ایران بالاست (Maraghi et al. 2012). نتایج حاصل از مطالعه‌ی ما نشان داد که از مجموع ۱۶ پارک بررسی شده ۱۵ پارک از نظر نمونه‌های خاک (۹۳/۷ درصد) و ۱۳ پارک از نظر نمونه‌های چمن (۸۱/۲

درصد) مثبت بود. در بسیاری از مطالعات گذشته میزان فراوانی تخم *توکسوکارا* در پارک‌های نقاط مختلف ایران و جهان مورد بررسی قرار گرفته است. این میزان توسط Tavassoli و همکاران (2008) در شهر ارومیه ۳/۹ درصد، Khazan و همکاران (2012) در شهر تهران ۱۰ درصد، GharaDaghi و همکاران (2013) در شهر تبریز ۱۴/۶درصد، Ghorbani و همکاران (2013) در شهر شیراز ۱۵ درصد، Maraghi و همکاران (2014) در شهر آبادان ۲۹/۲ درصد، Mazhab-Jafari و همکاران (2019) در شهر خرمشهر ۱۸ درصد، Shirvani و همکاران (2019) در مناطق مختلف استان چهارمحال و بختیاری از صفر تا ۱۸/۱ درصد، Raissi و همکاران (2020) در شهر ایلام ۱۳/۰۸ درصد و Pezeshki و همکاران (2017) در شهر اردبیل ۷ درصد، گزارش گردید. Khademvatan و همکاران (2014) در شهر اهواز از ۲۱۰ نمونه جمع‌آوری شده از پارک‌های عمومی، ۶۴ نمونه به روش میکروسکوپی و ۷۱ نمونه به روش PCR آلوده به تخم *توکسوکارا* گزارش کردند (Khademvatan et al. 2014). در مطالعه‌ای که در کردستان عراق روی ۷۰۰ نمونه خاک از مکان‌های مختلف مانند پارک‌های عمومی، باغ‌های خصوصی، پناهگاه‌های سگ، مراتع، پارک‌های مدارس انجام شد، میزان فراوانی تخم *توکسوکارا* ۱۵/۴ درصد گزارش شد (Golek and Al-Saeed 2019). در مطالعه‌ای که توسط Maleki و همکاران (2014) روی ۱۲۶ نمونه خاک از مناطق مختلف استان کرمانشاه انجام شد، تخم *توکسوکارا* در ۱۷ نمونه (۱۳/۵ درصد) از ۱۲۶ نمونه جمع‌آوری شده از مناطق مورد مطالعه یافت شد. در این مطالعه بین میزان آلودگی در مناطق سطح پایین و وضعیت بهداشتی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در مطالعه‌ی انجام شده توسط Zibaei و همکاران (2017) روی ۲۰۰ نمونه خاک از ۱۲ پارک عمومی شهر کرج میزان فراوانی تخم گونه‌های *توکسوکارا* در نمونه‌های خاک ۳۴/۴ درصد گزارش شد. بیشترین تعداد تخم به دست آمده از ۲۰۰ گرم خاک ۲۰ عدد بود و در مجموع ۲۰۰ تخم پیدا شد که از این تعداد ۷/۶ درصد به طور کامل به مرحله‌ی جنینی تخم رسیده بودند. نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر نشان داد که از مجموع ۱۲۰ نمونه جمع‌آوری شده ۸۵ نمونه خاک (۷۰/۸ درصد) و ۴۳ نمونه چمن (۳۰/۸ درصد) آلوده بودند. همه‌ی مطالعات انجام شده در مورد آلودگی پارک‌های عمومی با تخم گونه‌های *توکسوکارا* در سراسر ایران از مطالعه‌ی حاضر کمتر بود. نتایج حاصل از آلودگی پارک‌های ایران به دلیل پارامترهای جغرافیایی و روش بررسی و همچنین تدابیری که در مورد مبارزه با سگ‌های ولگرد اندیشیده شده است متفاوت هستند؛ که متأسفانه تا کنون در شهر کرمانشاه هیچ‌گونه راهکاری در مورد مبارزه با سگ‌های ولگرد اجرا نشده است. از طرفی متأسفانه پارک‌های بررسی شده در مطالعه‌ی حاضر حصار-کشی نشده بودند که این گونه پارک‌ها بیشتر در معرض آلودگی هستند، زیرا سگ‌ها و گربه‌ها آزادانه می‌توانند در آن‌ها رفت و آمد کنند و موجب آلودگی پارک با تخم *توکسوکارا* شوند در مطالعه‌ی حاضر شدت آلودگی در پارک‌های بررسی شده از ۱۰-۱ تخم انگل برای نمونه‌های خاک در هر میدان میکروسکوپی متغیر بود. در حالی که این میزان نسبت به سایر مطالعات در انجام شده در شهر-های تهران (۳-۱) تبریز (۷-۱) ، شیراز و ارومیه (۸-۱) بیشتر است اما نسبت به مطالعه‌ی انجام شده در شهر خرم-آباد (۵۷-۱) کمتر است (Akhlaghi et al. 2005, Zibaei, et al. 2010, Khazan et al. 2012, Ghorbani et al. 2013, Tavassoli et al. 2008). همچنین در مطالعه‌ی حاضر شدت آلودگی در پارک‌های بررسی شده از ۴۰۰-۱ تخم انگل برای نمونه‌های چمن در هر میدان میکروسکوپی متغیر بود؛ بنابراین شدت آلودگی در نمونه‌های چمن بسیار بالاتر از نمونه‌های خاک است. علت بیشتر بودن شدت آلودگی در نمونه‌های چمن نسبت به نمونه‌های خاک استفاده از کودهای حیوانی است. در ایران کود حیوانی برای افزایش بازدهی در کشاورزی به روش سنتی و تقویت چمن و گل‌ها در باغ و پارک‌های عمومی استفاده می‌شود. کود در درجه‌ی دوم ممکن است توسط مدفوع سگ و گربه حاوی تخم گونه‌های *توکسوکارا* آلوده باشد که سبب

آلودگی پارک‌های عمومی می‌شود (Saraei, et al. 2012). همچنین در مطالعه‌ی حاضر نماتودهای کوچک آزادزی تقریباً در ۱۰۰ درصد نمونه‌های چمن و کمتر از ۱۰ درصد نمونه‌های خاک مشاهده شد، علاوه بر این جرب‌ها حداقل در یک‌سوم نمونه‌های خاک و چمن موجود بود؛ که با مطالعه‌ی Saraei و همکاران (2012) مطابقت داشت. Santarem و همکاران (2012) آلودگی پارک‌های President Prudente در سائوپائولو برزیل با تخم گونه‌های *توکسوکارا* را ۹۶ درصد گزارش کردند که از مطالعه‌ی حاضر بیشتر بود. Toparlak و همکاران (2002) در مطالعه‌ای در استانبول ترکیه درصد آلودگی گودال‌های شنی و زمین‌های بازی با تخم *توکسوکارا* را ۱۵/۹ درصد گزارش کردند. در مطالعه‌ی Stojcevic و همکاران (2010) در پولا کرواسی در ماه دسامبر ۱۵/۵ درصد نمونه‌ها و در ماه ژوئن ۲۳/۳ درصد نمونه‌ها برای تخم گونه‌های *توکسوکارا* مثبت بود. در هر دو ماه دسامبر و ژوئن تخم گونه‌های *توکسوکارا* فراوان‌ترین یافته‌ها بودند. مطالعات انجام شده در شهرهای مختلف شیوع متغیری از آلودگی خاک با گونه‌های مختلف انگل نشان می‌دهد که این تغییرات را می‌توان با ویژگی‌های جمعیت انسانی، شرایط زیست‌محیطی (اقلیم)، نوع شهرنشینی و تراکم جمعیت سگ‌ها و گربه‌ها توضیح داد. همچنین این اختلاف می‌تواند به دلیل فصل مورد بررسی باشد به طوری که تخم *توکسوکارا* در شرایط مرطوب و دمای معتدل که بیشتر در فصل بهار وجود دارد، بهتر زنده می‌مانند و خشکی و نور مستقیم آفتاب می‌تواند برای آن‌ها کشنده باشد (Stojcevic et al. 2010, Ghorbani et al. 2013). در مطالعه‌ی حاضر هر سه نوع تخم دفرمه، حاوی لارو و فاقد لارو در نمونه‌های خاک و چمن پارک‌ها یافت شد که نسبت بالایی از تخم‌ها (۴۷ درصد) به طور کامل حاوی لارو بودند که با مطالعه‌ی Oge و Oge مطابقت داشت (Oge and Oge 2000). در مطالعه‌ی دیگری که در شهر کرمانشاه روی ۱۵۰ نمونه خاک که به طور تصادفی از ۷ پارک عمومی شهر انجام شد میزان فراوانی تخم *توکسوکارا* ۱۸ درصد (۲۷ نمونه) گزارش شد (Ghashghaei et al. 2016). در مطالعه‌ی حاضر نیز که در شهر کرمانشاه انجام شد از مجموع ۱۶ پارک بررسی شده ۱۵ پارک از نظر نمونه خاک (۹۳/۷ درصد) آلوده به تخم گونه‌های *توکسوکارا* بودند و میزان شیوع آلودگی با تخم گونه‌های *توکسوکارا* در نمونه‌های خاک ۷۰/۸ درصد بود. علت این تفاوت می‌تواند نحوه‌ی نمونه‌گیری مختلف، زمان‌های متفاوت در نمونه‌گیری و اختلافات در نحوه‌ی آزمایش باشد. در این مطالعه همچنین میزان شیوع آلودگی با تخم گونه‌های *توکسوکارا* در نمونه‌های چمن نیز مورد بررسی قرار گرفت که از این جهت نسبت به سایر مطالعات انجام شده در شهر کرمانشاه متمایز است. همچنین در این مطالعه ۱۳ پارک از نظر نمونه‌های چمن (۸۱/۲ درصد) آلوده به تخم گونه‌های *توکسوکارا* بودند و میزان آلودگی در نمونه‌های چمن ۳۰/۸ درصد بود.

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش، ضروری است که جهت کاهش خطر آلودگی انسان برنامه‌های پیش‌گیرانه همراه با مطالعات بیشتر صورت گیرد. ضمناً مسئولین امور بهداشتی و مردم بایستی هوشیار بوده و جمعیت سگ‌ها را کنترل نمایند و میزبان‌های مختلف را به وسیله‌ی داروهای ضد کرم تحت درمان قرار دهند تا میزان بیماری‌های مشترک انسان و حیوان کاهش یابد. از سویی اقداماتی نظیر حصارکشی اطراف پارک‌ها و ممانعت از ورود حیوانات ولگرد به پارک‌ها و اماکن تفریحی، آموزش عمومی به ویژه به کودکان درباره خطرات این انگل‌ها و لزوم شستشوی دست‌ها بعد از تماس با خاک و چمن پارک‌ها و سالم‌سازی محل بازی کودکان به روش‌های طبیعی (نظیر نور آفتاب) و شیمیایی (نظیر استفاده از ضد عفونی کننده‌ها)، می‌تواند باعث کاهش خطر انتقال آسکاریس‌ها از حیوانات به انسان شود.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت پژوهشی دانشگاه رازی برای تأمین هزینه‌های این پژوهش تشکر و قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش در غالب پایان‌نامه‌ی دانشجویی دوره دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه رازی تأمین شده است.

منابع

Abou-El-Naga I.F. (2018). Developmental stages and viability of *Toxocara canis* eggs outside the host. *Biomédica*, 38,189-97.

Ahmad, N., Maqbool, A., Saeed, K., Ashraf, K., Qamar, & M.F. (2011). Toxocariasis, its Zoonotic importance and Chemotherapy in dogs. *The Journal of Animal & Plant Sciences*, 21(2), 142-145.

Akhlaghi, L., Oormazdi, H., SarrafNia, A., Vaziri, S., Jadidian, K. & Leghayi, Z. (2005). Survey of Seroepidemiology of Toxocariasis in 2-12 years old children in Mahidasht region, Kermanshah, Iran. *Iran Medical sciences University Journal*, 13(52), 41-48(in Persian).

GharaDaghi, Y., & Shabestari Asl, S.A. (2011). Prevalence of Infestation of Toxocara spp. In public parks of Tabriz, Iran. *Rafsanjan Medical Sciences University Journal*, 11(2), 173-178 (in Persian).

Ghashghaei, O., Khedri, J., Jahangiri-Nasr, F., Hashemi, S.H., & Fard, S.N. (2016). Contamination of soil samples of public parks with Toxocara spp. eggs in Kermanshah, Iran. *İstanbul Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 42(1), 47-50.

Ghorbani, R., Shafiei, A.H., Anamipour, A., & Naji, S. (2013). Prevalence of Toxocara eggs in Public Park of Shiraz, Iran. *Kerman Medical Sciences University Journal*, 21(2), 174-179(in Persian).

Golek, H., & Al-Saeed, A.T. (2019). Contamination of soil with Toxocara and other helminthes in soils of Amadyia district, Duhok Guvernorate, Kurdistan region- Iraq. *Applied Ecology and Environmental*, 17(6), 14883-14891.

Khademvatan, S., Abdizadeh, R., & Tavalla, M. (2014). Molecular characterization of Toxocara spp. from soil of public areas in Ahvaz southwestern Iran. *Acta tropica*, 1(135), 50-54.

Khazan, H., Khazaei, M., Tabaee, S.S., & Mehrabi, A. (2012). Prevalence of Toxocara Spp. eggs in Public Parks in Tehran City, Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 7(3), 38-42.

Macpherson, C.N.L. (2013). The epidemiology and public health importance of toxocariasis: a zoonosis of global importance. *International Journal for Parasitology*, 43, 999–1008.

Maleki, B., Khorshidi, A., Gorgipour, M., Mirzapour, A., Majidiani, H., & Foroutan, M. (2018). Prevalence of Toxocara spp. eggs in soil of public areas in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Alexandria Journal of Medicine*, 54(2), 97-101.

Maleki, B., Seyyed-Tabaei, S.J., Tahvildar, F., & Khorshidi, A. (2016). Soil contamination of public places with Toxocara spp. egg in Kermanshah, Iran, in 2014. *Novelty in Biomedicine*, 3, 105-109.

Maraghi, S., Jafari, K.M., Sadjjadi, S.M., Latifi, S.M., & Zibaei, M. (2014). Study on the contamination of Abadan public parks soil with Toxocara spp. Eggs. *Journal of Environmental Health Science and Engineering*, 12(86), 1-3.

Maraghi, S., Rafiei, A., Hajihossein, R., & Sadjjadi, S.M. (2012). Seroprevalence of toxocariasis in hypereosinophilic individuals in Ahwaz, South-Western Iran. *Journal of Helminthology*, 86(2), 241-244.

Maurelli, M.P., Santaniello, A., Fioretti, A., Cringoli, G., Rinaldi, L., & Menna, L.F. (2019). The presence of Toxocara eggs on dog's fur as potential zoonotic risk in animal-assisted interventions: A systematic review. *Animals*, 9(10), 827-832.

Mazhab-Jafari, K., Zibaei, M., Maraghi, S., Rouhandeh, R., Helichi, M., Ghafeli-Nejad, M., Zangeneh, S., & Farhadiannezhad, M. (2019). Prevalence of Toxocara eggs in the soil of public parks of Khorramshahr city, Southwest Iran. *Annals of Parasitology*, 65(4), 351-356.

Nava, A.I., Del- Campo, N.C., Verdugo, I.E., Loera, J.J., Tizoc, C.L., & Campacho, S.M. (2020). Prevalence and Viability of Toxocara spp. Eggs in Soil of Public Parks in Northwestern Mexico. *Iranian Journal of Parasitology*, 15(2), 196-203.

Oge, S., & Oge, H. (2000). Prevalence of Toxocara spp. eggs in the soil of public parks in Ankara, Turkey. *Deutsche Tierarztliche Wochenschrift*, 107, 72-75.

Otero, D., Alho, A.M., Nijsse, R., Roelfsema, J., & Overgaauw, P. (2018) de Carvalho LM. Environmental contamination with Toxocara spp. eggs in public parks and playground sandpits of Greater Lisbon, Portugal. *Journal of Infection and Public Health*, 11(1), 94-98.

Overgaauw, P.A.M., Van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F.O., Roelfsema, J., Pinelli, E., Van Knapen, F., & Kortbeek, L.M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 163(1-2), 115-122.

Pezeshki, A., Haniloo, A., Alejafar, A., & Mohammadi-Ghalehbin, B. (2017). Detection of Toxocara spp. eggs in the soil of public places in and around of Ardabil City, Northwestern Iran. *Iranian journal of parasitology*, 12(1), 136-142.

Raissi, V., Raiesi, O., Etemadi, S., Firoozeh, F., Getso, M., Hadi, A.M., & Zibaei, M. (2020). Environmental soil contamination by Toxocara species eggs in public places of Ilam, Iran. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*, 27(1), 15-18.

Rastgoo, F., Rostaee, Z., Mosleh, F., Hasannezhad, A., Ghorbaani, B.H., & Abolghazi, A. (2019). Study of Soil Contamination by Toxocara Spp. Eggs in Fasa, South of Iran from April to December 2018. *Journal of Fasa University of Medical Sciences/Majallah-i Danishgah-i Ulum-i Pizishki-i Fasa*, 9(4), 1743-1748.

Rezanezhad, H., Sarvestani, A., Armand, B., & Shadmand, E. (2017). Soil contamination with Toxocara spp. ova in public parks, elementary schools and kindergartens in Jahrom City, Southern Iran. *Pars Journal of Medical Sciences (Jahrom Medical Journal)*, 15(1), 1-6.

Santarem, V.A., Pereira, V.C., & Alegre, B.C.P. (2012). Contamination of public parks in Presidente Prudente (Sao Paulo, Brazil) by Toxocara spp. Eggs. *Revista Brasileiria Parasitology Veterinary Jaboticabal*, 21(3), 323-325.

Saraei, M., Zakilo, M., Tavazoei, Y., Jahanihashemi, H., & Shahnazi, M. (2012). Contamination of soil and grass to Toxocara spp. eggs in public parks of Qazvin, Iran. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 2(2), S1156-S1158.

Sharifi Sarasiabi K., Madani A., Zare S. (2002). Prevalence of intestinal parasites in primary school publish of Bandar Abbas. *Journal of Hormozgan University of Medical Sciences*, 4(5), 25-30.

Shchelkanov, M., Moskvina, T., Nesterova, Y., Zakjarova, G., Tatyana, K., Galkina, I., & Kiseleva, M. (2020). Toxocara Prevalence in Soil and Humans in Vladivostok: A Long-Term Study. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 8(2), e86679.

Shirvani, G., Abdizadeh, R., Manouchehri-Naeini, K., Mortezaei, S., & Khaksar, M. (2019). The Study of Soil Contamination by Toxocara spp. Eggs in Different Areas of Chaharmahal and Bakhtiari Province, Southwest Iran. *International Journal of Epidemiologic Research*, 6(4), 177-181.

Stojcevic, D., Susic, V., & Lucinger, S. (2010). Contamination of soil and sand with parasite elements as a risk factor for human health in public parks and playgrounds in Pula. *Croatia Veterinary Arhiv*, 80, 733-742.

Tavassoli, M., Hadian, M., Charesaz, S., & Javadi, S. (2008). Toxocara spp. Eggs in public parks of Urmia city, West Azerbaijan Province. Iran. *Iranian Journal of Parasitology*, 3, 24-29.

Tavassoli, M., Javadi, S., Firozi, R., Rezaei, F., Khezri, A.R., & Hadian, M. (2012). Hair Contamination of Sheepdog and Pet Dogs with Toxocara canis Eggs. *Iranian Journal of Parasitology*, 7(4), 110-115.

Toparlak, M., Gargili, A., Tuzer, E., Keles, V., Uluta Esatgul, M., & Cetinkaya, H. (2002). Contamination of Children᾽s Playground Sandpits with Toxocara eggs in Istanbul, Turkey. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 26, 317-320.

Vafae Eslahi A., Badri M., Khorshidi A., Majidiani H., Hooshmand E., Hosseini H., Taghipour A., Foroutan M., Pestehchian N., Firoozeh F., Riahi S.M., Zibaei M. (2020). Prevalence of Toxocara and Toxascaris infection among human and animals in Iran with meta-analysis approach. *BMC Infectious Diseases*, 20(20), https://doi.org/10.1186/s12879-020-4759-8.

Wakid, M.H., Azhar, E.I., & Zafar, T.A. (2009). Intestinal Parasitic Infection among Food Handlers in the Holy City of Makkah during Hajj Season 1428 Hegira. *Journal* of *King Abdulaziz University Medical Sciences*, 16, 39-52.

Zibaei, M., Abdollahpour, F., Birjandi, M., & Firoozeh, F. (2010). Soil contamination with Toxocara spp. eggs in the public parks from three areas of Khorram Abad, Iran. *Nepal Medical College Journal*, 12(2), 63-65.

Zibaei, M., Bahadory, S., Cardillo, N., & Khatami, A.R. (2017). Soil contamination with eggs of Toxocara species in public parks of Karaj, Iran. *International Journal of Enteric Pathogens*, 5(2), 45-48.

Received: 29.11.2020
Accepted: 01.03.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2021.247567.2297
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.5.9

بررسی تأثیر برخی پارامترهای فیزیولوژیک و محیطی بر مقدار سرمی ویتامین D اسب‌ها

ناصر صالحی‌اردکانی[1]، محمدرضا اصلانی[2*]، افشین جعفری‌دهکردی[3] و عبدالناصر محبی[3]

[1] دانشجوی دکترای تخصصی بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
[2] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
[3] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۱۹ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۱/۳

چکیده

ویتامین D به عنوان یک ویتامین محلول در چربی برای هموستاز کلسیم و فسفر و رشد و تکامل طبیعی اسکلت ضروری می‌باشد. در سال‌های اخیر مطالعات فراوان و رو به افزایشی در مورد اثرات کمبود این ویتامین در رخداد بیماری‌های عفونی و غیرعفونی و بدخیمی‌ها در انسان صورت گرفته است. با این حال در مورد وضعیت ویتامین D در دام‌ها به ویژه در اسب‌ها مطالعات اندکی انجام شده است. در این مطالعه از تعداد ۱۶۰ رأس اسب منطقه‌ی یزد و ۱۵ رأس اسب از منطقه‌ی اردبیل نمونه خون وریدی اخذ شد. مقدار ویتامین D، کلسیم، فسفر، منیزیوم و پاراتورمون در نمونه‌های سرم جدا شده به روش‌های استاندارد اندازه‌گیری شدند. مقدار سرمی ویتامین D در گروه‌های سنی ۳-۱ و ۶-۳ سال، اولین تا سومین شکم زایش، در منطقه‌ی یزد در مقاسه با اردبیل و نیز در جنس ماده بالاتر بود. همچنین حضور بیش از ۴ ساعت اسب‌ها در فضای آزاد اثر افزایشی معنی‌داری بر سطح ویتامین D خون داشت. آبستنی، رنگ پوشش خارجی و نژاد اثر معنی‌داری بر مقدار ویتامین D سرم اسب‌ها نداشت. به عنوان استنتاج مقدار سرمی ویتامین D اسب‌ها تحت تأثیر میزان تابش نور خورشید، سن، جنس و عرض جغرافیایی قرار گرفته و رنگ پوشش خارجی، نژاد و آبستنی بر آن تأثیر نداشته‌اند.

کلمات کلیدی: ویتامین D، اسب، کلسیم، فسفر، تابش نور خورشید

مقدمه

ویتامین D جزو ویتامین‌های محلول در چربی است و نقش اولیه آن در هموستاز کلسیم و فسفر و شکل‌گیری و رشد استخوان‌ها می‌باشد. این ویتامین در شکل‌های مختلف دیده می‌شود. فرم D3 یا کوله کلسیفرول تحت تأثیر اشعه ماوراء بنفش B در طول موج ۲۷۰ تا ۳۱۵ نانومتر، از ۷-دهیدروکلسترول در پوست تولید می‌شود. شکل D2 در بعضی از گیاهان از جمله یونجه، تحت تأثیر نور خورشید از ارگوسترول تولید می‌شود و فرم D4 و D5 در روغن بعضی از ماهی‌ها که به ماهی‌های چرب معروف هستند، وجود دارد (Dittmer and Thompson 2011).

*نویسنده مسئول: محمدرضا اصلانی، استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران
E-mail: aslani_mr@yahoo.com

ویتامین D مورد نیاز بدن در اثر تابش نور خورشید در پوست یا به وسیله‌ی غذا تأمین می‌شود با این حال مقدار ویتامین D که از طرق غذا تأمین می‌شود نسبت به مقداری که در پوست ساخته می‌شود ناچیز است. به دنبال جذب این ویتامین از طریق روده کوچک و تولید آن در پوست، به کبد انتقال می‌یابد و فرم ۲۵-هیدروکسی کوله کلسیفرول تولید می‌شود. سپس این متابولیت به کلیه و سایر بافت‌ها انتقال یافته و در آن جا تحت تأثیر آنزیم ۱-آلفا-هیدروکسیلاز متابولیت‌های ۱،۲۵ دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول و ۲۴،۲۵ دی‌هیدروکسی کوله‌کلسیفرول تولید می‌شود (Horst et al. 1994, Hymøller and Jensen 2010).

هموستاز کلسیم در حیوانات نشخوارکننده و اسب متفاوت می‌باشد. غلظت سرمی کمتر ویتامین D، جذب بالا کلسیم توسط دئودنوم و دفع کلیوی بیشتر کلسیم در اسب نسبت به حیوانات نشخوارکننده دیده می‌شود. در پستانداران، در پاسخ به هیپوکلسیمی ترشح هورمون پاراتیروئید افزایش یافته و باعث تبدیل ۲۵-دی‌هیدروکسی کوله‌کلسیفرول به ۲۵،۱-دی هیدروکسی کوله‌کلسیفرول می‌شود. هورمون پارتیروئید و ۲۵،۱-دی هیدروکسی کوله-کلسیفرول باعث آزادسازی کلسیم استخوان‌ها می‌شوند. همچنین، ۲۵،۱- کوله کلسیفرول باعث جذب فعال کلسیم از طریق روده می‌شود محل اصلی جذب کلسیم روده کوچک می‌باشد که مقدار آن در اسب‌ها بیشتر از نشخوارکنندگان می‌باشد (Horst et al. 1994, Breidenbach et al. 1998).

در مورد انسان مقدار کمتر از۲۰ng/mL (۵۰ nmol/L) ویتامین D سرم کمبود، مقدار ۲۰-۳۰ ng/mL (nmol/L ۵۰-۷۵) ناکافی و بالاتر از این سطح طبیعی محسوب می-شود. بر اساس مطالعات انجام شده حدود ۵۰ درصد مردم جهان از نظر این ویتامین در سطح ناکافی قرار دارند و یک میلیارد نفر هم دچار کمبود هستند (Graane-Finestone et al. 2011, Lee et al. 2018). در مورد دام‌ها گزارش‌های اندکی از سطح سرمی ویتامین D در دسترس است و مقدار نرمال که سلامتی و تولید دام را تضمین نماید مشخص نشده است. در گاوهای گوشتی مناطق مختلف امریکا غلظت سرمی این ویتامین ng/mL ۷۰-۸۰ بوده است. همچنین این مقدار در مورد گاوهای شیری در شرایط مختلف فیزیولوژیک ng/mL ۴۰-۱۰۰ گزارش شده است (Nelson et al. 2016, Holocome et al. 2018). بررسی میزان ویتامین D خون اسب‌ها در تایلند و آمریکا نشان داده است که میزان این ویتامین در این حیوانات پایین می-باشد. همچنین غلظت سرمی ویتامین D در پونی‌ها و کره اسب‌ها نسبت به اسب‌های بالغ کم‌تر بوده است (Pozza et al. 2014).

عوامل مختلف فیزیولوژیک و محیطی از جمله سن، چاقی، عرض جغرافیایی محل زیست، میزان و زمان دریافت روزانه نور خورشید، فصل، پوشش و رنگدانه پوست بر روی غلظت سرمی ویتامین D مؤثر می‌باشند (Tsiaras and Weinstock 2014). در مطالعه حاضر از اسب‌های منطقه یزد و اردبیل که در سال‌های اخیر پرورش این دام در آن رونق فراوان پیدا کرده است نمونه‌های خون اخذ و ضمن اندازه‌گیری مقدار ویتامین D و پارامترهای مرتبط با آن در سرم، عوامل احتمالی مؤثر بر مقدار این ویتامین بررسی شد. همچنین به منظور ارزیابی اثر عرض جغرافیایی بر مقدار ویتامین D سرم اسب‌ها، مقدار آن در نمونه سرمی تعدادی از اسب‌های اردبیل با اسب‌های استان یزد مقایسه شد.

مواد و روش کار

مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون از ۱۶۰ رأس اسب‌های سالم استان یزد (عرض جغرافیایی ۳۱/۸) و ۱۴ رأس اسب‌های سالم استان اردبیل (عرض جغرافیایی ۳۸/۲) در فصل بهار اخذ شد. خون‌گیری در ساعت ۷ الی ۹ صبح و هنگام استراحت جمع‌آوری و مشخصات اسب‌ها شامل سن، رنگ پوست، جنس، مدت نگهداری در محل مسقف و تعداد زایمان بر اساس فرم طراحی شده اخذ شد. نمونه‌گیری به

شکلی انجام شد که برای هر کدام از مشخصات مورد نظر حداقل ۱۰ نمونه به دست آید. در این مورد اسب‌ها در طیف سنی ۷ ماه تا ۲۰ سال بوده، ۵۵ رأس نریان و ۱۰۵ رأس مادیان بودند. چهل و شش رأس از این مادیان‌ها بر اساس پرونده و آخرین کشش آبستن اعلام شدند. همچنین این اسب‌ها روزانه نیم تا ۶ ساعت در فضای آزاد قرار می-گرفتند. پس از انعقاد، سرم نمونه‌ها با استفاده از سانترفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه) به مدت ۱۰ دقیقه جدا و در دمای ۷۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان آنالیز نگهداری شدند. در نمونه‌های سرم غلظت کلسیم و فسفر منیزیم با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون –ایران) و دستگاه اتوانالایزر (بی تی ۱۵۰۰– ایتالیا) و ویتامین D (25(OH)D3) و پاراتورمون (PTH) با کیت تجاری (مونوباند – ایران) و با استفاده از روش الایزا اندازه‌گیری شدند.

تجزیه و تحلیل آماری یافته‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه و تست تکمیلی Tukey انجام شد. در همه‌ی موارد P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج تأثیر رنگ در ۱۳۰ راس اسب با طیف رنگی مشخص بر سطح سرمی ویتامین D و پارامترهای مرتبط در Table 1 نشان داده شده است. بر اساس این نتایج مقدار کلسیم سرم اسب‌های سفید نسبت به اسب‌های سیاه رنگ و مقدار سرمی منیزیوم اسب‌های خاکستری و قهوه‌ای نسبت به اسب‌های سیاه به طور معنی‌داری بیش‌تر بود (p<۰/۰۵).

بررسی اثر سن جنین در اسب‌های آبستن حاکی (Table 2) از عدم وجود ارتباط با سطح سرمی ویتامین D و پارامترهای مرتبط بود (p>۰/۰۵).

Table 1. Comparison of vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone levels of horsese with different skin type/color

Skin type/ color	No	Vitamin D ng/ml	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
White	29	24.13 ± 4.81a	14.83 ± 1.49a	3.53 ± 0.93a	1.73 ± 0.57ab	42.57 ±7.50a
Black	22	24.67 ± 4.93a	13.02 ± 1.26b	3.37 ± 0.65a	1.24 ±0.27b	40.05 ±5.39a
Grey	20	26.80 ± 6.67a	13.80 ± 1.22ab	3.77 ± 1.09a	1.89 ± 0.62ac	42.08 ± 9.46a
Reddish brown	59	24.47 ± 5.99a	14.30 ± 1.64ab	3.57 ± 0.01a	1.80 ± 0.60ad	39.56 ± 9.31a

Table 2. Comparison of the effect of gestational age on the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone levels in horses

Gestational age/m	No	Vitamin D	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
<3	10	27.73 ± 6.64a	13.85 ± 1.71a	3.21 ± 0.90a	1.72 ± 0.61a	43.03±8.80a
3-7	16	26.17 ±3.61a	14.45± 1.50a	3.44±0.76a	1.67 ± 0.51a	40.33 ± 5.69ba
7<	20	25.63 ±3.70a	14.15± 1.84a	3.10 ± 0.85a	1.82± 0.55a	38.88 ± 9.88a
Non-pregnant	69	27.13 ±5.80a	14.75± 1.54d	3.30± 0.99a	2.04± 0.62a	41.59± 5.70a

نتایج وضعیت ویتامین D و پارامترهای مرتبط در گروه‌های سنی اسب (۱۲۲ رأس که سن آن‌ها مشخص شده بود) بالاتر بودن سطح خونی این ویتامین در گروهای سنی ۳-۱ و ۶-۳ سال در مقایسه با گرو های سنی زیر ۳ سال و ۱۲-۶ و بالای ۱۲ سال بود (Table 3). همچنین مقدار فسفر خون اسب ها نیز با افزایش سن روند کاهشی نشان داد (p<۰/۰۵).

Table 3. Comparison of the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone in horses with different age

Age groups	No	Vitamin D	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
1<	12	21.96 ± 2.30a	13.62 ± 1.92a	5.79 ± 1.55a	1.76 ± 0.65a	37.93±6.04a
1-3	31	27.52 ±4.79b	13.72± 1.57a	4.17±1.05b	2.19 ± 0.80a	37.76 ± 6.82a
3-6	29	27.15 ±5.00b	14.35± 1.45a	3.70± 1.36b	2.00± 0.67a	38.09 ± 6.92a
6-12	37	23.35 ±5.30ca	14.15± 1.43a	3.23± 0.77b	1.76± 0.63a	46.73 ± 4.45b
>12	13	22.60 ±4.25bd	14.84± 0.79a	2.91± 0.72c	1.97± 0.04a	39.93 ± 7.03a

مقایسه‌ی شاخص‌های سرمی بر اساس مدت زمان حضور اسبان در فضای آزاد که در ۱۴۶ راس ثبت شده بود، نشان داد که سطح سرمی ویتامین D در اسب‌هایی که به صورت میانگین ۶-۴ و یا ۴-۲ ساعت در فضای باز نگهداری می‌شدند به صورت معنی‌داری بالاتر از اسب‌هایی که به صورت میانگین ۱ و ۰/۵ ساعت بود (p<۰/۰۵). همچنین بالاترین مقدار ویتامین D سرم در اسب‌هایی بود که ۶-۴ ساعت در فضای باز نگهداری می‌شدند (Table 4). همچنین با کاهش زمان حضور اسب‌ها در فضای باز سطح کلسیم و فسفر خون نیز کاهش و سطح پاراتورمون افزایش یافته بود (p<۰/۰۵). سطح سرمی منیزیوم اسب‌ها ارتباطی با مدت زمان حضور در فضای باز نشان نداد (p>۰/۰۵).

Table 4. Comparison of the effect of sunlight exposure time on the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone in horses

Sunlight exposure/h	No	Vitamin D	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
4-6	19	27.34 ± 4.62a	14.98 ± 1.58a	4.95 ± 0.99a	2.01 ± 0.87a	35.33±7.63a
2-4	42	27.74 ±3.99ab	14.61± 1.43ab	4.13±1.59b	1.62 ± 0.48a	40.29 ± 7.25ba
1	49	23.37 ±5.09bc	14.36± 1.43abc	3.79 ±1.34cb	1.90± 0.60a	40.05 ± 11.66abc
0.5	38	23.29 ±4.60bd	12.68± 0.86d	3.29± 1.09cd	1.79± 0.81a	44.34 ± 9.32cd

نتایج تأثیر شکم زایش ثبت شده در ۴۱ راس اسب، بر مقدار ویتامین D و پارامترهای مرتبط کاهش سطح این ویتامین را با افزایش شکم زایش نشان داد به طوری که مقدار سرمی آن در شکم زایش‌های اول، دوم و سوم به طور معنی‌داری بیشتر از شکم زایش‌های چهارم و بالاتر بود (p<۰/۰۵). در همین راستا با افزایش شکم زایش مقدار سرمی کلسیم و فسفر کاهش یافته بود (Table 5). مقدار سرمی پاراتورمون نیز از شکم زایش چهارم به بعد افزایش معنی‌داری نشان داد (p<۰/۰۵). سطح سرمی منیزیوم ارتباطی با شکم زایش نشان ندارد (p>۰/۰۵).

Table 5. Comparison of the the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone in horses with different parity.

Parity	No	Vitamin D ng/ml	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
1	8	31.55 ± 5.54a	15.93 ± 1.60a	3.51 ± 0.80a	1.90± 0.76a	39.84±3.34a
2	5	25.91 ±5.27a	14.60±1.28ab	3.92±1.14ab	1.82 ± 0.68a	43.84 ± 7.17a
3	8	24.43 ±2.77a	14.40±1.42ab	3.47± 0.62b	1.80± 0.66a	41.13 ± 6.04a
4	5	20.06 ±7.54b	13.20± 0.80b	2.95± 0.50c	2.27± 0.78a	54.21±13.74ab
5	7	22.90 ±5.30b	13.70± 1.00b	2.41± 0.34cd	2.07± 0.57a	65.21 ±17.10b
6 and 6<	8	21.15 ±5.40b	13.12± 0.55a	2.52± 0.55d	2.12± 0.64a	65.86 ±17.37b

نتایج تأثیر محل نگهداری (عرض جغرافیایی) و نژاد در Table 6 نشان داده شده است. بر اساس این نتایج مقدار ویتامین D سرم اسب‌های نژاد عرب و دره شوری منطقه یزد نسب به اسب‌های کردی منطقه اردبیل به طور معنی-داری بیش‌تر بود. همچنین مقدار سرمی فسفر اسب‌های نژاد عرب از اسب‌های دره شوری بیش‌تر بود (p<۰/۰۵) ولی مقدار کلسیم، منیزیوم و پاراتورمون در نژادهای مختلف و اسب‌های یزد و اردبیل اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (p>۰/۰۵).

Table 6. Comparison of the effect of breed and location on the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone in horses

Breed/Location	No	Vitamin D	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
Arab/Yazd	126	27.33 ±4.76a	14.09 ±1.55a	3.95 ± 1.33a	1.90 ± 0.76a	40.91±7.79a
Dareshouri/Yazd	24	28.56 ±5.55a	13.42± 1.56a	2.97±0.54b	1.82 ± 0.68a	39.40 ± 7.98a
Kord/Ardabil	14	21.65 ±4.32b	14.42± 0.50a	3.94 ±1.47ab	1.80± 0.66a	38.52 ± 5.72a

بررسی ارتباط جنس اسب‌ها با مقدار سرمی ویتامین D و پارامترهای مرتبط با آن، مقدار بیش‌تر این ویتامین و نیز سطح پایین‌تر فسفر را در اسب‌های ماده نسبت به اسب‌های نر نشان داد (p<۰/۰۵). سطح سرمی کلسیم، منیزیوم و پاراتومون اختلافی را بین دو جنس نشان نداد (p>۰/۰۵ Table 7).

Table 7. Comparison of the effect of sex on the serum vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone in horses

Horse gender	No	Vitamin D ng/ml	Calcium mg/dl	Phosphorous mg/dl	Magnesium mg/dl	PTH pg/ml
Male	55	23.95 ±5.14a	14.35 ± 1.61a	4.30 ± 1.52a	1.94 ± 0.76a	38.92±7.23a
Female	105	26.40 ±4.66b	14.08± 1.52a	3.54 ± 1.02b	1.77 ± 0.66a	39.79 ± 7.83a

بحث

برای سال‌های متمادی نقش شناخته شده ویتامین D در هموستاز کلسیم و شکل‌گیری استخوان و اسکلت بود ولی در یک دهه اخیر شواهد متعددی از نقش این ویتامین در روندهای مختلف حیاتی و ارتباط آن با بیماری‌های مختلف عفونی و غیرعفونی به ویژه در انسان ارائه شده است. در این راستا ارتباط هیپوویتامینوز D با کاهش عملکرد سیستم ایمنی و مقاومت بدن، افزایش رخداد بدخیمی‌ها مانند سرطان پروستات و پستان و بیماری‌های مزمن نرودژنراتیو گزارش شده است (Chi et al. 2019, Keum et al. 2019). مطالعات چندی در مورد وضعیت ویتامین D و عوامل مؤثر بر غلظت سرمی آن در گاوهای شیری انجام شده است (Horst et al. 1994, Casas et al. 2015, Holcombe et al. 2018). با این حال در اسب‌ها گزارشات اندکی در این خصوص وجود دارد (Pozza et al. 2014). گزارش حاضر حاکی از آن است که افزایش مدت زمان قرارگیری اسب‌ها در فضای آزاد و در معرض تابش نور خورشید تأثیر افزایشی معنی‌داری در غلظت سرمی ویتامین D دارد. بر اساس این نتایج (Table 4) ۴ تا ۶ ساعت حضور اسب‌ها در فضای آزاد در طول روز، افزایش قابل توجهی در مقدار سرمی این ویتامین را به دنبال دارد. این یافته با گزارش Saastamoinen و Juusela در سال ۱۹۹۲ دال بر عدم ارتباط طول زمان چرای اسب‌ها با غلظت ویتامین D سرم آن‌ها ، همخوانی ندارد. با این حال، در مطالعه‌ای از دانمارک ارتباط خطی بین مقدار سرمی ویتامین D گاوهای هلشتاین با مدت زمان قرارگیری آن‌ها در معرض تابش نور خورشید گزارش شده است (Hymøller and Jensen

2015). در موارد انسانی هم مدت قرارگیری در معرض تابش نور خوشید، وسعت پوست در معرض تابش و نیز شدت تابش نور که متأثر از عرض جغرافیایی محل زندگی است، از عوامل اصلی تعیین کننده سطح سرمی ویتامین D توصیف شده است (Brouwer -Brolsma et al. 2015, Tonnesen et al. 2016, Lee et al. 2018).

به دنبال تابش و نفوذ اشعه ماوراء بنفش نور خورشید (طیف ۳۱۵-۲۹۵ نانومتر) به پوست، ۷-هیدروکسی کلسترول سلول‌های اپیتلیال شکسته و به پروویتامین D_3 تبدیل می‌شود که خود به خود ایزومریزه شده و ایجاد ویتامین D_3 می‌کند. این ترکیب در دو مرحله فعال می‌شود. در مرحله‌ی اول در کبد به صورت آنزیماتیک هیدروکسیله شده و ۲۵- هیدروکسی ویتامین D_3 شکل می‌گیرد که در مرحله‌ی دوم در بافت‌های مختلف به ویژه در کلیه‌ها تحت تأثیر هیدروکسیلاسیون دوم به ۱ و ۲۵ هیدروکسی ویتامین D_3 که شکل فعال این ویتامین در بدن است تبدیل می‌شود (Hymøller and Jensen 2015). مطالعات روی انسان نشان داده است که افزایش پیگمنتاسیون پوست با کاهش قابل توجه سنتز ویتامین D_3 همراه است و افراد رنگین پوست نیاز به دریافت مکمل بیش‌تری نسبت به افراد سفید پوست دارند (Vanchinathan and Lim 2012). با این حال، میزان پیگمنتاسیون پوست گاوها بر اساس مقدار رنگینه سیاه پوست با غلظت ویتامین D خون ارتباطی نداشته است و این طور عنوان شده که به علت نگهداری دام‌های مورد مطالعه در جایگاه و دسترسی محدود به تابش مسقیم نور خورشید، تأثیر پیگمنتاسیون پوست کامل نبوده است (Sorge et al. 2013). یافته‌های مطالعه حاضر نیز با گزارش فوق همخوانی دارد به ویژه این که عمده اسب‌های نمونه-گیری شده دسترسی محدودی به فضای آزاد و دریافت نور خورشید داشته‌اند.

افزایش عرض جغرافیایی یک عامل خطرساز شناخته شده‌ای برای کاهش ویتامین D و کمبود آن در انسان است به طوری که گفته می‌شود در مناطق با عرض جغرافیایی بالاتر از ۵۱ درجه تبدیل ۷-هیدروکسی کلسترول به ویتامین D در فصل زمستان ممکن نمی‌باشد (Hymøller et al. 2015, Leary et al. 2017). مطالعه روی سطح ویتامین D گاوهای گوشتی مناطق مختلف امریکا با تفاوت عرض جغرافیایی ۱۷-۱۶ درجه اختلاف قابل توجهی نشان داده است (Nelson et al. 2016). با این حال در مطالعه‌ای مقایسه سطح سرمی ویتامین D اسب‌های چیانگ رای تایلند با عرض جغرافیایی ۱۹/۵ با کنتاکی امریکا با عرض جغرافیایی ۳۸/۸ درجه، اختلاف معنی‌داری نشان نداده است (Pozza et al. 2014). در مطالعه حاضر سطح سرمی ویتامین D اسب‌های یزد (اسب‌های نژاد عرب و دره شوری) با عرض جغرافیایی ۳۱/۸ درجه با اسب‌های اردبیل (اسب‌های نژاد کردی) با عرض جغرافیایی ۳۸/۲ درجه اختلاف معنی‌داری نشان داد که با گزارش فوق همخوانی ندارد. علت این تفاوت معنی‌دار احتمالاً مربوط به اختلاف میزان تابش نور خورشید در دو منطقه می‌باشد. همچنین شیوه نگهداری اسب‌ها در دو منطقه نیز ممکن است سطح ویتامین D اثر گذاشته باشد. به هر حال بر اساس مطالعاتی که در جوامع انسانی صورت گرفته است شدت و مدت زمان تابش نور خورشید از عوامل مهم تعین کننده مقدار ویتامین D تولید شده در پوست می‌باشند. در مناطق جغرافیایی زیر عرض جفرافیایی ۳۵ درجه در طول سال مقدار کافی از اشعه‌ی ماوراء بنفش برای سنتز این ویتامین دریافت می‌شود ولی در مناطق بالاتر از این مانند اکثر کشورهای اروپایی، میزان تابش در زمستان کم و برای تولید ویتامین D کفایت نمی‌کند و به همین دلیل در این مناطق استفاده از مکمل‌ها برای تأمین ویتامین D مورد نیاز بدن توصیه شده است (Tsiaras et al. 2011).

مطالعه وضعیت ویتامین D سه نژاد گوسفند در اسکاتلند نشان داده است که مقدار سرمی این ویتامین تحت تأثیر نژاد دام نمی‌باشد. گزارش مشابهی در مورد اسب‌ها در دسترس نیست. بر اساس یافته‌های مطالعه حاضر نیز بین مقدار سرمی ویتامین D اسب‌های نژاد عرب و دره شوری در

منطقه‌ی یزد اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. البته اسب‌های کردی با سطح سرمی پایین‌تر ویتامین D متعلق به منطقه اردبیل بودند که قبلاً در مورد آن بحث شد.

نتایج مطالعه حاضر حاکی از تأثیر سن بر مقدار ویتامین Dسرم اسب‌ها بود به طوری که گروه‌های سنی یک تا ۳ سال و ۳ تا ۶ سال بالاترین و زیر یک سال کم‌ترین غلظت سرمی این ویتامین را نشان دادند. این یافته‌ها با مطالعه وضعیت ویتامین D اسب‌های تایلند و امریکا کم و بیش همخوانی دارد. در این مطالعه علت کمتر بودن سطح ویتامین D در کره‌ها، کم بودن غلظت این ویتامین در شیر و حضور کم‌تر این دام‌ها در فضای آزاد و دریافت کم تابش نور خورشید عنوان شده است (Pozza et al. 2014). در موارد انسانی با توجه به طیف وسیع سن نسبت به دام‌ها تأثیر افزایش سن بر مقدار ویتامین D بسیار مورد توجه بوده و نشان داده شده است که با افزایش سن و بعد از میان سالی سطح این ویتامین کاهش می‌یابد. در این ارتباط نشان داده شده که مقدار ۷–هیدروکسی کلسترول پوست در سنین بالا نسبت به جوانی تا ۶۵ درصد کاهش می‌یابد (Tsiaras et al. 2011). چنین روندی ممکن است در مورد اسب‌های مطالعه حاضر مصداق داشته باشد که بعد از سنین جوانی سطح ویتامین D کاهش یافته است. با این حال، در مطالعه‌ای بر روی گاوهای شیری تازه‌زا، ارتباطی بین سن و شکم‌زایش با سطح سرمی ویتامین D یافت نشده است (Holcombe et al. 2018). همچنین در مطالعه وضعیت ویتامین D اسبچه‌های خزر، سنین زیر ۳ سال و بالای ۳ سال تفاوت معنی‌داری در سطح سرمی این ویتامین نشان نداده‌اند (Effati et al. 2018).

بررسی اثر شکم زایش مادیان‌ها بر روی سطح سرمی ویتامین D نشان داد از شکم زایش چهارم به بعد مقدار آن به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. در همین راستا و همزمان مقدار کلسیم سرم نیز کاهش و پاراتورمون افزایش یافته است. این روند حاکی از افزایش نیاز به کلسیم با افزایش شکم زایش است. همچنین این روند نشان می‌دهد که با افزایش شکم‌زایش در مادیان‌ها، تأمین مکمل ویتامین D برای افزایش کارایی تولید مثل ممکن است ضرورت داشته باشد. گزارشی از اثر شکم‌زایش بر سطح ویتامین D اسب‌ها در دسترس نیست. در مطالعه گاوهای شیری تازه‌زا، مقدار سرمی این ویتامین ارتباط معنی‌داری با شکم‌زایش نداشته است (Holcombe et al. 2018). با این حال در موارد انسانی افزایش شکم زایش یک عامل خطرساز قوی برای نارسایی و کمبود این ویتامین اعلام شده است (Andersen et al. 2013, Aji et al. 2019). همچنین در مطالعه حاضر آبستنی و سن آبستنی تأثیر معنی‌داری بر مقدار ویتامین D سرم مادیان‌ها نداشت و فقط در ارزیابی پارامترها، سطح کلسیم سرم مادیان غیرآبستن بالاتر از موارد آبستن بود که می‌تواند به افزایش نیاز متابولیکی به کلسیم در طی آبستنی مربوط باشد.

یافته‌های مطالعه حاضر سطح سرمی ویتامین D بالاتری را در مادیان‌ها نسبت به نریان‌ها نشان داد. این در حالی است که معدل زمان حضور اسب‌های نر در فضای آزاد (۱/۵۵ ساعت) کم‌تر از اسب‌های ماده (۲/۱۷ ساعت) بوده است. اثر جنس بر مقدار ویتامین D سرم اسب‌ها گزارش نشده است. در اسبچه خزر تفاوتی در مقدار سرمی این ویتامین بین دو جنس مشاهده نشده است (Effati et al. 2018). مطالعات فراوانی در انسان اثر معنی‌دار جنس بر سطح ویتامین D را نشان داده است. در این راستا در برخی گزارشات سطح این ویتامین در زنان کم‌تر و اختلالات و بیماری‌های مرتبط با آن نیز بیش‌تر بوده است. علت کم‌تر بودن مقدار سرمی ویتامین D در زنان را به بالاتر بودن حجم چربی بدن آن‌ها نسبت داده‌اند. چربی زیادتر بدن به احتباس ویتامین D و در دسترس نبودن آن کمک می‌کند (Verdoia et al. 2015, Chakhtoura et al. 2018, Muscogiuri et al. 2019). از طرف دیگر مطالعات چندی نیز بالاتر بودن سطح ویتامین D در زنان نسبت به مردان را نشان داده‌اند. در این موارد نیز مصرف بیش‌تر الکل توسط مردان در برخی جوامع و یا درگیری شغلی مردان با حضور بیش‌تر در فضاهای سرپوشیده را علت پایین‌تر بودن سطح ویتامین D عنوان کرده‌اند (Sanghera et al. 2017, Vallejo et al. 2020). در مطالعه حاضر به نظر می‌رسد حضور بیش‌تر مادیان‌ها در فضای باز و دریافت بیش‌تر نور خورشید موجب فزونی مقدار ویتامین D آن‌ها نسبت به نریان‌ها شده باشد.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مقدار سرمی ویتامین D اسب‌ها تحت تأثیر میزان حضور در فضای باز و در معرض تابش نور خورشید، سن، جنس و عرض جغرافیایی قرار گرفته و رنگ پوشش خارجی، نژاد و آبستنی بر آن تأثیر نداشته اند.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهرکرد برای تأیید و حمایت مالی انجام این پژوهش تشکر و قدردانی به عمل می‌آید.

تعارض منافع

تعارض منافع در این مطالعه وجود نداشت.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش توسط معونت پژوهشی دانشگاه شهرکرد تأمین گردیده است.

منابع

Aji, A.S., Erwinda, E., Yusrawati, Y., Malik, S.G., & Lipoeto, N.I. (2019). Vitamin D deficiency status and its related risk factors during early pregnancy: a crosssectional study of pregnant Minangkabau women, Indonesia. *BMC Pregnancy and Childbirth*, 19,183.

Andersen, L.B., Abrahamsen, B., Dalgrad, C., Kyhl, H.B. Beck-Nielsen, S.S., Frost-Nielsen, M., et al., (2013). Parity and tanned white skin as novel predictors of vitamin D status in early pregnancy: a population-based cohort study. *Clinical Endocrinology*, 79, 333–341.

Breidenbach, A., Schlumbohm, C., & Harmeyer, J.(1998). Peculiarities of vitamin D and of the calcium and phosphate homeostatic system in horses. *Veterinary Research*, 29,173-186.

Brouwer-Brolsma, E.M., Vaes, A.M.M., van der Zwaluwa, N.L., van Wijngaardena, J.P., Swart, K,M,A., Ham, A.C., van Dijk, S.C., et al., (2016). Relative importance of summer sun exposure, vitamin D intake, and genes to vitamin D status in Dutch older adults: The B-PROOF study. *Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 164,168-176.

Casas, E., Lipolis, J.D., Kuehn, L.A., & Reinhardt T.A (2015). Seasonal variation in vitamin D status of beef cattle reared in the central United States. *Domestic Animal Endocrinology*, 52, 71-74.

Chai, B., Gao, F., Wu, R., Dong, T., Gu, C., Lin, Q., & Zhang, Y. (2019). Vitamin D deficiency as a risk factor for dementia and Alzheimer’s disease: an updated meta-analysis. BMC *Neurology* 19: 284.

Chakhtoura, M., Rahme, M., Chamoun, N., & El-Hajj Fuleihan, G. (2018) Vitamin D in the Middle East and North Africa. *Bone Reports*, 8, 135–146.

Dittmer, K., & Thompson, K. (2011). Vitamin D metabolism and rickets in domestic animals: a review. *Veterinary Pathology*, 48, 398-407.

Effati, N., Mohammadi, M., Nazifi, S., & Rahimabadi, E (2018). Serum profiles of calcium, phosphorus, magnesium, vitamin D and parathyroid hormone in Caspian horses during different seasons. *Caspian Journal of Environmental Sciences*, 16, 85-92.

Greene-Finestone, L., Berger, C. deDe. Groh. M., Hanley, D., Hidiroglou, N et al., (2011). 25-Hydroxyvitamin D in Canadian adults: biological, environmental, and behavioral correlates. *Osteoporosis international*, 22,1389-1399.

Holcombe, S.J., Wisnieski, L., Gandy J., Norby, B., & Sordillo, L.M. (2018). Reduced serum vitamin D concentrations in healthy early-lactation dairy cattle. *Journal of Dairy Sciences*, 101, 1-7.

Horst, R.., Goff, J., & Reinhardt, T (1994). Calcium and Vitamin D Metabolism in the Dairy Cow. *Journal of Dairy Science*, 77, 1936-1951.

Hymøller, L., & Jensen, S.K (2010). Vitamin D3 synthesis in the entire skin surface of dairy cows despite hair coverage. *Journal of Dairy Science*, 9, 209-2025.

Hymøller, L., & Jensen, S.K. (2015). We know next to nothing about vitamin D in horses. *Journal of Equine Veterinary Sciences*, 35, 785-793.

Keum, N., Lee, D.H., Geenwood, D.C., Manson, J.E., & Giovannucci, E. (2019). Vitamin D supplementation and total cancer incidence and mortality: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Annals of Oncology*, 30, 733-743.

Leary, P.F., Zamfirova, I., Au, J., & McCracken, W.H. (2017). Effect of Latitude on Vitamin D Levels. *Journal of American Osteopathic Association*, 117, 433-439.

Lee, D.H., Park, K.S., & Cho, M.C. (2018). Laboratory confirmation of the effect of occupational sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D concentration. *Medicine*, 97 (27), e11419.

Muscogiuri, G., Barrea, L., Di Somma, C., Laudisio, D., Salzano, C., Pugliese, G., et al., (2019). Sex Differences of Vitamin D Status across BMI Classes: An Observational Prospective Cohort Study. *Nutrients*; 11, 3034, doi:10.3390/nu11123034.

Nelson, C.,D., Powell, J.L., Price, D.M., Hersom M,J.. Yelich, J,V., Drewnoski, M.E., et al., (2016). Assessment of serum 25-hydroxyvitamin D concentrations of beef cows and calves across seasons and geographical locations. *Journal of Anim Science*, 94,3958–3965.

Pozza, M.E., Laewsakhorn, T., Trinarong, C., Inpanbutr, N., & Toribio, R.E. (2014). Serum vitamin D, calcium, and phosphorus concentrations in ponies, horses and foals from the United States and Thailand. *The Veterinary Journal*, 199, 451-6

Saastamoinen, M., & Juusela, J. (1992). Influence of dietary supplementation on serum vitamin A and D concentrations and their seasonal variation in horses. *Agricultural Science Finland*, 1, 477-482.

Sanghera, D.K., Sapkota, B.R., Aston, C.E., & Blackett, B.R. (2017). Vitamin D Status, Gender Differences, and Cardiometabolic Health Disparities. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 70, 79–87.

Sorge, U.S., Molitor, T., Linn, J., Gallaher, D., & Wells, S.W. (2013). Cow-level association between serum 25-hydroxyvitamin D and *Mycobacterium avium* subspecies *paratuberculosis* antibody seropositivity: A pilot study. *Journal of Dairy Science*, 96, 1030-1037.

Tønnesen, R., Hovind, P.H., Jensen, L.T., & Schwarz, P. (2016). Determinants of vitamin D status in young adults: influence of lifestyle, sociodemographic and anthropometric factors. *BMC Public Health*, 16, 385.

Tsiaras, W,G., & Weinstock, M.A. (2011). Factors Influencing Vitamin D Status. *Acta Dermo Venereologica*, 91, 115–124.

Vallejo, M.S., Blümel, J.E., Arteaga, E., Aedo, S., Tapia, V., Araos, A., et al., (2020). Gender differences in the prevalence of vitamin D deficiency in a southern Latin American country: a pilot study. Climacteric, DOI:10.1080/13697137.2020.1752171

Vanchinathan, V., & Lim, H.W. (2012) A Dermatologist's Perspective on Vitamin D. *Mayo Clinic Proceedings*, 87, 372-380.

Verdoia, M., Schaffer, A., Barbieri, L., Di Giovine, G., Marino, P., Suryapranata, H., & De Luca, G (2015). Impact of gender difference on vitamin D status and its relationship with the extent of coronary artery disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 25, 464-70.

Received: 09.09.2020
Accepted: 22.01.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2020.245788.2294
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.6.0

بررسی وضعیت آلودگی سیستم تولید مثل مادیان‌های اطراف استان‌های تهران و البرز به *سودوموناس آئروژینوزا*

مسعود طالب‌خان‌گروسی[1]*، مصطفی سلیمانی[2]، تقی زهرایی‌صالحی[3] و فرامرز قراگوزلو[1]

[1] استاد گروه مامایی و بیماری‌های تولید مثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[2] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
[3] استاد گروه میکروبیولوژی - ایمنولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۷ پذیرش: ۱۳۹۹/۹/۱۸

چکیده

هدف از این بررسی، ارزیابی آلودگی *سودوموناس آئروژینوزا* در بین جمعیت‌های مادیان‌های به ظاهر سالم مراکز مختلف پرورش و نگهداری مادیان و نیز موارد بالینی تولید مثلی در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد. تعداد ۲۷۶ نمونه به صورت کاملاً تصادفی از ناحیه‌ی گودی کلیتورال و ناحیه‌ی واژن ۱۳۸ رأس مادیان آبستن (۹ رأس، ۶/۵۲ درصد) و غیرآبستن (۱۲۹رأس، ۹۳/۴۸ درصد) با استفاده از سوآب استریل تهیه گردید. مادیان‌های مورد مطالعه شامل: دام‌های باشگاه‌های سوارکاری (۷۹ رأس، ۵۷ درصد)، موارد بالینی (۳۲ رأس، ۲۳ درصد) و مادیان‌های موجود در بخش تهیه‌ی سرم و واکسن مؤسسه‌ی سرم‌سازی رازی-کرج (۲۷ رأس، ۲۰ درصد) در اطراف استان‌های تهران و البرز بود. نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه تشخیص دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران منتقل گردید و عملیات کشت باکتریال تا حصول نتایج دنبال شد. اطلاعات به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۹ مورد ارزیابی آماری قرار گرفت. *سودوموناس آئروژینوزا* از ۶ رأس (۴/۳۵ درصد) مادیان جدا شد. این باکتری از ناحیه‌ی گودی کلیتوررال (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد)، واژن (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد) و نیز توأمان گودی کلیتورال - واژن (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد) دام‌های آلوده جدا شد. سن مادیان‌های آلوده بین ۸ الی ۲۰ سال بود. کلیه دام‌های آلوده غیرآبستن بودند. چهار (۲/۹ درصد) رأس از دام‌های آلوده از نژاد تروبرد و ۲ (۱/۴۵درصد) از نژاد عرب بودند. این باکتری فقط از دام‌های موجود در باشگاه‌های سوارکاری جدا گردید. نتیجه گرفته می‌شود که مادیان‌های باشگاه‌های سوارکاری اطراف استان‌های تهران و البرز آلوده به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشند. برنامه‌های کنترلی غربالگری متداول از قبیل: نمونه‌برداری از ناحیه‌ی گودی کلیتورال و واژن تمامی مادیان‌های باشگاه‌های سوارکاری و مراکز پرورش و نگهداری اسب قبل از شروع فصل تولید مثلی دام به منظور جلوگیری از بروز خسارات اقتصادی به صنعت پرورش اسب بایستی به عمل آید.

کلمات کلیدی: مادیان، تولید مثل، *سودوموناس آئروژینوزا*، تهران، البرز

مقدمه

سیستم تولیدمثل کلیه‌ی پستانداران دارای میکروفلور اختصاصی و منحصر به فرد خود می‌باشد (Azarvandi et al. 2017, Garoussi et al. 2016). علاوه بر عوامل باکتریال طبیعی، بعضی از عوامل بیماری‌زا نظیر *سودوموناس*

*نویسنده مسئول: مسعود طالب‌خان‌گروسی، استاد گروه مامایی و بیماری‌های تولید مثل، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران
E-mail: garoussi@ut.ac.ir

آئروژینوزا ممکن است به وسیله‌ی حاملین نر و ماده بدون علایم بیماری تولید مثلی از طریق جفت‌گیری و یا از طریق فیزیکی از قبیل: معاینات تولید مثلی و یا از طریق وسایل آلوده به دام سالم منتقل گردد (Kelley et al. 2019).

سودوموناس‌ها یکی از گروه‌های بزرگ باکتریایی هستند که بیش از ۸۰ گونه از آن‌ها شناسایی شده است. این باکتری به وفور در خاک و آب یافت می‌شود اما معدودی از آن‌ها برای انسان و حیوانات توانایی بیماری‌زایی دارند. لذا نظر به دارا بودن قدرت تهاجمی ضعیف، به عنوان یک عامل بیماری‌زای فرصت طلب شناخته می‌شود (Andonovaa Urumova 2013). *سودوموناس آئروژینوزا* باکتری گرم منفی است که به میزان فراوانی بر روی پوست و قسمت خارجی سیستم تولید مثلی مادیان و نریان یافت می‌شود (Oh et al. 2017). این باکتری در مکان‌های گرم و مرطوب و نیز در آب‌های راکد موجود می‌باشد. این میکروارگانیسم می‌تواند بدون ایجاد عفونت بر روی سیستم تولید مثلی دام نر و ماده وجود داشته باشد (Ali et al. 2015). این باکتری بر خلاف سایر *سودوموناس‌ها* قادر به تولید آنزیم‌های مخرب نظیر همولیزین است که بروز آسیب به بافت میزبان را تسهیل می‌کند (Constable et al. 2017). اثر بیماری‌زایی این میکروارگانیسم ناشی از توکسین خارج سلولی آن است. آلودگی در مادیان ممکن است منجر به بروز آندومتریت حاد و گسترده، همراه با ترشحات چرکی شود و یا در اکثر موارد به صورت یک آندومتریت ملایم نمایان شود. از دست دادن آبستنی، بازگشت سریع به سیکل استروس و بروز علایم فحلی از نتایج شایع آلودگی با *سودوموناس آئروژینوزا* است. سقط به دلیل التهاب جفت، با تأخیر روی می‌دهد. معمولاً ارگانیسم از جفت و جنین قابل جداسازی است. نریان‌های سالم، هنگام جفت‌گیری با مادیان آلوده، آلوده شده و می‌توانند ارگانیسم را به سایر مادیان‌ها انتقال دهد (Cerny et al. 2014).

این باکتری در بلاد آگار، کلونی‌های متمایل به سبز با بویی مطبوع تولید کرده و در آگار مک کانکی، کلونی‌های صورتی رنگ ایجاد می‌کند. این باکتری لاکتوز را تخمیر کرده و قادر به رشد در دمای ۴۱ درجه‌ی سانتی‌گراد می‌باشد. این ویژگی *سودوموناس آئروژینوزا* را از سایر سویه‌ها متمایز می‌کند. این باکتری نسبت به مواد ضد عفونی و آنتی‌بیوتیک‌ها مقاوم می‌باشد، به همین دلیل این ۲ عامل باعث می‌شوند که این باکتری به عنوان یک میکروارگانیسم مقاوم محسوب شود (Youngquist Threlfall 2007).

عفونت *پزودوموناس آئروژینوزا* یکی از بیماری‌های مهم سیستم تولید مثل مادیان است که منجر به آندومتریت، کاهش باروری، سقط و در نهایت بروز خسارات اقتصادی به صنعت پرورش اسب می‌گردد (Tibary Fite 2007). هر چند که غالباً گفته می‌شود که این باکتری یک عفونت مقاربتی است اما شواهد محدودی در مورد انتقال آن از طریق جفت‌گیری و تلقیح مصنوعی وجود دارد (McKinnon et al. 2012, Samper Tibary 2006, Tibary Fite 2007, Blanchard et al. 1992). اطلاعات محدودی نیز در رابطه با عوامل اپیدمیولوژیک انتقال اسب به اسب در دسترس می‌باشد. در اکثر موارد، نریان‌ها به صورت حاملین بدون علایم بالینی عمل می‌کنند، اما آندومتریت و کم باروری ممکن است که در مادیان‌هایی که همراه با این نریان‌ها پرورش داده می‌شوند بروز کند (Pasing et al. 2013, Pickett et al. 1999). عفونت در مادیان‌ها به ۲ صورت بروز می‌کند، حالت فعال بیماری که همراه با بروز علایم اصلی بیماری به صورت ترشحات ناحیه‌ی واژینال است و طریق دیگر، به صورت حاملین بیماری که بدون هیچ گونه علایم بیماری بوده و در بین گله، این باکتری را منتشر می‌کنند (Lu and Morresey 2007) نظر به این که اطلاعات و مطالعات انجام شده در مورد عفونت‌های تولید مثلی اسب در ایران از توجه کمتری نسبت به گاو برخوردار بوده است، تصمیم به این مطالعه گرفته شد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی وضعیت آلودگی سیستم تولید مثل اسب‌های گروه‌های مختلف جمعیتی به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد.

مواد و روش کار

در این بررسی از ۱۳ باشگاه سوارکاری اطراف استان-های تهران و البرز (۷۹ رأس مادیان به ظاهر سالم، ۵۷ درصد)، مادیان‌های ارجاعی به درمانگاه گروه مامایی و بیماری‌های تولید مثل دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران (۳۲ رأس، ۲۳ درصد) و مادیان‌های موجود در بخش تهیه‌ی واکسن و سرم مؤسسه‌ی تحقیقاتی رازی کرج (۲۷ رأس، ۲۰ درصد) نمونه‌برداری به عمل آمد. تعداد نمونه‌های مورد نیاز با سطح اطمینان (Level of confidence) ۹۵ درصد، دقت تمایل مطلق (Desired Obsolute precision) و شیوع مورد انتظار (Expected prevalance) ۱۰ درصد، حداقل تعداد ۱۳۸ رأس مادیان جهت نمونه‌برداری مورد نیاز بود (Rogan and Gladen 1978, Thrusfield and Christley 2018). پس از مقید کردن دام‌های مورد بررسی، نمونه‌ها از ۲ ناحیه‌ی گودی کلیتورال و واژینال اخذ گردید. تعداد ۲۷۶ نمونه با استفاده از سوآب استریل تهیه و سپس در لوله‌های درب پیچ‌دار استریل قرار داده شد و در کنار یخ به آزمایشگاه باکتریولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران جهت کشت باکتریال منتقل گردید. نمونه‌ها در محیط کشت بلاد آگار و مک کانکی کشت داده شدند و پس از گذشت ۲۴ ساعت در محیط ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد مورد بررسی قرار گرفتند. موارد مشکوک، به محیط اختصاصی کشت *سودوموناس* منتقل گردید و پس از بررسی رشد و رنگ کلونی مورد تأیید قرار می‌گرفت (Markey et al. 2013).

اطلاعات به دست آمده با استفاده از نسخه ۱۹ نرم‌افزار SPSS مورد بررسی قرار گرفت. روش آماری مورد استفاده، آزمون مربع کای (Chi-spuare) و آزمون فیشر (Fisher exact test) بود. جهت بررسی ارتباط بین تعداد زایش و سن دام‌های آلوده و غیرآلوده از T test استفاده گردید. در این بررسی، سطح P≤۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شدند.

نتایج

در این بررسی مشخص شد که ۶ رأس (۴/۳۵ درصد) از ۱۳۸ رأس مادیان مورد بررسی آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشند. نمونه‌های مثبت از نواحی گودی کلیتورال (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد)، واژینال (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد) و ناحیه‌ی توأمان کلیتورال و واژینال (۲ رأس، ۱/۴۵ درصد) جداسازی شدند.

Table 1 نشان دهنده‌ی وضعیت آلودگی ارگان‌های مختلف سیستم تولید مثل مادیان‌های اطراف استان‌های تهران و البرز به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. ارتباط معنی‌داری بین بافت‌های تولید مثلی مادیان‌های تحت بررسی مشاهده نشد (P≥۰/۰۵).

Table 1. Distribution of *Pseudomonas aeruginosa* *i*nfection of mares genital system in suburb of Tehran and Alborz povinces- Iran

Region	Culture		Total
	+(%)	-(%)	
Clitoris	2(1.45)	135(98.55%)	137
Vagina	2(1.45)	135(98.55%)	137
Clitoris & Vagina	2(1.45)	-	2
Total	6(4.35%)	270	275

Table 2 نمایانگر توزیع سن مادیان‌ها در بررسی آلودگی سیستم تولید مثل آن‌ها به *سودوموناس آئروژینوزا* است. Table 2 نشان می‌دهد که از ۶ رأس مادیانی که *سودوموناس آئروژینوزا* جدا شده، ۳ رأس از آن‌ها در بازه زمانی ۶ الی ۱۰ سال، ۲ رأس بین سنین ۱۱ الی ۱۵ سالگی و یک رأس بالاتر از ۲۰ سال بوده است. در این بررسی مشخص شد که ارتباط معنی‌داری بین سن دام‌ها و آلودگی سیستم تولید مثل آن‌ها به باکتری *پوزوسودوموناس آئروژینوزا* وجود ندارد (P≥۰/۰۵).

Table 2: Distribution of age of genital system *Pseudomonas aeruginosa* infectionof the mares in suburb of Tehran and Alborz provinces- Iran

Age (year)	Culture		Total
	+(%)	-(%)	
<2	-	-	-
2-5	-	34(26.63)	34(26.63)
6-10	3(2.19)	46(33.33)	49(35.5)
11-15	2(1.45)	34(26.63)	36(26.08)
16-20	-	13(9.42)	13(9.42)
>20	1(0.72)	5(3.62)	6(4.35)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

Table 3 نشان دهنده وضعیت آلودگی سیستم تولید مثل مادیان‌های آبستن و غیرآبستن به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* مراکز پرورش و نگهداری اسب در اطراف استان تهران و البرز است.

Table 3. Distribution of pregnancy of the mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Pregnancy	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
+	-	9(6.52)	9(6.52)
-	6(4.35)	123(89.13)	129(93.48)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

Table 4 نشان دهنده‌ی وضعیت تلقیح در مادیان‌های غیرآبستن آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* و سالم در مراکز نگهداری اسب در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد.

Table 4. Distribution of insemination status of the non-pregant mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran.

Breeding	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
+	3(2.32)	61(47.28)	64(49.61)
-	3(2.32)	62(48.06)	65(50.38)
Total	6(4.65)	123(95.34)	129

Table 5 بیان‌گر وضعیت سابقه‌ی آخرین زایش مادیان‌های آلوده و غیرآلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* در مراکز نگهداری اسب در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد. در این بررسی مشخص شد که ارتباط معنی‌داری از نظر آلودگی سیستم تولید مثل مادیان‌های غیرآبستن وجود ندارد (P≥۰/۰۵).

Table 5. Distribution of the last foaling of the mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Foaling	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
+	4(2.9)	68(49.27)	9(6.52)
-	2(1.45)	64(48.38)	129(93.48)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

Table 6 نشان دهنده‌ی ارتباط بین تعداد زایش و سن مادیان‌ها آلوده و غیرآلوده ناحیه‌ی خارجی سیستم تولید مثل آن‌ها به *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشد. در این بررسی مشخص شد که بین سن و تعداد زایش مادیان‌های آلوده و سالم ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (P≥۰/۰۵).

Table 6. Distribution of Parity and age in mares detected positive and negative assessment of genital system Pseudomonas aeruginosa infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Parameter	Positive test	Negative test
Parity	2.00 ± 0.13	2.75 ± 0.76
Age	9.41 ± 0.41	12.08 ± 2.08

Table 7 نشان دهنده‌ی تعداد زایش مادیان‌های آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* و سالم مراکز نگهداری اسب در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد. با توجه به Table 7 ، ۴ رأس از مادیان‌ها آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* بوده که دارای تعداد زایش متعددی بوده‌اند. ارتباط آماری بین تعداد زایش و وضعیت آلودگی مادیان‌ها مشاهده نگردید (P≥۰/۰۵).

Table 7. Distribution of foaling number of the mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Foaling No.	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
1	1(1.38)	26(36.11)	27(37.5)
2	1(1.38)	24(33.33)	25(34.72)
3	1(1.38)	12(16.66)	13(18.05)
4	-	4(5.55)	4(5.55)
5	1(1.38)	2(2.77)	3(4.16)
Total	4(5.55)	68(94.44)	72

Table 8 نشان دهنده‌ی سابقه‌ی تلقیح مادیان‌های تحت بررسی در مراکز نگهداری و پرورش اسب در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد. در این بررسی مشخص شد که ۵ (۳/۶۲) رأس از مادیان‌ها آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* دارای سابقه‌ی تلقیح بوده است. ارتباط آماری معنی‌داری بین تلقیح و وضعیت آلودگی مشاهده نگردید (P≥۰/۰۵).

Table 8 . Distribution of breeding condition of the mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Breeding	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
+	5(3.62)	94(68.11)	99(71.74)
-	1 (0.72)	64(48.38)	129(93.48)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

Table 9 نشان دهنده‌ی نوع تلقیح مادیان‌های آلوده به *سودوموناس آئروژینوزا* در مراکز پرورش و نگهداری اسب استان‌های تهران و البرز است. ارتباط آماری بین نوع تلقیح و وضعیت آلودگی مادیان‌ها به *سودوموناس آئروژینوزا*، ارتباط معنی‌داری وجود ندارد (P≥۰/۰۵).

Table 9. Distribution of breeding methods of the mares in genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Breeding method	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
Artificial Insemination	3(3.03)	38(38.38)	41(41.41)
Natural Insemination	2 (2.02)	56(56.56)	58(58.58)
Total	5 (5.05)	94(94.94)	99

Table 10 نشان دهنده‌ی توزیع نژادهای مختلف مادیان‌ها و وضعیت آلودگی سیستم تولید مثل مادیان‌های موجود در مراکز پرورش و نگهداری اسب در اطراف استان‌های تهران و البرز می‌باشد. ارتباط معنی‌داری بین نژاد و کشت باکتریال مشاهده نشد (P≥۰/۰۵).

Table 10 . Distribution of mares breeds of genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Breed	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
Thoroughbred	4(2.9)	82(59.82)	86(62.32)
Arab	2(1.45)	32(23.19)	58(58.58)
Cross	-	18(13.04)	18(13.04)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

Table 11 نشان دهنده‌ی نوع کاربری مادیان‌ها در بررسی آلودگی قسمت خارجی سیستم تولید مثل آن‌ها به *سودوموناس آئروژینوزا* در مراکز نگهداری و پرورش اسب در اطراف استان تهران و البرز می‌باشد. ارتباط معنی‌داری بین کاربرد مادیان‌ها و آلودگی سیستم تولید مثل آن‌ها وجود نداشت (P≥۰/۰۵).

Table 11 . Distribution of mares' efficiency of genital system *Pseudomonas aeruginosa* infection in suburb of Tehran and Alborz provinces-Iran

Horse efficiency	Culture		Total(%)
	+(%)	-(%)	
Riding	5(3.62)	74(53.62)	79(57.25)
Jumping	1(0.72)	13(9.42)	58(58.58)
Cart	-	18(13.04)	18(13.04)
Biological	-	27(19.57)	27(19.57)
Total	6(4.35)	132(95.65)	138

بحث

در این مطالعه از ۲ ناحیه‌ی سیستم تولید مثلی (گودی کلیتورال و ناحیه‌ی واژینال) ۱۳۸ رأس مادیان جهت بررسی آلودگی *سودوموناس آئروژینوزا*، نمونه‌برداری به عمل آمد. لذا مشخص شد که ۶ (۴/۳۵ درصد) رأس از مادیان‌های اطراف استان تهران و البرز، آلوده به این میکروارگانیسم می‌باشند. در این بررسی همچنین مشخص گردید که هیچ یک از مادیان‌های آلوده به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا*، دارای علایم بالینی بیماری تولید مثلی نبودند. طی یک بررسی ۵ ساله به عمل آمده در کوینزلند استرالیا بر روی ۲۰۴۰ مورد مادیان نژاد تروبرد در یک منطقه‌ی جغرافیایی، مشخص شد که فقط ۴/۶ درصد (۹۳ رأس) از دام‌ها آلوده به باکتری *سودوموناس آئروژینوزا* می‌باشند. در این بررسی

به عمل آمده، دام‌های ماده همراه با دام‌های نر نگهداری می‌شدند (Kidd et al. 2011). لذا این عفونت می‌تواند به صورت تک گیر باعث آلودگی دام‌ها گردد. بر اساس بررسی‌های به عمل آمده مشخص گردیده که عمدتاً این باکتری به صورت مکانیکی می‌تواند باعث بروز آلودگی و متعاقباً آندومتریت در دام‌های مستعد، به خصوص مواردی که دارای نقص در برگشت رحمی پس از زایش بوده، گردد (Lu and Morresey 2007).

به منظور جلوگیری از عوارض شدید بیماری‌های مقاربتی در صنعت پرورش اسب، قواعد کاری هیأت مدیره شرط‌بندی در سوارکاری اسب انگلستان Horserace Betting Levy Board (HBLB) مورد استفاده قرار می‌گیرد. این مؤسسه‌ی قانونی، قواعد و قوانین کاری خود را هر ساله در زمینه‌ی بیماری‌های مقاربتی باکتریال، ویروسی و گورم اسب‌ها مطابق با اطلاعات روز ارائه می‌دهد. این قوانین بیان می‌کند که قبل از شروع فصل تولید مثلی، نمونه‌هایی از ناحیه‌ی کلیتوریس و واژن اخذ و کشت داده شود تا از حضور و یا عدم حضور عوامل باکتریایی از قبیل: *سودوموناس ائروژینوزا*، *کلبسیلا* و *تایلورلا* اطمینان حاصل شود. در صورت بروز آلودگی در مادیان‌ها، دام‌ها از نظر برنامه‌های تولید مثلی کنار گذاشته می‌شوند (Barrandeguy Thiry 2012).

در این بررسی نیز مشخص شد که با افزایش تعداد زایش که توأمان با افزایش سن مادیان‌ها می‌باشد احتمال جداسازی *سودوموناس آئروژینوزا* افزایش می‌یابد. این ارگانیسم از مادیان‌های مسن جداسازی شده است. احتمالاً این مسئله می‌تواند ناشی از کاهش ایمنیت بدن در بالا رفتن سن دام‌ها باشد زیرا سن یکی از عوامل مهمی است که در برابر عوامل عفونی می‌تواند منجر به مقاومت گردد (Andonova Urumovab 2013). آلودگی فقط در بین دام‌های غیرآبستن بوده است لذا در صورت بروز آلودگی در دام‌های آبستن باعث بروز سقط جنین در بین مادیان‌ها می‌گردد (McKinnon et al. 2011, Youngquist Threlfall 2007).

در این بررسی مشخص گردید که نژاد تروبرد دارای بیشترین آلودگی بوده است. در همین راستا، در بررسی‌های به عمل آمده بر روی نژاد تروبرد نیز مشخص گردیده که احتمال آلودگی در این نژاد وجود دارد احتمالاً این آلودگی ممکن است به دلیل عدم وجود دیگر نژادها باشد (Allen et al. 2011).

کلیه‌ی دام‌های آلوده متعلق به باشگاه‌های سوارکاری بودند اما دام‌های ارجاعی به درمانگاه و یا مادیان‌هایی که به منظور بیولوژیک نگهداری می‌شدند، آلوده با این باکتری نبودند. با توجه به این که در باشگاه‌های سوارکاری احتمال انتقال باکتری به طریق فیزیکی بیشتر از سایر مراکز نگهداری اسب است، لذا کلیه‌ی مادیان‌های آلوده از باشگاه‌های سوارکار بودند. احتمال جداسازی میکروارگانیسم در مادیان‌هایی که به طور مصنوعی تلقیح شده‌اند بیشتر از مادیان‌هایی است که به طور طبیعی تلقیح داشته‌اند. این مسئله می‌تواند ناشی از آلوده بودن وسایل و لوازمات در تلقیح مصنوعی بوده و یا این که اسپرم اخذ شده از سیلمی دهنده، آلوده به این باکتری بوده باشد (Cerny et al. 2014).

از اطلاعات به دست آمده در این تحقیق، نتیجه گرفته می‌شود عفونت *سودوموناس آئروژینوزا* در بین مادیان‌های موجود در باشگاه‌های سوارکاری استان‌های تهران و البرز که از مراکز عمده‌ی پرورش و نگهداری اسب در ایران می‌باشند، وجود دارد و این گونه دام‌ها فاقد علایم بالینی تولید مثلی بوده و می‌توانند به صورت حاملین باکتری عمل نمایند. دام‌های آلوده تماماً غیرآبستن بودند. در همین راستا آلوده بودن نریان‌ها نیز محتمل می‌باشد. لذا بر اساس قوانین بین المللی (HBLB) بایستی نمونه‌های باکتریال از ۲ ناحیه‌ی گودی کلیتورال و واژینال بایستی قبل از شروع فصل تولید مثلی از کلیه‌ی نریان‌ها و مادیان‌ها اخذ گردد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از همکاری‌های معاونت محترم پژوهشی و فن‌آوری دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران سپاسگزاری می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این تحقیق در قالب پایان‌نامه دکتری عمومی توسط معاونت محترم پژوهشی و فناوری دانشگاه تهران تأمین گردیده است.

منابع

Ali. A, Derar. R, Al-Sobayil. F, Al-Hawas, & Hassanein. K. (2015). A retrospective study on clinical findings of 7300 cases (2007–2014) of barren female dromedaries. *Theriogenology*. 84. 4.452–456 . https://doi: 10.1016/j.theriogenology.2015.03.039

Allen J. L., Begg A. P., & Browning G F. (2011). Outbreak of equine endometritis caused by a genotypically identical strain of Pseudomonas aeruginosa. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation.* 23(6) 1236–1239. https://doi: 10.1177/1040638711425589

Andonova M., Urumovab V. (2013). Immune surveillance mechanisms of the skin against the stealth infection strategy of Pseudomonas aeruginosa—Review. *Comparative Immunology, Microbiology & Infectious Diseases.* 36.433–448. https://doi.org/10.1016/j.cimid.2013.03.003

Azarvandi, A. R. Khosravi, H. Shokri, M. Talebkhan Garoussi, F. Gharahgouzlou., G. Vahedi &A.Sharifzadeh. (2017). Presence and distribution of yeasts in the reproductive tract of healthy female horses. *Equine Veterinary Journal*. 49,5,614-617. https://doi:10.1111/evj.12657.

Barrandeguy M., & Thiry E. (2012). Equine coital exanthema and its potential economic implications for the equine industry. *The Veterinary Journal.* 191,1.35-40 https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2011.01.016

Blanchard, T.L., Kenney, R.M., & Timoney, P.J., (1992). Venereal disease. *Veterinary Clinics of North America*. 8, 191–203. DOI: 10.1016/s0749-0739(17)30475-3 PMID: 1315616

Cerny k L., Tom V. Little T V., Charles F. Scoggin C F., Robert J. Coleman R J., H.T. Troedsson H T., Edward L. & Squires E L. (2014). Presence of bacteria on the external genitalia of healthy stallions and its transmission to the mare at the time of breeding by live cover. *Journal of Equine Veterinary Science*. 34. 369–374. http://dx.doi.org/10.1016/j.jevs.2013.07.008

Constable P D., Hinchcliff K W., Done S H., & Grunberg W. (2017). Veterinary Medicine, A textbook ofv the diseases of cattle, horses, sheep,pigs and goats. Elsevier. USA. 11th Edition. Volume 2. Page 1960.

Kidd T. J., Gibson J S., Moss S, Greer R. M., Cobbold R. N., Wright J D., Ramsay K A., Grimwood K., & Bell S. C. (2011). Clonal complex Pseudomonas aeruginosa in horses. *Veterinary Microbiology*. 149. 508–512. https://doi:10.1016/j.vetmic.2010.11.030

Garoussi M.T. Eidi. S & Mehravaran. M. (2016). Isolation and comparative investigation of vaginal mycoflora in feline population of urban and dairy cattle herds. Medical *Mycology Journal*. 26. 22-27. https://doi.org/10.1016/j.mycmed.2015.10.013

Kelley D. E, Schnobrich M. R., Gayer S., Scoggin C. Bradcamp E., & Canisso. I F. (2019). Leukocyte Esterase Reagent Strips for Stall-Side Diagnosis of Endometritis in Mares. *Journal of Equine Veterinary Science.* 81.102672. https://doi.org/10.1016/j.jevs.2019.01.009

Lu K. G., & Morresey P. R. (2007). Infectious Diseases in Breeding Stallions: Clinical techniques in Equine practice. Elsevier. 285-290. https://doi.org/10.1053/j.ctep.2007.09.008

McKinnon A. O. Squires E. L. Vaala W. E. Varner D. D. & Varner D. D. (2011). Equine Reproduction. Wiley-Blackwell. USA. Second edition. Volume 1. P: 1275, 1974. https://doi.org/10.1111/j.1751-0813.2012.00920.x

Markey BK., Leonard FC., Archambault M., Cullinane A., & Maguire D. (2013). Clinical Veterinary Microbiology. Mosby- Elsevier. 2nd Edition. Canada. P. 279-282.

Oh Sang-Hun, Park Hee-Soo, Kim Hye-Shin, Yun Jeong-Yul, Oh Kyuma., Cho Young-Lag, & Kwak Jin-Hwan. (2017). Antimicrobial activities of LCB10-0200, a novel siderophore cephalosporin, against the clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa and other pathogens. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 50. 700–706. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2017.06.001

Pasing S. S., Aurich C., Lewinski M., Wulf M., Krüger M., & Aurich J. E. (2013). Development of the genital microflora in stallions used for artificial insemination throughout the breeding season. *Animal Reproduction Science*. 139. 53–61.
https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2013.03.009

Pickett, B.W., Voss, J.L., & Jones, R.L., (1999). Control of bacteria in stallions and their semen. *Journal of Equine Veterinary Science*. 19, 424–469. https://doi.org/10.1016/S0737-0806(99)80254-8

Rogan, Gladen. (1978). Estimating prevalence from the results of a screening test. *American Journal of Epidemiology*. 107, 71–76. https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.aje.a112510

Samper, J.C., & Tibary, A., (2006). Disease transmission in horses. *Theriogenology*. 66, 551–559.
DOI: 10.1016/j.theriogenology.2006.04.019 PM ID: 16837034

Thrusfield M. & Christley R. (2018). Veterinary Epidemiology. Wiley Blackwell. Fourth Edition. UK. P: 272-273.

Tibary, A., & Fite, C.L. (2007). In: Sellon, D.C., Long, M.T. (Eds.), Equine Infectious Diseases. Saunders Elsevier, St. Louis, pp. 84–10.

Youngquist R. S. & Threlfall W. R. (2007). Current therapy in large animal theriogenology 2. Elsevier. USA. 2nd edition. P. 21

Received: 28.08.2020
Accepted: 08.12.2020

DOI: 10.22055/IVJ.2021.249234.2301
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.7.1

ارزیابی بالینی و رادیوگرافی مفصل لگنی رانی به دنبال جراحی سر و گردن استخوان ران در سگ

مصطفی طیبی[۱]، احمد خواجه[۲]* و مهدی توانا[۲]

[۱] دانش‌آموخته دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
[۲] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۳۰ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۳۱

چکیده

در این مطالعه، ۸ قلاده سگ بالغ با دامنه سنی ۹ ماه تا دو سال که در معاینه‌ی بالینی درد در مفصل لگنی-رانی یا صدای اورتولانی داشته و بعد از اخذ رادیوگراف از دو نمای عمود بر هم، و تأیید بیماری مفصل لگنی-رانی، انتخاب شدند. مواردی که علاوه بر بیماری مفصل لگنی-رانی، مشکلات چندگانه‌ی ارتوپدی داشتند از مطالعه حذف شدند. بعد از ارزیابی لنگش و عملکرد مفصل لگنی-رانی، تحت جراحی برداشت سر و گردن استخوان ران (FHO) قرار گرفتند. بلافاصله بعد از جراحی، از دو نمای عمود بر هم از مفصل لگنی-رانی، رادیوگراف اخذ شد و جدول برنامه مدیریت دارویی و فیزیوتراپی در اختیار صاحبان بیمار قرار داده شد. مدت زمان انجام مطالعه تا چهار ماه بعد از جراحی ادامه داشت. نتایج تحقیق حاضر نشان می‌دهد که عمق استابولوم به طور معنی‌داری در ماه دوم و چهارم بعد از جراحی نسبت به رادیوگراف قبل از جراحی، کاهش نشان می‌دهد. همچنین عمق حفره‌ی استابولوم در ماه چهارم به طور معنی‌داری نسبت به ماه دوم کاهش نشان می‌دهد که اینها همه نشان از پیشرفت بازسازی استخوانی مفصل لگنی-رانی دارد ولی کاهش معنی‌داری در قطر حفره استابولوم نسبت به قبل از جراحی مشاهده نشد. در انتهای ماه چهارم، در ۸۷/۵ درصد موارد، هیچ ارتباط استخوانی بین استخوان ران و حفره‌ی استابولوم وجود نداشت و همه‌ی این موارد لنگش بسیار خفیفی را نشان می‌دادند. تنها موردی که ارتباط استخوانی را نشان می‌داد به علت برداشت ناکافی گردن استخوان ران بود که استخوان‌سازی از همین محل شروع شده بود (۱۲/۵ درصد)، که با لنگش متوسط و درد در عملکرد مفصل لگنی-رانی همراه بود. جراحی مجدد برداشت استخوان سازی¬های ناحیه به خصوص در ناحیه¬ی گردن و تروکانتر کوچک¬تر می¬تواند به بهبودی شرایط این بیمار کمک کند. تهیه‌ی رادیوگراف‌های دوره‌ای می‌تواند در تشخیص این موارد کمک کننده باشد. همچنین با گذشت زمان بعد از جراحی FHO، با افزایش بازسازی استخوانی، انجام جراحی تعویض کامل مفصل لگنی-رانی سخت‌تر می‌شود.

کلمات کلیدی: سگ، برداشت سر و گردن استخوان ران، استابولوم، رادیولوژی

*نویسنده مسئول : استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران
E-mail: ahmad_vet64@yahoo.com

مقدمه

برداشت جراحی سر و گردن استخوان ران(FHO) برای اولین بار در سال ۱۹۲۶ به منظور مدیریت درمانی آرتریت عفونی مفصل لگنی-رانی انسان به کار گرفته شد و بعداً در سال ۱۹۶۱ توسط جراحان دامپزشک انجام شد (Horan 2010, Yap et al. 2015 2005, Off and Matis). جراحی FHO یک روش نجات دهنده است که هدف آن شکل‌گیری یک مفصل فیبروزه کاذب در مفصل لگنی-رانی می‌باشد (Harper 2017, Decamp et al. 2016, Fossum 2019). با وجود این که این جراحی یک روش برگشت‌ناپذیر می‌باشد، به عنوان یک جراحی ارزشمند برای بهبود کیفیت زندگی حیوانات خانگی از طریق رفع درد مطرح می‌باشد (Harper 2017, Decamp et al. 2016, Fossum 2019).

کاربرد جراحی قطع سر و گردن استخوان ران در اختلالات مادرزادی و اکتسابی مفصل لگنی-رانی می‌باشد که شامل بیماری دژنراتیو مفصل لگنی - رانی ناشی از دیسپلازی این مفصل، بیماری نکروز آسپتیک سر و گردن استخوان ران،[2] شکستگی گردن و اپی‌فیز سر استخوان ران، شکستگی حفره‌ی استابولوم با قطعات خرد شده و دررفتگی‌های مزمن یا غیرقابل جاانداززی مفصل لگنی - رانی می‌باشد (Harper 2017, Decamp et al. 2016). دررفتگی جزئی و کامل مفصل لگنی-رانی با ضربه و اختلالات مادرزادی مثل دیسپلازی این مفصل ایجاد می‌شود. این موارد منجر به التهاب استخوان و غضروف[3] و متعاقباً کاهش دامنه‌ی حرکت این مفصل، درد، لنگش، هیپرتروفی کپسول مفصلی، آسیب عصب سیاتیک، تغییرات آناتومیک در موقعیت کشکک می‌شود (Fattahian et al. 2012). علائم بالینی و لنگش بسته به شدت ضربه، عامل اولیه، درجه‌ی التهاب مفصل، سن و وزن بیمار متفاوت است (Fattahian et al. 2012). روش‌های جراحی در مدیریت ضربه‌های حاد و بیماری های مزمن مفصلی شامل بخیه‌ی تثبیت کننده، تثبیت با روش تاگل، عبور پین داخل مفصل، ترمیم سطح پشتی کپسول، جا به جایی موقعیت برجستگی بزرگ‌تر استخوان ران، استئوتومی سه گانه لگن، برداشت سر و گردن استخوان ران و تعویض مفصل می‌باشد (Decamp et al. 2016). بیماران می‌توانند جراحی دو طرفه‌ی FHO را تحمل کنند که البته زمان مناسب اجرای جراحی دو طرفه بر اساس وزن‌گیری و قدرت حرکت حیوان حدوداً با فاصله‌ی زمانی ۸ تا ۱۰ هفته توصیه می‌شود (Rawson et al. 2005).

مشکلات معمول جراحی FHO شامل کوتاه شدن اندام حرکتی تحت عمل، آسیب به عصب سیاتیک، تشکیل استئوفیت یا رشد استخوان نا به جا، در رفتگی مفصل کشکک (به علت ناپایداری پروگزیمال استخوان ران)، آتروفی عضله و کاهش دامنه‌ی حرکت و لنگش می‌باشد (Harper 2017).

پیش‌آگهی این جراحی به عواملی وابسته است که شامل تجربه جراح، نوع عارضه، سن و وزن بیمار و زمانی که از شروع عارضه می‌گذرد (Decamp et al. 2016). با توجه به این که مطالعات زیادی در مورد جراحی FHO به چاپ رسیده است، پژوهشی میان مدت جهت ارزیابی و تغییرات رادیوگرافی مفصل لگنی-رانی و ارتباط آن با یافته‌های بالینی در دسترس نمی‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر بعد از یک برنامه‌ی دارویی و فیزیوتراپی مشخص (Sabiza et al. 2019)، ارزیابی رادیوگرافی تغییرات مفصل لگنی-رانی و معاینه‌ی لنگش و عملکرد این مفصل به مدت ۴ ماه انجام شد.

مواد و روش کار

در این مطالعه، ۸ قلاده سگ بالغ با دامنه‌ی سنی ۹ ماه تا دو سال که در معاینه‌ی بالینی درد مفصل لگنی-رانی یا

1- Excisional arthroplasty or Femoral head and neck ostectomy
2- Legg-calve-perthes
3- Osteochondritis

صدای اورتولانی[1] داشته و بعد از اخذ رادیوگراف از دو نمای ارتوگونال، و تأیید اختلال مفصل لگنی-رانی، انتخاب شدند. مواردی که علاوه بر بیماری مفصل لگنی-رانی، مشکلات چندگانه‌ی ارتوپدی داشتند در مطالعه وارد نشدند. از این تعداد، ۴ مورد دررفتگی مزمن پشتی مفصل لگنی-رانی ناشی از ضربه، دو مورد شکستگی سر استخوان ران، یک مورد دیسپلازی مفصل لگنی-رانی و یک مورد شکستگی قدیمی حفره‌ی استابولوم را به خود اختصاص می‌دادند. بعد از ارزیابی لنگش و عملکرد مفصل لگنی-رانی، تحت جراحی برداشت سر و گردن استخوان ران قرار گرفتند.

بعد از آرام‌بخشی با داروی آسپرومازین (۰/۰۵ mg/kg)، القای بیهوشی با ترکیب داروی کتامین-دیازپام (۱۰mg/kg-۰/۰۵ mg/kg) انجام و بیهوشی با یک سوم دوز القا، ادامه یافت. پس از القای بیهوشی، آنتی‌بیوتیک پیش‌گیرانه با داروی سفازولین (۲۲ mg/kg) و داروی ضد درد کتوپروفن (۲ mg/kg) تجویز شد. متعاقباً بعد از تعبیه‌ی لوله‌ی نایی و آماده‌سازی جراحی به روش آسپتیک، بیمار به پهلو خوابانده شد به طوری که اندام حرکتی درگیر، بالا قرار گرفت. از رهیافت برش جلویی-جانبی، دسترسی به مفصل لگنی-رانی انجام شد. در این رهیافت، مرکز برش پوست روی برجستگی بزرگ‌تر استخوان ران می‌باشد و به لبه‌ی جلویی بدنه‌ی استخوان ران کشیده می‌شود. این برش از پایین به یک سوم بالایی استخوان ران و از بالا با یک قوس ملایم به خط وسط بدن نزدیک می‌شود. لبه‌های پوست کندکاری شده و کنار زده شد. یک برش در لایه‌ی سطحی "فاسیا لاتا" در امتداد لبه‌ی جلویی عضله‌ی دوسر رانی، زده شد. عضله‌ی تنسور فاسیا لاتا و "فاسیا لاتا" متصل به آن به سمت جلو کشانیده شده و عضله‌ی دوسر رانی به سمت عقب کشانیده می‌شود. کندکاری و جداسازی در امتداد گردن استخوان ران با نوک انگشت انجام می‌شود. این کار اجازه‌ی دیدن یک محیط مثلثی شامل عضلات گلوتئال میانی و عمقی در ناحیه‌ی پشتی، عضله‌ی وستوس جانبی در جانب و عضله‌ی مستقیم رانی در سطح میانی فراهم می‌کند (Piermattei and Johnson 2004). با حرکت استخوان ران به سمت داخل و جانب و باز و بسته کردن مفاصل زانو، موقعیت مفصل لگنی-رانی مشخص شد. در موارد دررفتگی سر استخوان ران به علت پارگی رباط گرد، و کپسول مفصلی، با مانور مذکور، سر استخوان ران به راحتی در معرض قرار گرفت. در موارد شکستگی سر استخوان ران، بعد از برش کپسول مفصلی، داخل مفصل جستجو شده و سر استخوان جدا شده متصل به رباط گرد با بریدن رباط گرد از محل حفره استابولوم خارج شد. نهایتاً سر و گردن استخوان ران با یک زاویه‌ی ۴۵ درجه با مته و مالت با حفظ برجستگی کوچک‌تر استخوان ران جدا شد. باقی‌مانده‌های احتمالی گردن استخوان ران با رونجور برداشته و بعد از جستجوی نهایی حفره استابولوم و اطمینان از خالی بودن این مفصل و شستشوی ناحیه با محلول نرمال سالین، باقیمانده‌های کپسول مفصلی به هم دوخته شد. جهت جلوگیری از جا به جایی غیرطبیعی استخوان ران به سمت عقبی-پشتی، طی یک تا دو لایه، تاندون عضلات گلوتئال به عضله‌ی مستقیم رانی با نخ بخیه جذب شونده متصل شد. لایه‌ی عضلات کندکاری شده و زیرپوست و پوست به روش استاندارد بسته شد (Off and matis 2010). بلافاصله بعد از جراحی، از دو نمای عمود برهم از مفصل لگنی-رانی، رادیوگراف اخذ شد و جدول برنامه‌ی مدیریت دارویی و فیزیوتراپی در اختیار صاحبان بیمار قرار داده شد، که در این جدول لیستی از داروهای آنتی‌بیوتیکی، ضد التهاب و ضد دردها قرار دارد که باید در روزهای بعد از جراحی تکرار شوند. همچنین برنامه‌ی چهار هفته‌ای شامل برنامه‌های مراقبت و ورزش‌های مناسب برای بهتر شدن نتیجه‌ی جراحی در آن گنجانده شده بود (Sabiza et al. 2019).

1- Ortholani sign

مدت زمان انجام مطالعه تا چهار ماه بعد از جراحی ادامه داشت به طوری که در انتهای ماه اول، انتهای ماه دوم و انتهای ماه چهارم ارزیابی‌های بالینی شامل امتیازدهی به لنگش و عملکرد مفصل لگنی-رانی انجام گردید و در انتهای ماه دوم و انتهای ماه چهارم، رادیوگراف در دو نمای ارتوگونال جهت بررسی رادیوگرافیکی مفصل لگنی-رانی اخذ شد. دامنه‌ی نمره‌دهی لنگش بین صفر تا پنج بود به طوری که مواردی که هیچ‌گونه لنگشی نشان نمی‌دادند؛ درجه‌ی صفر، لنگش ملایم؛ درجه‌ی یک، لنگش آشکار همراه با وزن‌گیری؛ درجه‌ی دو، لنگش شدید همراه با وزن-گیری؛ درجه‌ی سه، لنگش بدون وزن‌گیری به صورت متناوب؛ درجه‌ی چهار و لنگش بدون وزن‌گیری به صورت پیوسته؛ درجه‌ی پنج را به خود اختصاص می‌داند.

دامنه‌ی نمره‌دهی عملکرد مفصل لگنی-رانی هم بین صفر تا چهار بود. مواردی که طی دستکاری این مفصل دردی را نشان نمی‌داد و دامنه‌ی حرکتی طبیعی داشت؛ نمره‌ی صفر را به خود اختصاص می‌داد. نمره‌ی یک به مواردی تعلق می‌گرفت که یکی از موارد ذیل را داشته باشد؛ الف- کاهش دامنه‌ی حرکت، ب- وجود درد در خم کردن مفصل لگنی-رانی، ج- وجود درد در باز کردن مفصل لگنی-رانی و د- وجود درد در فاصله دادن مفصل لگنی-رانی از بدن. نمره‌ی دو به مواردی تعلق می‌گرفت که دو تا از علامت‌های مذکور، نمره‌ی سه؛ سه تا از علائم مذکور و نمره‌ی چهار؛ چهار تا از علامت‌های مذکور را نشان دهد (Impellizer et al. 2000, Fattahian et al. 2012).

به منظور ارزیابی رادیوگرافی، عمق و قطر حفره‌ی استابولوم در زمان قبل از جراحی و در ماه‌های دوم و چهارم بعد از جراحی، از دو نمای پشتی-شکمی و جانبی اندازه-گیری شد. تغییرات رادیولوژی بازسازی استخوانی در حفره‌ی استابولوم و استخوان ران، تشکیل استخوان‌سازی جدید، موقعیت ران نسبت به حفره‌ی استابولوم و اتصال استخوان ران به حفره‌ی استابولوم ارزیابی شد. وجود بازسازی استخوانی؛ نمره‌ی صفر و عدم وجود بازسازی استخوانی؛ عدد یک، عدم تشکیل استخوان‌سازی جدید؛ نمره‌ی صفر و تشکیل استخوان‌سازی جدید؛ عدد یک، موقعیت طبیعی استخوان ران نسبت به حفره‌ی استابولوم؛ نمره‌ی صفر، مهاجرت به سمت بالا و کنار؛ عدد یک، عدم اتصال استخوان ران به حفره‌ی استابولوم؛ نمره‌ی صفر و اتصال استخوان ران به حفره‌ی استابولوم؛ عدد یک را به خود اختصاص داد.

داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار IBM SPSS ویرایش ۲۲ (SPSS inc ،USA) آنالیز شد. برای آنالیز داده‌های پارامتریک از آزمون paired sample t-test و برای داده‌های غیرپارامتریک از آزمون آماری wilcoxan signed-rank با سطح معنی‌داری ۰/۰۵ استفاده شد. نتایج به صورت میانه (مینیمم-ماکزیمم) و میانگین±انحراف معیار ارائه گردید.

نتایج

تمامی بیماران در همان هفته‌ی اول بعد از جراحی شروع به وزن‌گیری کرده و بدون عوارض جانبی زخم، در روز ۱۴ بعد از جراحی بخیه‌ها کشیده شد. به جز یک مورد که گردن استخوان ران کامل برداشت نشده بود و در برخورد با حفره‌ی استابولوم درد نشان می‌داد، بقیه‌ی موارد در انتهای ماه چهارم احساس راحتی داشته و دردی احساس نمی‌کردند و لنگش بسیار خفیفی در قدم نشان می‌دادند. میانه و دامنه‌ی نمره‌دهی لنگش در انتهای ماه چهارم بعد از جراحی (۱-۳)۱، به طور معنی‌داری با وضعیت بیمار قبل از جراحی (۴-۵)۵ و در انتهای ماه‌های اول (۱-۳)۳ و دوم (۱-۳)۲ بعد از جراحی تفاوت داشت. عملکرد مفصل لگنی-رانی در هر کدام از ماه‌های مورد ارزیابی بعد از جراحی نسبت به قبل تفاوت معنی‌داری نشان می‌داد. البته نمره‌ی عملکرد این مفصل در انتهای ماه چهارم (۱-۳)۱ تفاوت معنی‌داری با انتهای ماه دوم (۱-۳)۱ نداشت (p=۰/۰۷) (Table 1). در بررسی عملکرد مفصل لگنی-رانی در انتهای ماه‌های دوم و چهارم عمدتاً در حرکت و کشیدن اندام به سمت بیرون مفصل لگنی – رانی درد مشاهده شد.

Table 1: Lameness test (LT) and hip joint function (HF) score in the before surgery and months after surgery

Time Cases	Index	Before surgery	End of the first month after surgery	End of the second month after surgery	End of the fourth month after surgery
①	LT	4	3	1	1
	HF	4	2	1	1
②	LT	5	3	2	1
	HF	4	2	1	1
③	LT	5	3	2	1
	HF	4	2	1	1
④	LT	5	3	3	3
	HF	4	3	3	3
⑤	LT	5	3	2	1
	HF	4	2	1	1
⑥	LT	5	3	2	1
	HF	4	2	1	1
⑦	LT	5	1	1	1
	HF	4	2	1	1
⑧	LT	5	1	1	1
	HF	4	2	1	1

In Lameness test (LT), score 0:walk normally, score 1: slight lameness, score 2: Obvious weight-bearing lameness, score 3:severe weight-bearing lameness, score 4:intermittent non-weight-bearing lameness, score 5:continuous non- weight-bearing lameness. In hip joint function test (HF), scoe 0: No signs of pain during hip joint manipulation and Normal range of motion. Score 1: One of the following abnormalities: “Signs of pain during abduction of the hip joint; Signs of pain during flexion of the hip joint; Signs of pain during extension of the hip joint; Reduced range of motion”.
Score 2: two of the abnormalities listed for a score of 1. Score 3: Three of the abnormalities listed for a score of 1. Score 4: All of the abnormalities listed for a score of 1.

مقایسه‌ی تغییرات رادیولوژی در انتهای ماه چهارم با انتهای ماه دوم بیانگر این بود که (Table 2):

۱- بازسازی استخوان در انتهای ماه چهارم به طور معنی‌داری نسبت به ماه دوم پیشرفت نشان می‌داد (p=۰/۰۲۵).

۲- استخوان‌سازی جدید در محل جراحی در انتهای ماه چهارم به طور معنی‌داری نسبت به انتهای ماه دوم کاهش نشان می‌داد (p=۰/۰۴۶).

۳- موقعیت استخوان ران نسبت به حفره‌ی استابولوم در انتهای ماه چهارم تفاوت معنی‌داری با انتهای ماه چهارم نداشت (p=۱).

۴- با وجود این که در یکی از موارد اتصال استخوانی بین استخوان ران و حفره‌ی استابولوم مشاهده می‌شد ولی از لحاظ آماری اتصال استخوانی معنی‌داری در انتهای ماه چهارم در مقایسه با انتهای ماه دوم دیده نشد (p=۰/۰۳۱).

داده‌های آماری ارزیابی عمق و قطر حفره‌ی استابولوم در زمان قبل از جراحی و ماه دوم و چهارم بعد از جراحی بیانگر این بود که:

میانگین عمق حفره‌ی استابولوم در انتهای ماه دوم (۳/۷۵ ± ۹/۷۷) و در ماه چهارم (۳/۹۵ ± 7/70) به طور معنی‌داری نسبت به قبل از جراحی (۴/۶ ± ۱۳/۲۱) کاهش نشان می‌دهد (Figure 1). همچنین تغییرات عمق حفره‌ی استابولوم

در انتهای ماه چهارم نسبت به انتهای ماه دوم کاهش معنی‌داری را نشان می‌دهد. میانگین قطر حفره‌ی استابولوم بر خلاف میانگین عمق این حفره در انتهای ماه‌های دوم (۸/۵۶ ± ۲۲/۵۱) و چهارم (۸/۷۰ ± ۲۱/۸۵) بعد از جراحی نسبت به قبل از جراحی (۸/۵۹ ± ۲۲/۶۱) تغییر معنی‌داری نشان نمی‌دهد (Figure 2).

Table 2- Comparison of radiological changes in the acetabular cavity and femur including acetabulum and femur remodeling (AFR), new bone formation (NBF), position of the femur to the acetabulum (PFA) and femur attachment to the acetabulum (FAA) at two and four months after surgery

Time Cases	month	AFR	NBF	PFA	FAA
1	2	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
2	2	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
3	2	1	1	0	0
	4	0	0	0	0
4	2	1	1	0	1
	4	0	1	0	1
5	2	0	1	0	0
	4	0	0	0	0
6	2	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
7	2	1	0	0	0
	4	0	0	0	0
8	2	1	1	0	0
	4	0	0	0	0

Existence of bone remodeling; zero score and no bone remodeling; one score, No new bone formation; zero score and new bone formation; one score, Normal position of the femur relative to the acetabular cavity; zero score, migration up and side; one score, no attachment of the femur to the acetabular cavity; zero score and attachment of the femur to the acetabular cavity; Assigned the one score.

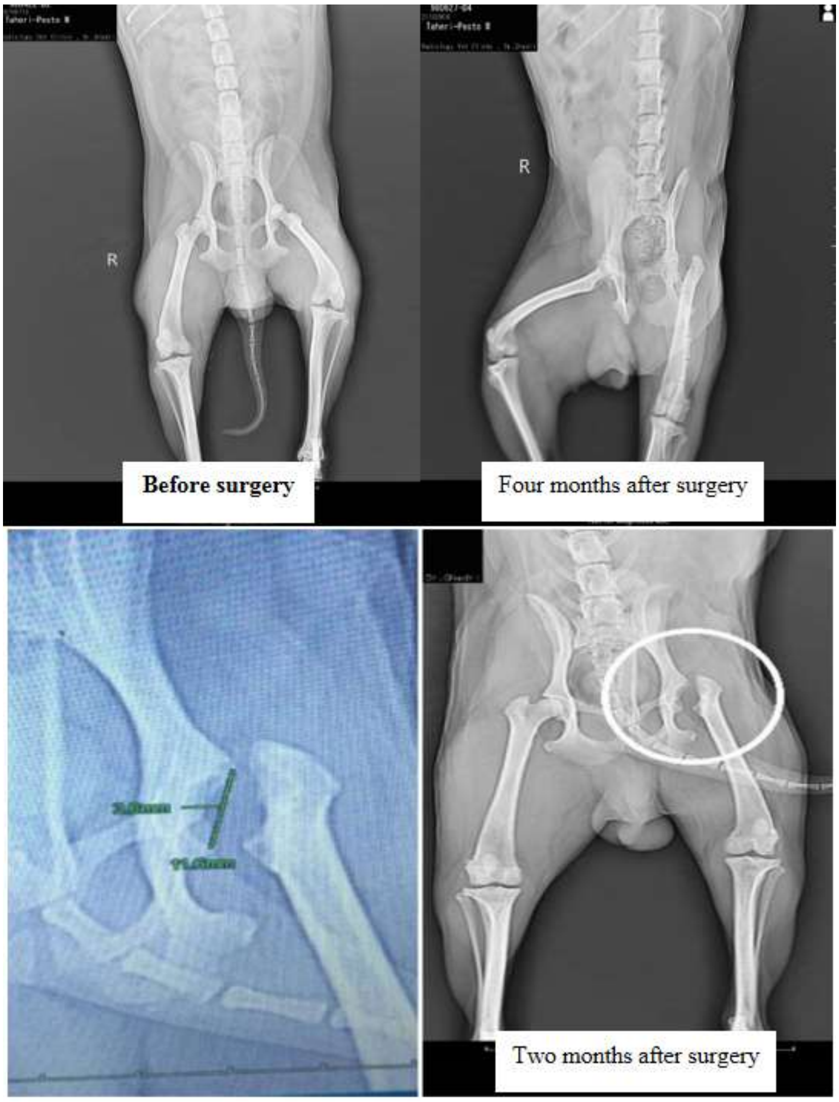

Figure 1. ventro-dorsal view of the hip joint corresponding to before surgery and two four months after femoral head and neck ostectomy.

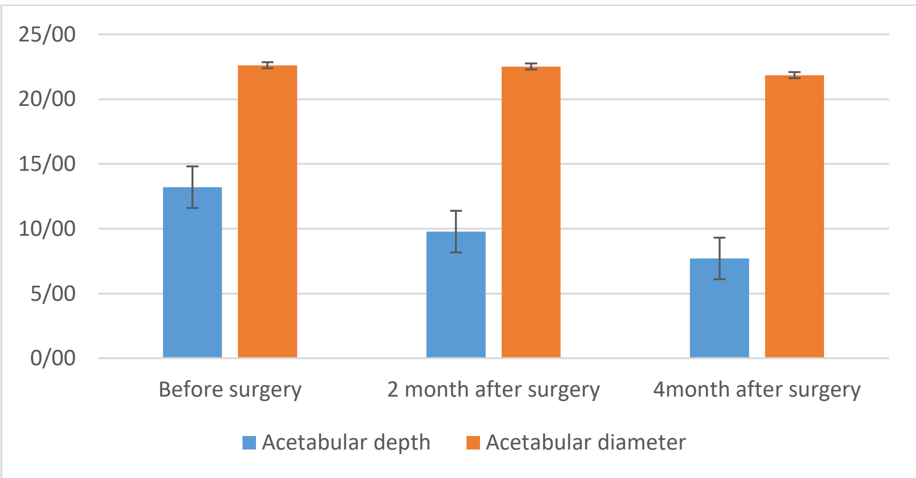

Figure 2. Comparision of mean changes in acetabular depth and diameter before and after surgery

بحث

جراحی قطع سر و گردن استخوان ران در مشکلات مفصل لگنی–رانی شامل: شکستگی‌های خرد شده حفره‌ی استابولوم که قابل ترمیم نباشد، در رفتگی مفصل لگنی – رانی، شکستگی سر و گردن استخوان ران، دیسپلازی مفصل لگنی–رانی، نکروز غیرعفونی سر و گردن استخوان ران و آرتروز مفصل به عنوان یک روش آسان، کم هزینه و آخرین راه نجات‌دهنده مطرح می‌باشد (Decamp et al. 2016, Sabiza et al. 2019, Fattahian et al. 2012, Horan 2005). هدف از جراحی FHO تشکیل یک بافت فیبروزه با حذف ارتباط استخوانی بین سر استخوان ران و حفره‌ی استابولوم جهت رفع درد و بهبود عملکرد و راحتی بیمار می‌باشد (Off and Matis 2010, Fattahian et al. 2012).

علی‌رغم بهبود نمره‌ی لنگش و عملکرد مفصل لگنی – رانی در انتهای ماه چهارم نسبت به انتهای ماه دوم بعد از جراحی، در ۸۷/۵ درصد موارد لنگش بسیار خفیف دیده می‌شد. همچنین عملکرد مفصل لگنی–رانی به طور مناسبی نسبت به انتهای ماه دوم و قبل از جراحی بهبود نشان می‌داد. لنگش بسیار خفیف و وجود درد در حالت دور شدن مفصل لگنی–رانی از بدن در انتهای ماه چهارم با نتایج سایر تحقیق‌های بلند مدت سازگار است که می‌تواند به دلیل تشکیل بافت پیوندی و کشیده شدن آن در ارتباط با پریستیوم ناحیه‌ی هیپ باشد (Off and Matis 2010, Yap et al. 2015).

در این مطالعه بر خلاف نتایج آف و ماتیس (2010)، بین یافته‌های رادیولوژی و لنگش یک هماهنگی طی دوره‌ی چهار ماهه مشاهده شد. در انتهای ماه چهارم، در ۸۷/۵ درصد موارد، هیچ ارتباط استخوانی بین استخوان ران و حفره‌ی استابولوم وجود نداشت و همه‌ی این موارد لنگش بسیار خفیفی را نشان می‌دادند. تنها موردی که ارتباط استخوانی را نشان می‌داد به علت برداشت ناکافی گردن استخوان ران بود که استخوان‌سازی از همین محل شروع شده بود (۱۲/۵ درصد)، که با لنگش متوسط و درد در عملکرد مفصل لگنی–رانی همراه بود. جراحی مجدد برداشت استخوان سازی‌های ناحیه به خصوص در ناحیه‌ی گردن و تروکانتر کوچک‌تر می‌تواند به بهبودی شرایط این بیمار کمک کند. تهیه‌ی رادیوگراف‌های دوره‌ای می‌تواند در تشخیص این موارد کمک کننده باشد (Off and Matis 2010, Sabiza et al. 2019).

در این پژوهش، ۵۰ درصد موارد جراحی قطع سر گردن استخوان ران به علت در رفتگی مفصل لگنی –رانی می‌باشد. به علت مزمن بودن در رفتگی و یا آماده نبودن یا هزینه‌ی تکنیک‌های جا اندازی و تثبیت مثل تاگل پین، تصمیم به جراحی FHO گرفته شد (Decamp et al. 2016, Sabiza et al. 2019, Naylor 2005). هر چند در موارد حاد در رفتگی سر استخوان، انجام صحیح تکنیک تاگل پین می‌تواند به طور کامل لنگش را بر طرف و درد را از عملکرد مفصل لگنی–رانی بزداید، ولی جراحی FHO به عنوان یک جایگزین مناسب با کم‌ترین لنگش و بهبود در عملکرد مفصل لگنی–رانی می‌تواند مطرح باشد. در تحقیق حاضر تأیید می‌کند که در انتهای پایش ۴ ماهه به سختی بتوان لنگش را در قدم زدن و دویدن حیوان تشخیص داد.

معمول‌ترین مشکلات جراحی FHO شامل کوتاهی اندام حرکتی، آسیب به عصب سیاتیک، (به علت ناپایداری قسمت فوقانی استخوان ران)، آتروفی عضله، کاهش دامنه‌ی حرکت، لنگش، محدودیت‌های بیومکانیک ناشی از یک مفصل کاذب ضعیف، استفاده ضعیف از اندام حرکتی به علت استخون تشکیل شده بین استخوان ران و حفره‌ی استابولوم به علت برداشت ناکافی استخوان و شکستگی قسمت فوقانی استخوان ران به خصوص در حیوانات مبتلا به استوپروز می‌باشد (Decamp et al. 2016). در تحقیق حاضر یک مورد لنگش با درجه‌ی لنگش متوسط هماهنگ با یافته‌ی رادیولوژی ارتباط ران با حفره‌ی استابولوم گزارش شد. در مورد بهبود عملکرد مفصل لگنی–رانی و جلوگیری از گشاد راه رفتن (پا باز) حیوان ناشی از جابجایی استخوان ران به سمت بیرون و عقبی پشتی، می‌توان یک یا دو بخیه

با نخ بخیه دیر جذب ضخیم بین تاندون عضله‌ی گلوتئال و محل اتصال عضله‌ی رکتوس رانی قرار داده شد و یا می‌توان از فلپ عضلانی استفاده کرد (Off and Matis 2010, Sabiza et al. 2019).

در این مطالعه به دلیل برنامه‌ی مدون محدودیت و فیزیوتراپی درصد رضایتمندی قابل توجهی از جراحی FHO (۸۷/۵ درصد) نسبت به مطالعات قبلی (۵۸ درصد) مشاهده می‌شود و همچنین آتروفی عضلانی ملایم فقط در یک مورد دیده می‌شد که به دلیل درد ناشی تزاید استخوانی و تماس آن با حفره‌ی استابولوم (Off and Matis 2010, Sabiza et al. 2019).

با وجود این که تعویض کامل مفصل لگنی-رانی (THR) درمان انتخابی برای درمان مشکلات دردناک و کاهنده‌ی عملکرد این مفصل مطرح می‌باشد ولی همچنان جراحی FHO به عنوان یک جایگزین اصلی THR مطرح می‌باشد (Decamp et al. 2016, Jankovits et al. 2012).

در مواردی که لبه‌ی پشتی حفره‌ی استابولوم، در بعضی از موارد هیپ دیسپلازی؛ به شدت صاف و فرسایش پیدا کرده است، کارگذاری کاپ در حفره‌ی استابولوم سخت می‌باشد. همچنین در مشکلات عصبی و موارد عفونی نمی‌توان از THR استفاده کرد و همچنان جراحی FHNE به عنوان گزینه‌ی جراحی مطرح می‌باشد (Jankovits et al. 2012). انجام جراحی THR در موارد برداشت سر و گردن استخوان ران به علت بازسازی استخوانی و جابجایی پشتی تثبیت شده قسمت فوقانی استخوان ران، به علت سختی کار توصیه نمی‌شود (Decamp et al. 2016).

نتایج تحقیق حاضر نیز نشان می‌دهد که عمق استابولوم به طور معنی‌داری در ماه دوم و چهارم بعد از جراحی نسبت به رادیوگراف قبل از جراحی، کاهش نشان می‌دهد. همچنین عمق حفره‌ی استابولوم در ماه چهارم به طور معنی‌داری نسبت به ماه دوم کاهش نشان می‌دهد که اینها همه نشان از پیشرفت بازسازی استخوانی ناحیه‌ی ران دارد ولی کاهش معنی‌داری در قطر حفره‌ی استابولوم نسبت به قبل جراحی مشاهده نشد. هر چه تعداد ماه‌های بعد از جراحی FHO افزایش پیدا کند، با افزایش بازسازی استخوانی، انجام جراحی THR سخت‌تر می‌شود. ولی با توجه به محدودیت انجام THR قبل از بسته شدن صفحات رشد، همچنان جراحی FHO به عنوان مقدمه‌ی THR در سنین پایین مطرح است و برای جاسازی صحیح حفره‌ی استابولوم می‌توان از حفره‌ی استابولوم سمت مقابل اندازه-گیری انجام شود (Decamp et al. 2016, Jankovits et al. 2012).

تهیه‌ی رادیوگراف‌های سریالی در ماه‌های بعد از جراحی می‌تواند در ارزیابی موارد لنگش‌دار بعد از جراحی FHO کمک کننده باشد. همچنین تا چهار ماه بعد از جراحی FHO می‌توان حدود حفره‌ی استابولوم را مشاهده و برای جراحی جایگزینی مفصل حدود را مشخص کرد ولی پیشرفت بازسازی استخوانی در سه سطح حفره‌ی استابولوم، قسمت پروگزیمال استخوان ران و وجود بافت فیبروزه بین این دو ناحیه، انجام جراحی جایگزینی مفصل با وقفه را سخت‌تر می‌کند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از دانشگاه آزاد شوشتر، درمانگاه دامپزشکی روبال و همراهی صاحبان حیوانات جهت مشارکت در این طرح، کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این تحقیق با همکاری نویسندگان مقاله تأمین گردیده است.

منابع

Decamp, C., & Schaefer, S. (2016). *Brinker, Piermattei and Flo's handbook of small animal orthopedics and fracture repair.* 5th ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Health Sciences, Elsevier Health Sciences.Pp:467-517.

Fattahian, H., Mohyeddin, H., Hoseinzadeh, A., Akbarein, H., & Moridpour, R. (2012). Excision Arthroplasty of the Hip Joint in Dogs: The Role of Age, Weight, Degenerative Joint Disease on the Outcome. *Kafkas Univ Ve t Fak Derg*, 18, 431-436.

Fossum, T.W. (2012) *Diseases of the joints. Small animal surgery.* 4th ed. St. Louis, Missouri, USA: Elsevier Mosby, Pp:1305-1316.

Harper, T. A. (2017). Femoral head and neck excision. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*, 47(4), 885-897.

Horan, F. T. (2005). Robert Jones, Gathorne Girdlestone and excision arthroplasty of the hip. *The Journal of bone and joint surgery.* British volume, 87(1), 104-106.

Impellizeri, J. A., Tetrick, M. A., & Muir, P. (2000). Effect of weight reduction on clinical signs of lameness in dogs with hip osteoarthritis. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 216(7), 1089-1091.

Jankovits, D. A., Liska, W. D., & Kalis, R. H. (2012). Treatment of avascular necrosis of the femoral head in small dogs with micro total hip replacement. *Veterinary Surgery*, 41(1), 143-147.

Naylor, A. D. (2013). Femoral head and neck excision arthroplasty in a Leopard tortoise (Stigmochelys pardalis). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine*, 44(4), 982-989.

Off, W., & Matis, U. (2010). Excision arthroplasty of the hip joint in dogs and cats. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology*, 23(05), 297-305.

Piermattei, D. L., & Johnson, K. A. (2004). *An atlas of surgical approaches to the bones and joints of the dog and cat* (p. 416). Philadelphia: Saunders. Pp:290-321.

Rawson, E. A., Aronsohn, M. G., & Burk, R. L. (2005). Simultaneous bilateral femoral head and neck ostectomy for the treatment of canine hip dysplasia. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 41(3), 166-170.

Sabiza, S., Ronagh, A., & Khajeh, A. (2019). Effective Medical Management and Physiotherapy Program of Femoral Head and Neck Ostectomy (FHO) in 24 Dogs and Cats; Clinical Report. *Iranian Journal of Veterinary Surgery*, *14*(1), 78-84.

Yap, F. W., Dunn, A. L., Garcia-Fernandez, P. M., Brown, G., Allan, R. M., & Calvo, I. (2015). Femoral head and neck excision in cats: medium-to long-term functional outcome in 18 cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *17*(8), 704-710.

Received: 20.09.2020
Accepted: 21.05.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2020.223000.2240
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.8.2

اثر عصاره‌ی هیدروالکلی آویشن زوفایی بر بلوغ آزمایشگاهی اووسیت گوسفند

اسماعیل قبادی[۱]، علی‌اصغر مقدم[۲*]، طیبه محمدی[۳] و پیمان رحیمی‌فیلی[۴]

[۱] دانش آموخته دکترای دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[۲] دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[۳] استادیار گروه علوم پایه و پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران
[۴] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

دریافت: ۱۳۹۸/۱۲/۲۶ پذیرش: ۱۳۹۹/۳/۱۱

چکیده

بلوغ اووسیت و متعاقباً لقاح آن در آزمایشگاه از نقطه نظر تولید رویان حائز اهمیت زیادی است. با توجه به این که آنتی‌اکسیدان‌ها تخریب کننده‌ی رادیکال‌های آزاد هستند، می‌توانند بلوغ آزمایشگاهی اووسیت و کیفیت جنین را بهبود دهند. بنابراین، هدف از مطالعه‌ی حاضر ارزیابی اثرات عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آویشن زوفایی روی بلوغ اووسیت گوسفند در آزمایشگاه است. مجموعه‌ی اووسیت-کومولوس استحصال شده از تخمدان میش به مدت ۲۴ ساعت در محیط بلوغ آزمایشگاهی HTCM غنی شده با FSH، LH ، FBS، سیستئامین، پیرووات سدیم و آنتی‌بیوتیک (گروه کنترل) و در محیط بلوغ آزمایشگاهی فوق بدون سیستئامین ولی غنی شده یا غلظت‌های مختلف عصاره هیدروالکلی آویشن زوفایی (۱ µg/ml: گروه ۱، ۱۰ µg/ml: گروه ۲، ۵۰ µg/ml: گروه ۳) کشت داده شدند. بلوغ آزمایشگاهی و آغاز مجدد میوز در تمام گروه‌های مورد آزمایش با تعیین میزان گسترش سلول‌های کومولوس و تعداد اووسیت‌های در مرحله متافاز تقسیم میوز II بررسی شدند. نتایج حاصل نشان داد که اووسیت‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ از نظر میزان گسترش کل سلول‌های کومولوس مشابه گروه کنترل بودند در حالی که گروه تیمار شده با غلظت ۱ از این نظر کمتر از گروه کنترل بودند. از نظر بلوغ هسته، گروه تیمار شده با غلظت ۵۰ مشابه گروه کنترل بود در حالی که گروه‌های تیمار شده با غلظت‌های ۱ و۱۰ به طور معنی‌دار از گروه کنترل کمتر بودند. نتایج به دست آمده نشان داد که عصاره‌ی آویشن زوفایی به صورت وابسته به مقدار، اثر مثبتی روی بلوغ اووسیت گوسفند دارد. از این رو با افزایش غلظت عصاره میزان بلوغ اووسیت افزایش یافت که می‌تواند به سبب ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در آن باشد.

کلمات کلیدی: بلوغ آزمایشگاهی، اووسیت، گوسفند، آویشن زوفایی

مقدمه

استفاده از فن‌آوری‌های تولید مثل در پرورش دام، سبب افزایش بهره‌وری خواهد شد. در سال‌های اخیر پیشرفت-های زیادی در فن‌آوری‌های تولیدمثل دام رخ داده است و نشخوارکنندگان کوچک مدل خوبی برای توسعه و تکمیل این فن‌آوری‌ها می‌باشند. بلوغ آزمایشگاهی اووسیت، لقاح آزمایشگاهی، شبیه‌سازی، تزریق داخل سیتوپلاسمی اسپرم،

*نویسنده مسئول : علی اصغر مقدم، دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران

E-mail: moghaddam@razi.ac.ir

تولید جنین و انتقال آن به داخل رحم از جمله فن‌آوری‌های رایج در تحقیقات کنونی می‌باشند که موفقیت آن‌ها به میزان موفقیت بلوغ آزمایشگاهی اووسیت بستگی دارد (Wani et al. 1999). بلوغ آزمایشگاهی اووسیت یکی از راه‌های نوین برای به دست آوردن تخمک بالغ است. لزوم بالغ‌سازی تخمک‌ها در محیط آزمایشگاه به منظور کاهش مشکلات ناشی از سوپراوولاسیون در سال‌های اخیر مورد توجه متخصصین لقاح برون‌تنی قرار گرفته است (Hreinsson et al. 2003). تکنولوژی جدید نسبت به تکنیک باروری آزمایشگاهی سنتی که در گذشته انجام می‌شد، مزایای زیادی ازجمله کاهش هزینه‌های مصرف گنادوتروپین‌ها و آنالوگ‌های هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین‌ها و حذف سندرم تحریک بیش از حد تخمدان را دارد (Jurema and Ogueira 2006). بهبود و افزایش کارایی بلوغ تخمک در آزمایشگاه به طور گسترده‌ای موجب پیشرفت در تکنیک‌های جدید تولید مثل شده است. بلوغ و لقاح برون‌تنی تخمک‌ها، در دام‌ها به منظور افزایش تولید و پیشرفت در تحقیقات علمی پایه، انتقال هسته، حذف ژن‌های معیوب و جایگزینی ژن‌های مطلوب، اضافه کردن ژن‌های مقاوم در برابر بیماری‌های خاص، ایجاد حیوانات ترارایخت و ایجاد کلون به کمک مهندسی ژنتیک صورت می‌گیرد (Gordon 2005). از مزایای دیگر آن، تولید جنین ارزان و فراوان است (Nadi et al. 2002).

شرایط کشت اووسیت در طول بلوغ نقش مهمی در میزان و کیفیت تولید جنین بازی می‌کند. محیط‌های کشت اووسیت حاوی مواد شیمیایی، اسیدآمینه‌های مختلف، آنتی-بیوتیک‌ها، مواد بیولوژیکی و پروتئینی می‌باشند. تا کنون تغییرات متعددی در محیط کشت اووسیت صورت گرفته است و محققین اثر مواد مختلف را در محیط بلوغ مطالعه نموده‌اند. به نظر می‌رسد تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و حذف آن‌ها از محیط، فاکتور مهمی در جهت کسب توانایی لقاح آزمایشگاهی باشد. موجودات زنده محافظت‌کننده‌های طبیعی به نام آنتی‌اکسیدان دارند که اثرات منفی رادیکال‌های آزاد اکسیژن را مهار می‌کنند. در طول کشت اووسیت و جنین در آزمایشگاه سطوح آنتی-اکسیدان‌ها نسبت به داخل بدن پایین‌تر است، زیرا اووسیت‌ها از بدن دهنده جدا شدند و از آنتی‌اکسیدان‌های مادری محروم‌اند. دستکاری تخمک‌ها و جنین‌ها در طول بلوغ آزمایشگاهی و لقاح آزمایشگاهی، خطر مواجه شدن با سطوح بالایی از نمونه‌های فعال ROS را به همراه دارد، به گونه‌ای که آسپیره کردن تخمک، لقاح و کشت جنین در تراکم بالای اکسیژن می‌تواند مقادیر بالاتری از ROS را تولید کند. لذا در این شرایط ممکن است مکانیسم‌های دفاعی اووسیت برای حفاظت از ساختار ظریف آن کافی نباشد. به طوری که مشخص شده است مقادیر بالای ROS در مرحله‌ی تسهیم اولیه‌ی جنین‌های موش در آزمایشگاه در مقایسه با داخل بدن می‌تواند با توقف تکوین اولیه جنین ارتباط داشته باشد (Nasr-Esfahani 1991).

برای حفظ اووسیت‌ها و رویان‌های کشت شده از استرس اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان‌های مختلفی را به محیط کشت اضافه می‌کنند (Sovernigo et al. 2017). مطالعات متعددی نشان داده‌اند که عصاره‌های گیاهی دارای اثرات آنتی‌اکسیداتیو در محیط آزمایشگاه هستند و اضافه کردن عصاره‌ی برخی گیاهان باعث بهبود بلوغ آزمایشگاهی اووسیت می‌شود (Alpinar et al. 2009).

آویشن زوفایی از خانواده‌ی نعناعیان Labiaceae با نام علمی *Thymbra spicata L.* و نام محلی ازبوئه (هزوه) از گیاهان بومی خودرو غرب ایران و نواحی جنوب شرقی آنتالیا و نواحی مدیترانه‌ای است. از زمان‌های قدیم استفاده از این گیاه به عنوان ضدعفونی کننده دستگاه تنفس، تونیک، برطرف کننده اسپاسم‌های عضلانی، خلط‌آور، دفع کننده انگل‌ها و اشتهاآور در بین مردم معمول بوده است (Ghasemipirbalouti et al. 2009, Akin et al. 2010). این گیاه منبعی غنی از فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ایزوپرنوئیدها همچون تیمول و کارواکرول است (Wojdyto 2007). تحقیقات نشان داده است که گیاهان خانواده‌ی نعناعیان حاوی مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولی هستند (Menne et al. 2004). به طوری که

اثر ضدسرطانی گیاه آویشن زوفایی را ناشی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در آن دانسته‌اند (Sabzali et al. 2014). از این رو هدف مطالعه‌ی حاضر، بررسی اثر عصاره‌ی هیدروالکلی این گیاه روی بلوغ اووسیت گوسفند در آزمایشگاه می‌باشد.

مواد و روش کار

مطالعه‌ی حاضر از نوع تجربی بوده و طی مراحل زیر انجام گرفت.

عصاره‌گیری

عصاره‌گیری به روش خیساندن (قرار دادن مواد گیاهی درشت یا پودر **در** یک ظرف سربسته همراه با حلال **در** دمای اتاق برای بازه زمانی حداقلی سه روز همراه با هم زدن منظم) انجام شد و در نهایت، عصاره‌ی خشک شده تا زمان استفاده درون یخچال نگهداری شد. روزانه در زمان تیمار، هر کدام از غلظت‌های مورد نیاز (۱، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر) از استوک عصاره تهیه می‌شد.

آماده سازی محیط‌های استخراج، شستشو و بلوغ اووسیت

محیط‌های استخراج، شستشو و بلوغ به صورت روزانه آماده می‌شد. محیط‌های شستشو و بلوغ، قطره‌گذاری می‌شدند و توسط لایه‌ای از روغن معدنی پوشانده می‌شدند و در شرایط دمای ۳۸/۵ درجه‌ی سانتی‌گراد، ۹۰ درصدرطوبت و ۵ درصد دی‌اکسید کربن حداقل به مدت ۲ ساعت قبل از کشت اووسیت‌ها انکوبه می‌شدند.

جمع آوری نمونه‌های تخمدان

با مراجعه‌ی روزانه به کشتارگاه صنعتی بیستون، بلافاصله پس از ذبح گوسفندان و باز شدن محوطه‌ی شکمی آن‌ها، تخمدان‌ها با دقت جدا و در محلول سرم فیزیولوژی حاوی آنتی‌بیوتیک نگهداری و در مدت کمتر از ۲ ساعت به آزمایشگاه مرکزی دانشکده دامپزشکی منتقل می‌شدند.

جمع‌آوری اووسیت‌ها از تخمدان

در آزمایشگاه، تخمدان‌ها شسته شدند. مجموعه اووسیت وکومولوس‌ها (COCs) از فولیکول‌های تخمدانی با قطر ۷-۳ میلی‌متر، استخراج شدند واووسیت‌هایی که دارای حداقل ۳ لایه کامل از سلول‌های کومولوس بودند و سیتوپلاسم همگن داشتند انتخاب (Figure 1) و پس از چند بار شستشو در قطرات محیط HTCM حاوی ۱۰ درصد FBS در قطرات محیط بلوغ مربوط به گروه‌های مورد مطالعه به شرح ذیل کشت و به مدت ۲۴ ساعت انکوبه شدند.

۱- گروه کنترل: محیط بلوغ معمول (TCM) آماده و به صورت قطرات ۵۰ میکرولیتری قطره‌گذاری شد.

۲- گروه تیمار ۱: به جای سیستئامین، عصاره‌ی آویشن زوفایی با غلظت ۱ میکروگرم در میلی‌لیتر به محیط بلوغ معمول اضافه و به صورت قطرات ۵۰ میکرولیتری قطره-گذاری شد.

۳- گروه تیمار ۲: به جای سیستئامین، عصاره‌ی آویشن زوفایی با غلظت ۱۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به محیط بلوغ اضافه و به صورت قطرات ۵۰ میکرولیتری قطره‌گذاری شد.

۴- گروه تیمار ۳: به جای سیستئامین، عصاره‌ی آویشن زوفایی با غلظت ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به محیط بلوغ اضافه و به صورت قطرات ۵۰ میکرولیتری قطره‌گذاری شد.

پس از ۲۴ ساعت، وضعیت گسترش سلول‌های کومولوس همراه اووسیت ارزیابی شد. بر اساس میزان گسترش سلول‌های کومولوس، اووسیت‌ها به سه درجه‌ی ۱ ، ۲ و ۳ تقسیم شدند و تعداد اووسیت‌های هر درجه شمارش و ثبت گردید. همچنین، از اووسیت‌ها عکسبرداری صورت گرفت.

رنگ‌آمیزی اووسیت‌ها

به منظور تعیین وضعیت بلوغ هسته اووسیت‌ها، ابتدا سلول‌های کومولوس از اووسیت جدا شدند و به قطرات محیط HTCM منتقل و شسته شدند. سپس به محلول فیکساتیو منتقل و به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد نگهداری شدند تا تثبیت شوند. اووسیت‌های تثبیت شده توسط رنگ استواورسئین ۱ درصد رنگ‌آمیزی شدند و توسط میکروسکوپ نوری معمولی (Olympus) مشاهده، بررسی و عکس‌برداری شدند. در تصاویر ثبت شده، وضعیت بلوغ هسته‌ای اووسیت‌ها بررسی شد و اووسیت‌ها بر اساس مراحل تقسیم میوز II شمارش و دسته‌بندی شدند. در این آزمایش برای هر یک از گروه‌های کنترل و گروه‌های تیمار یافته با غلظت‌های ۱ و ۱۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر، ۵ تکرار و برای هر گروه ۲۵ اووسیت عکس‌برداری شد.

صفات کمی مورد بررسی در این مطالعه، درصد گسترش سلول‌های کومولوس همراه اووسیت و درصد مراحل تقسیم میوز بود. برای هر صفت، شمارش اووسیت‌ها انجام گرفت و به درصد تبدیل شد و با کمک برنامه‌ی آماری SPSS برای هر گروه به صورت میانگین Mean ± SEM ارائه شدند. سپس با کمک آزمون آماری One Way ANOVA و پس آزمون LSD مورد آنالیز آماری قرار گرفتند. اختلاف داده‌ها در سطح P<۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

در این مطالعه، عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آویشن زوفایی در غلظت‌های ۱، ۱۰ و ۵۰ میکروگرم در میلی‌لیتر به محیط بلوغ اووسیت‌ها اضافه شد تا اثر آن روی وضعیت بلوغ اووسیت‌ها مورد بررسی قرار گیرد. بدین صورت که ۲۴ ساعت بعد از کشت اووسیت‌ها در محیط بلوغ در گروه-های مورد مطالعه، ابتدا درصد گسترش سلول‌های کومولوس اطراف اووسیت مورد بررسی قرار گرفت. سلول‌های کومولوس در اووسیت‌های نابالغ به صورت فشرده و متراکم آرایش یافته‌اند در حالی که در اووسیت‌های بالغ از حالت فشرده خارج شدند و به صورت گسترش یافته در آمده‌اند (Figure 1).

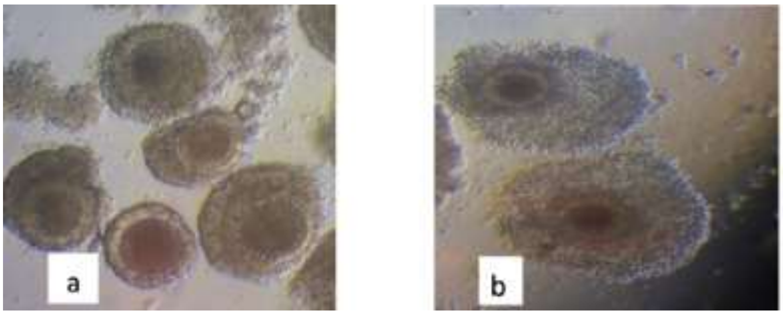

Figure 1. Cumulus cells expansion in (a) immature & (b) mature oocytes (20×).

همان گونه که در Teble 1 نشان داده شده است، میانگین درصد گسترش درجه ۱ سلول‌های کومولوس در گروه‌های تیمار ۱ و ۲ به ترتیب (۴۷/۸۲±۰/۹۷) و (۵۰/۵۷±۱/۳۶) بود که در مقایسه با گروه کنترل (۶۲/۱۴±۱/۰۹) کاهش یافت (P<۰/۰۵)، اما در گروه تیمار ۳ (۵۹/۳۲±۱/۹۰) درصد بود که با گروه کنترل فاقد تفاوت معنی‌دار بود (P>۰/۰۵). علاوه بر این، این شاخص در گروه تیمار ۳ بیشتر از گروه‌های تیمار ۱ و ۲ بود (P<۰/۰۵). درصد گسترش درجه ۲ سلول‌های کومولوس در گروه تیمار ۲ (۳۶/۷۸±۱/۸۴) بود که بیشتر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). این شاخص در گروه‌های تیمار ۱ و ۳ به ترتیب (۲۷/۹۲±۰/۹۱) و (۲۹/۸۳±۰/۵۳) درصد بود که با گروه کنترل فاقد تفاوت معنی‌دار بود (P>۰/۰۵).

درصد گسترش درجه ۳ سلول‌های کومولوس در گروه تیمار ۱ (۰/۹۱ ± ۲۴/۴۴) بود که بیشتر از سایر گروه‌ها بود (P<۰/۰۵). این شاخص در گروه‌های تیمار ۲ و ۳ به ترتیب (۱/۲۳±۱۲/۶۵) و (۲/۲۴±۱۰/۸۴) درصد بود که با گروه کنترل فاقد تفاوت معنی‌دار بود (P>۰/۰۵).

Teble 1. Effect of different concentrations of *Thymbra spicata* extract on expansion degree of cumulus cells 24 hours after culture in maturation medium

Parameter Treatment group	Total number of Oocytes	Degree 1expansion no. of oocytes(%) (Mean ±SEM)	Degree 2expansion no. of oocytes(%) (Mean ±SEM)	Degree 3expansion no. of oocytes(%) (Mean ±SEM)
Control	101	63 (62.14±1.09)	31 (30.84±1.41)	7 (7.35±2.25)
T1(1μg/ml)	107	51 (47.82±0.97)	30 (27.92±0.91)	26 (24.44±0.91)
T2 (10μg/ml)	103	52 (50.57±1.36)	38 (36.78±1.84)	13 (12.65±1.23)
T3 (50μg/ml)	104	62 (59.32±1.90)	31 (29.83±0.53)	11 (10.84±2.24)

Values in columns with different superscripts (a, b) differ significantly (p < 0.05).

بر اساس Figure 2، درصد گسترش درجه کل سلول‌های کومولوس در گروه تیمار ۱ نسبت به سایر گروه‌ها کاهش یافته بود (P<۰/۰۵). ولی بین سایر گروه‌ها تفاوت معنی-داری مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

اووسیت‌های بالغ رنگ‌آمیزی شده توسط استواورسئین برای تعیین وضعیت بلوغ هسته‌ای مورد مطالعه میکروسکوپی قرار گرفتند تا مراحل تقسیم میوز شامل GV، GVBD، آنافاز I و متافاز II در آن‌ها تعیین شود (Figure 3).

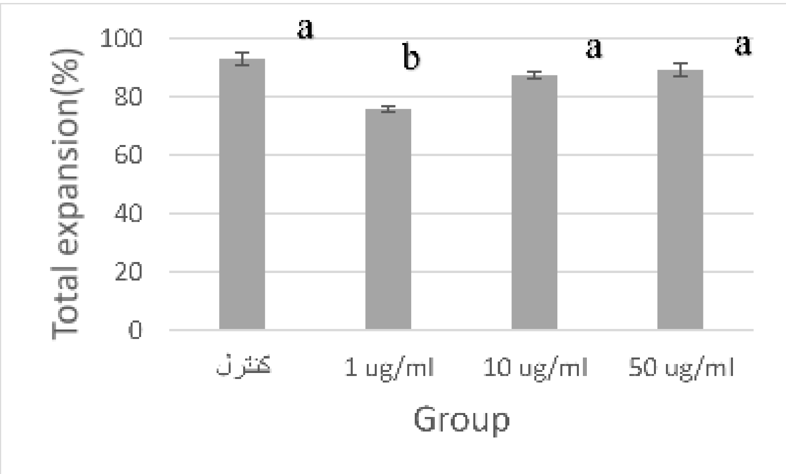

Figure 2. Effect of different concentrations of *Thymbra spicata* extract on total expansion percent of cumulus cells 24 hours after culture in maturation medium.
Values in columns with different superscripts (a, b) differ significantly (p< 0.05).

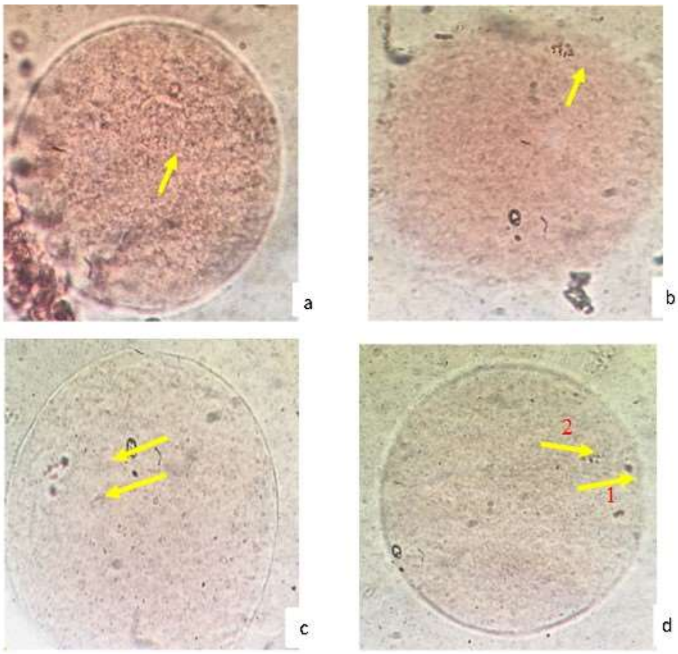

Figure 3. Chromosomal status of oocyte nucleous in different phases of meiosis division (Aceto-orcein staining, 40×). (a) GV,(B) GVBD, (C) Anaphase I, (d) Metaphase II.(1st polar body(1) , secondary oocyte chromosomes in metaphase II (2)).

بر اساس نتایج ارائه شده در Table 2، درصد اووسیت-هایی که توانسته بودند تا مرحله متافاز II پیشرفت کنند در گروه‌های تیمار ۲ و ۳ مشابه گروه کنترل بود (P<۰/۰۵) اما درصد آن‌ها در گروه تیمار ۱ از گروه کنترل کمتر بود (P<۰/۰۵). بین گروه‌های تیمار ۱ و ۲ از این نظر تفاوتی مشاهده نشد (P>۰/۰۵).

Table 2. Effect of different concentrations of *Thymbria spicata* extract on percent of oocytes in different phases of meiosis24 hours after culture in maturation medium.

Parameter Treatment group	Total number of Oocytes	No. of GV oocytes (%)	No. of GVBD oocytes (%)	No. of AnaI oocytes (%)	No. of MII oocytes (%)	No. of deg. oocytes (%)
Control	25	2 (8 ±4.89)a	1 (4 ±4) a	0 (0)a	21 (84 ±7.48)a	1 (4 ±4) a
T1(1µg/ml)	25	3 (12 ±4.89) a	1 (4 ±4) a	0 (0)a	15 (60 ±6.32)b	6 (24 ±4)b
T2 (10µg/ml)	25	1 (4 ±4) a	1 (4 ±4) a	1 (4 ±4) a	19 (76 ±4)ab	3 (12 ±4.89)ab
T3 (50µg/ml)	25	2 (8 ±4.89) a	1 (4 ±4) a	0 (0)a	20 (80 ±6.32)a	2 (8 ±4.89) a

Values in columns with different superscripts (a, b) differ significantly ($p < 0.05$).GV, germinal vesicle; GVBD, germinal vesicle breakdown; M-I, metaphase-I; M-II, metaphase-II.

بحث

بلوغ اووسیت برای تولید موفقیت‌آمیز جنین در آزمایشگاه ضروری است (Zhu et al. 2008) و تا کنون مطالعات زیادی با هدف بهبود کیفی این فرایند انجام شده است (Lee et al. 2014). در مطالعه‌ی حاضر، اثر عصاره‌ی هیدروالکلی گیاه آویشن زوفایی روی بلوغ اووسیت گوسفند در آزمایشگاه بررسی شد. در این مطالعه، گسترش

سلول‌های کومولوس به عنوان یکی از فاکتورهای مؤثر برای تعیین بلوغ هسته تخمک‌ها در نظر گرفته شد. سلول‌های کومولوس در اثر افزایش ترشح گنادوتروپین‌ها قبل از تخمک‌گذاری پراکندگی پیدا می‌کنند و شکاف‌های اتصالی بین سلول‌های کومولوس مجاور و بین سلول‌های کومولوس و تخمک شکسته می‌شود (Gordon 2003). بررسی نتایج به دست آمده در این مطالعه نشان داد که بین غلظت‌های استفاده شده عصاره، بیشترین درصد گسترش درجه ۱ مربوط به گروه تیمار ۳ بود که با گروه کنترل فاقد تفاوت معنی‌دار بود و کمترین درصد مربوط به گروه تیمار ۱ بود که به صورت معنی‌داری از گروه کنترل و گروه تیمار ۳ کمتر بود.

مقایسه‌ی درصد گسترش کل (مجموع گسترش درجه ۱ و ۲) بین گروه‌های مورد مطالعه نشان می‌دهد که بیشترین درصد گسترش کل سلول‌های کومولوس در گروه کنترل مشاهده شد و پس از آن گروه‌های تیمار ۳ و ۲ قرار داشتند که فاقد تفاوت معنی‌دار با آن بودند. در این درجه‌بندی، گسترش کل به عنوان معیار کلی برای تعیین وضعیت بلوغ اووسیت است. احتمال به بلوغ رسیدن اووسیت‌هایی که سلول‌های کومولوس همراه آن‌ها کامل گسترش یافتند (درجه ۱) و یا به میزان متوسط گسترش یافتند (درجه ۲) زیاد است. حال آن که در اووسیت‌هایی که گسترش سلول-های کومولوس کم می‌باشد شانس بالغ بودن کاهش می‌یابد (Son et al. 2017). از این یافته می‌توان چنین استنباط کرد که عصاره‌ی آویشن زوفایی در غلظت‌های ۱۰ و ۵۰ میکروگرم بر میلی‌لیتر توانسته است اثر مثبتی روی گسترش سلول‌های کومولوس و در نتیجه بلوغ اووسیت داشته باشد و از این نظر اثر آن با سیستئامین (آنتی‌اکسیدان به کار رفته در گروه کنترل) می‌تواند قابل مقایسه باشد. ولی عصاره با غلظت ۱ میکروگرم بر میلی‌لیتر نتوانست گسترش مناسب بلوغ اووسیت را ایجاد کند. چنین به نظر می‌رسد که اثر عصاره وابسته به غلظت باشد به این معنی که با افزایش غلظت اثرگذاری آن بیشتر شده است. سلول‌های کومولوس در طول IVM یا با ترشح فاکتورهایی که شایستگی تکوین را تحریک می‌کنند یا با حذف مهارکننده‌های موجود در محیط بلوغ اووسیت، تکوین اووسیت را افزایش می‌دهند (Hashimoto et al. 1998). علاوه بر این، این سلول‌ها ممکن است در طول بلوغ اووسیت، تنش اکسیداتیو ناشی از متابولیسم فعال اووسیت را در مجاورت آن کاهش دهند. در مطالعه‌ی Hajian و همکاران (۱۳۹۵) غلظت بالای رازیانه (۵۰ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) باعث مهار توسعه سلول-های کومولوس در اووسیت‌های گاو شد در حالی که در غلظت‌های کمتر، از این نظر اختلاف معنی‌داری با گروه کنترل مشاهده نشد. همچنین Rajabi و همکاران (۲۰۱۳) نیز نتیجه‌ای مشابه با مطالعه Hajian و همکاران در رابطه با اثر عصاره‌ی شقایق دریایی روی بلوغ اووسیت گوسفند گزارش کردند. Son و همکاران (۲۰۱۷) اثر غلظت‌های صعودی فاکتور رشد فیبروبلاستی ۱۰(FGF-10) را روی بلوغ اووسیت‌های خوک مورد بررسی قرار دادند و اعلام نمودند که این فاکتور توانست به صورت وابسته به غلظت باعث بهبود گسترش سلول‌های کومولوس و بلوغ اووسیت شود.

اووسیت پستانداران در زمان تولد در پروفاز اولین تقسیم میوز متوقف می‌شود ولازم است قبل از لقاح موفق، فرآیند میوز آن‌ها از سر گرفته و تکمیل شود. شایستگی میوزی، توانایی اووسیت‌ها برای شروع دوباره و تکمیل میوز، در طی رشد فولیکولی و اووسیت به دست می‌آید و با یک-سری از تغییرات در هسته و سیتوپلاسم اووسیت همراه می‌شود. بلوغ اووسیت شامل شروع مجدد میوز از مرحله‌ی پروفاز I در اووسیت مرحله‌ی وزیکول زایا تا خروج اولین جسم قطبی و متافاز II است. زمانی که تقسیم میوز از سر گرفته می‌شود، اووسیت متوقف شده در مرحله‌ی وزیکول زایا (GV) به ترتیب دستخوش مراحل GVBD، متافاز I، آنافاز I، تلوفاز I و متافاز II می‌شود. اووسیت در مرحله‌ی متافاز II یک اووسیت بالغ کامل و آماده برای لقاح است (Landim and Maziero 2014). از این رو در مطالعه‌ی حاضر، معیار دیگر برای بلوغ هسته‌ای اووسیت، رسیدن به مرحله‌ی متافاز II بود. بر این اساس، بیشترین درصد

اووسیت‌هایی که به مرحله‌ی متافاز II رسیده بودند به ترتیب مربوط به گروه کنترل، تیمار ۳ و تیمار ۲ بود که تفاوت بین آن‌ها معنی‌دار نبود و در گروه تیمار ۱ کم‌ترین درصد اووسیت‌های مرحله‌ی متافاز II مشاهده شد. این نتیجه نشان می‌دهد که استفاده از غلظت مناسب عصاره برای اثرگذاری بهینه لازم است و نشان دهنده‌ی اثر وابسته به غلظت عصاره است همچنان که khodabandeh و همکاران (۱۳۹۴) اعلام نمودند که عصاره‌ی ریشه‌ی کنگر دارای اثر مثبت وابسته به غلظت روی بلوغ تخمک می‌باشد. در هنگام IVM و کشت جنین‌ها در آزمایشگاه رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید می‌شوند که با دیگر مولکول‌های سیتوپلاسمی واکنش شدید نشان می‌دهند و باعث آسیب سلولی می‌شوند (Uday et al. 1999). سلول‌های پستانداران از جمله تخمک‌ها و رویان‌های اولیه‌ی آن‌ها، چندین سازوکار را برای حفاظت در مقابل گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) و حفظ کردن تعادل مناسب در واکنش‌های ردوکس اتخاذ کرده‌اند (Guerin et al. 2001). با این حال، به نظر می‌رسد که جنین‌ها در آزمایشگاه در معرض فشار اکسیداتیو قرار می‌گیرند و ساز و کارهای دفاعی آن‌ها برای حفاظت از ساختمان‌های سلولی ظریفشان کارایی ندارد. فشار اکسیداتیو باعث قطعه قطعه شدن DNA و موتاسیون می‌شود که توانایی جنین را کاهش می‌دهد. از این رو، با توجه به آسیب‌های وارده به سلول و برای حفاظت تخمک ها، اضافه کردن آنتی‌اکسیدان‌ها به محیط کشت ضروری به نظر می‌رسد (Compoti 1989). نشان داده شده است که افزودن آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند بتا مرکاپتواتانول، سیستئامین، گلوتاتیون و ملاتونین به محیط بلوغ اووسیت اثر مثبتی روی مراحل بعدی تکوین رویان موش دارد (Eimani et al. 2005, Eimani et al. 2006, Salimi et al. 2014). غلظت بهینه‌ی آنتی‌اکسیدان‌ها همانند ویتامین‌ها و اسیدهای آمینه به حذف رادیکال‌های آزاد کمک می‌کند (Kitagawa et al. 2004).

گیاهان به عنوان منبعی اصلی از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی مورد توجه هستند (Vijaya et al. 2010). گیاه آویشن زوفایی از خانواده‌ی نعناعیان است و همانند سایر گیاهان این خانواده، منبعی غنی از فلاونوئیدها، ترپنوئیدها و ایزوپرنوئیدها همچون تیمول و کارواکرول است (Wojdyto 2004). تحقیقات قبلی نشان داده است که گیاهان خانواده‌ی نعناعیان حاوی مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان و ترکیبات فنولی هستند (Menne et al. 2004). به طوری که اثر ضد سرطانی گیاه آویشن زوفایی را ناشی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان موجود در آن دانسته‌اند (Sabzali etal. 2014). گفته شده است آویشن کوهی خاصیت آنتی‌اکسیدان قوی دارد (Faleiro et al. 2005). همچنین، Alaee و همکاران (۲۰۱۶) اثر غلظت‌های مختلف عصاره‌ی نعناع را روی بلوغ اووسیت در موش سوری بررسی کردند و اعلام نمودند که اثرات خفیفی روی بلوغ آزمایشگاهی اووسیت داشت. با این حال، اعلام نمودند که غلظت‌های بیش‌تر این عصاره ممکن است بلوغ اووسیت را بهبود بخشد (Alaee et al. 2016). Banihosseini و همکاران (۲۰۱۸) اثر غلظت‌های مختلف کوئرستین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان گیاهی بر استرس اکسیداتیو داخل سیتوپلاسمی را در خلال بلوغ و لقاح آزمایشگاهی اووسیت موش بررسی کردند و بیان نمودند که کوئرستین قادر است به صورت وابسته به غلظت بلوغ هسته و تکوین رویان را از طریق کاهش استرس اکسیداتیو داخل سلولی در اووسیت بالغ بهبود بخشد. Barakat و همکاران (۲۰۱۴) اثر غلظت های مختلف برگ چای سبز را روی بلوغ هسته‌ای و تکوین رویان بعد از لقاح آزمایشگاهی اووسیت گوسفند بررسی کردند و بیان داشتند که افزودن عصاره به محیط کشت با غلظت مشخص، بلوغ اووسیت‌ها و تکوین آن‌ها به بلاستوسیست را به صورت معنی‌دار افزایش می‌دهد. برگ چای سبز سرشار از ترکیبات پلی فنولی است که از جمله آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی با اثر قوی هستند.

Tavana و همکاران (۲۰۱۲) اثرات عصاره‌ی آبی زعفران را روی بلوغ، لقاح و تکوین رویان در اووسیت‌های موش در آزمایشگاه را بررسی کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که زعفران در غلظت‌های کم در مقایسه با غلظت‌های بیشتر

اثر بیش‌تری دارند و اعلام نمودند که افزودن مقادیر مناسب عصاره‌های طبیعی بلوغ اووسیت و تکوین رویان در آزمایشگاه را بهبود می‌دهد. در مطالعه‌ای که توسط Zabihi و همکاران انجام شده است، افزودن رسوراترول (آنتی-اکسیدان) در غلظت ۰/۵ میکرومول به محیط کشت بلوغ اووسیت گوسفند باعث افزایش درصد اووسیت‌های رسیده به مرحله‌ی متافاز II شد در حالی که در غلظت‌های بالا اثر منفی داشت. Abedi و همکاران (۲۰۱۴) با مطالعه‌ی اثر عصاره‌ی برگ‌های کنگر روی بلوغ آزمایشگاهی اووسیت موش گزارش کردند که عصاره قادر بود به صورت وابسته به غلظت میزان بلوغ اووسیت‌ها را افزایش دهد. آن‌ها بیان کردند که بهبود در میزان بلوغ اووسیت‌ها به واسطه‌ی اثر آنتی‌اکسیدان عصاره است به طوری که عصاره در تمام غلظت‌ها توانست در مقایسه با گروه کنترل میزان بلوغ اووسیت‌ها را افزایش دهد. لازم به ذکر است که تفاوت مطالعه‌ی آن‌ها با مطالعه‌ی ما اضافه نکردن آنتی‌اکسیدان به محیط بلوغ گروه کنترل بود. چنین تصور می‌شود که اثرات آنتی‌اکسیدان پلی‌فنول‌های عصاره‌ی برگ کنگر به توانایی آن‌ها در تحریک دفاع آنتی‌اکسیدانی از طریق فاکتورهای رونویسی تنظیم شونده توسط ردوکس و همچنین تنظیم چرخه‌ی سلولی وابسته به پروتئین کیناز فعال کننده‌ی میوز مرتبط باشد. همچنین در مطالعه‌ی دیگری گزارش شده است که افزودن غلظت بهینه‌ی عصاره‌ی خشخاش زراعی به محیط بلوغ اووسیت‌ها باعث بهبود بلوغ اووسیت و تکوین بعدی رویان می‌شود (Golkar-Narenji et al. 2010). Wang و همکاران در مطالعه‌ی مشابه دیگری بیان کردند که افزودن غلظت‌های مناسب پلی‌فنول‌های چای سبز به عنوان آنتی‌اکسیدان به محیط بلوغ اووسیت‌های گاوی باعث افزایش تکوین بلاستوسیست می‌شود.

در مجموع، بر اساس نتیجه‌ی حاصل از این مطالعه و همچنین مطالعات مشابه می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزودن غلظت مناسب عصاره‌های گیاهی به محیط بلوغ اووسیت به سبب محتوای آنتی‌اکسیدانی که دارند می‌تواند میزان بلوغ اووسیتی را افزایش دهد که به نوبه خود می‌تواند باعث بهبود مراحل بعدی تکوین جنین می‌شود. از آن جایی که بلوغ هسته‌ای اووسیت عامل مهمی در تعیین بلوغ اووسیت نابالغ و متعاقباً بر روند رشد و نمو تکوین جنینی است، غلظت‌های عصاره‌ی به کار رفته شده در این مطالعه برای تعیین اثر افزایشی این ماده بر بلوغ هسته‌ای نیاز به بررسی بیش‌تر در آینده دارند.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه رازی کرمانشاه کمال تشکر را دارند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافعی ندارند.

منابع مالی

هزینه‌های این تحقیق از طریق معاونت پژوهشی دانشگاه رازی کرمانشاه تأمین شده است.

منابع

Abedi, A., Rouhi, L., & Ghasemi Pirbalouti, A. (2014). Effect of *GundeliaTournefortii*leaves extract on in immature mouse oocytes. 2: 84-89.

Akin, M., Oguz, D., & Saracocoglu, H. (2010). Antibacterial activity of essential oil from thymbra spiata var. spicata L. and teucrimpolium (stapf Brig). *Int J Pharm Appl Sci*, 1(1), 56-58

Alaee, S., Rezaee, S., & Ziaei, GH. (2016). Evaluation of the Effects of MenthaSpicata Extract on In-Vitro Maturation of Mouse Oocytes. *Journal of Advanced Medical Sciences and Applied Technologies (JAMSAT)*, 2(2), 200-203.

Alpinar, K., Ozyurek, M., Kolak, U., Guclu, K., Aras, C., Altun, M., et al. (2009). Antioxidant capacities of some food plants wildly grown in Ayvalik of Turkey. *Food SciTechnol Res*, 5, 59–64.

Banihosseini, SZ. GhaffariNovin, M., Nazarian, H., Piryaei, A., Parvardeh, S., & Eini, F. (*2018)*. Quercetin improves developmental competenceof mouse oocytes by reducing oxidative stress during*in vitro* maturation*Ann. Anim. Sci*, *18,1 87–198 DOI: 10.1515/aoas-2017-0029*.

Barakat, IAH. Al-Himaidi, AR., & Rad, AM. (2014) .Antioxidant Effect of Green Tea Leaves Extract on in vitro Productionof Sheep Embryos.Pakistan J. Zool, 46(1), 167-175.

Compoti, M. (1989). Three models of free radical induced cell injury. *Chemico Biological Intractions*, 72, 1-56.

Eimani, H., Hassani, F., Haeri Rohani, S., Nasr Esfahani, M.H., Rezazadeh, M., & Dalman, A. (2005). Effect of cysteamine on in vitro maturation, resumption of miosis and embryo development of immature mouse oocytes. *Yakhteh*, 7(1), 1-6.

Eimani, H., Hassani, F., Nasresfahani, M.H., Dalman, A., Shahverdi, A.H., & Eftekhari Yazdi, P. (2006). Effect of B-Mercaptoethanol with and without Bso (Dl-Buthionine Sulfoximine) on resumption of meiosis, iin vitro maturation and embryo development of immature mouse oocytes. *Yachted*, 7(4), 236-241.

Faleiro, L., Miguel, G., Gomes, S., et al. (2005). Antibacterial and antioxidant activities of essential oils isolated from thymbra capitata L (cav.) and origanum vulgare L. *J Agric Food Chem*, 53(21),8162-8.

Ghasemipirbalouti, A., Bahmani, M., & Avijgan, M. (2009). Anti –candida activity of some of the Iranian medicinal plants. *Electronic J Biol*, 5(4), 85-88.

Golkar-Narenji, A., Eimani, H., Samadi, F., Hasani, S., Shahverdi, A., & Eftekhari-Yazdi, P. (2010). Effect of Papaver rhoeas extract on in vitro maturation and developmental competence of immature mouse oocytes. *Reproductive Medicine and Biology*, 9(4), 211-215.

Gordon, I. (2003). Laboratory production of cattle embryos. 2nd edition. *CAB International publishing,Wallingford.*

Guerin, P., El Mouatassim, S., & Menezo, Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Human Reproduction. Update*, 7, 175–189.

Hajian, S. & Haidari Nasrabadi, M. (2017). Effect of Fennel essence on nuclear maturation of bovine oocyte. *NCMBJ*, 7(25), 27-32.

Hreinsson, JR., Friden, B., & Levkov, L. (2003). RecombinantLH is equally effective as recombinant hCGinpromoting oocyte maturation in clinical invitromaturationprogramme: a randomized study. *Hum.Repro*, 18, 2131-2136.

Hashimoto, S., Saeki, K., Nagao, Y., Minami, N., Yamada, M., & Utsumi, K. (1998). Effects of cumulus cell density during in vitro maturation on the developmental competence of bovine oocytes. *Theriogenology*, 49, 1451-1463.

Jurema, M.W., & Ogueira, N. (2006). In vitro maturation of human oocytes for assisted reproduction. *Fertility and sterility*, 86, 1277-1291.

Khodabandeh, M.. Roohi, L.. & Ghasemi Pirbalooti, A. (2016). Dose dependent effects of *Gundeliatournefortii* root extract on meiosis restart and in vitro maturation of mouse immature oocytes. *Herbal drugs*, 6(3), 161-166.

Landim-Alvarenga و FC. & Maziero, RRD. (2014).

Control of oocyte maturation. *Anim. Reprod,*. 11(3), 150-158.

Lee, SE. Kim, EY. Choi, HY. Moon, JJ. Park, MJ. Lee, JB., et al. (2014). Rapamycin Rescues the Poor Developmental Capacity of Aged Porcine Oocytes. *Asian-Australas J Anim Sci*, 27(5), 635–647.

Menne, LI., Sapinho, D., & De bree, A. (2004). Consumption of foods rich in flavonoids is related to a decreased cardiovascular risk in apparently Healthy French women. *J Nutr*, 134 (4), 923-926.

Nadi, S., Ravindranatha, BM., Gupta, PSP. & Sarma, PV. (2002). Timing of sequential changes in cumulus cellsand first polar body extrusion during in vitromaturation of buffalo oocytes." *Theriogenology,* 57, 1151–1159.

Nasr-Esfahani, MH. (1991). The origin of reactive oxygen species in mouse embryos cultured in vitro. *Development*, 113,551-560.

Sabzali, S.. Rostam zad, A.. Panahi, J.. Havasian, M.. Haghani, K.. & Bkhtiary, S. (2014). Investigation on the Inhibitory effects of hydro-alcoholic extract of Thymbra spicata on the growth of lung cancer cell line SK-Mes-1. *Sjimu*, 22(4), 153-158.

Salimi, M., Salehi, M., Masteri Farahani, R., Dehghani, M., Abadi, M., Novin, MG. Nourozian, M., & Hosseini, A., 2014. The Effect of Melatonin on Maturation, Glutathione Level and Expression of H MGB1 Gene in Brilliant Cresyl Blue (BCB) Stained Immature Oocyte. *Cell J*, 15(4), 294-301.

Son, YJ. Lee, SE. Hyun, H., Shin, MY. Park, YG. et al. (2017). Fibroblast growth factor 10 markedly improves in vitro maturation of porcine cumulus-oocyte complexes. *Mol. Reprod. De,* 84, 67–75.

Sovernigo, Adona, PR., Monzani, PS., Guemra , S., Barros, FDA., Lopes, FG., & Leal, CVL. (2017). Effects of supplementation of medium with different antioxidants during in vitro maturation of bovine oocytes on subsequent embryo production. *Reprod Dom Anim*, 52,561–569.

Tavana, S., Eimani, H., Azarnia, M., Shahverdi, A., & EftekhariYazdi, P. (2012). Effects of Saffron (*Crocus sativus L.*) Aqueous Extract on *In vitro* Maturation, Fertilization and Embryo Development of Mouse Oocytes. *Cell Journal (Yakhteh), 13(4), 259-264.*

Uday, B., Dipak, D., & Ranajit, K. (1999). Reactiv oxygen species: oxidative damage and pathogenesis. *Current Sien,.* 77, 658-666.

Wang, X., Falcone, T., Attaran, M., Goldberg, JM., Agarwal, A., & Sharma, RK. 2002. Vitamin C and vitamin E supplementation reduce oxidative stress-induced embryo toxicity and improve the blastocyst development rate. *Fertil Steril*, 78(6), 1272-7.

Wani, N., Wani, G., & Al-Saigh, MN. (1999). Effect of different factors on the recovery rate of oocytes for in vitro naturation and in vitro fertilization procedures in sheep. *Small Rumin Res*, 34, 71-76.

Wojdyto, A. (2007). Antioxidant activity and phenolic compound in 32 selected herbs. *J food Chem*, 105, 940-949.

Zabihi, A., Shabankareh, HK. Hajarian, H., & Foroutanifar, S. (2019). Resveratrol addition to in vitro maturation and in vitro culture media enhances developmental competence of sheep embryos. *Domest Anim Endocrinol,* 68, 25-31.

Zhu, G., Guo, B., Pan, D., Mu, Y., & Feng, S. (2008). Expression of bone morphogenetic proteins and receptors in porcine cumulus oocyte complexes during in vitro maturation. *Anim reprod sci*, 104, 275-283.

Received: 16.03.2020
Accepted: 31.05.2020

DOI: 10.22055/IVJ.2021.241129.2287
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.9.3

تأثیر استفاده از نانولیپوزوم ویتامین D3 در جیره بر عملکرد و صفات کیفی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار

محمدرضا قربانی[1*]، محمد نوشاد[2] و حدیث میرزایی[3]

[1] دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران

[2] دانشیار گروه صنایع غذایی، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

[3] دانشجوی دکتری تغذیه طیور، دانشکده علوم دامی و صنایع غذایی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، ملاثانی، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۰۵/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۳/۰۱

چکیده

به منظور بررسی تأثیر استفاده از سطوح مختلف نانولیپوزوم ویتامین D3 در جیره بر عملکرد و صفات کیفی تخم مرغ مرغان تخمگذار، آزمایشی با ۱۲۰ قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن (سویه تجاری‌های لاین W-80)، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تیمار، پنج تکرار و شش قطعه مرغ در هر تکرار و به مدت شش هفته انجام شد. تیمارهای آزمایشی ۱ و ۲ به ترتیب ۳۳۰۰ و ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 و تیمارهای ۳ و ۴ به ترتیب ۳۳۰۰ و ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل نانولیپوزوم ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک دریافت کردند. نتایج نشان داد در سه هفته‌ی دوم از آزمایش مرغانی که از ۴۹۵۰ واحد بین الملل ویتامین D3 در جیره‌ی خود دریافت کرده بودند، نسبت به سایر گروه‌ها مصرف خوراک بیش‌تری داشتند. میزان ویتامین D3 زرده تخم به صورت معنی‌داری با افزایش غلظت ویتامین جیره افزایش یافت. در مقدار مساوی از ویتامین، استفاده از نانولیپوزوم باعث کاهش محتوای ویتامینی زرده گردید. غلظت کلسترول زرده‌ی تخم به هنگام استفاده از نانولیپوزوم ویتامین افزایش یافت. نتیجه نشان داد استفاده از نانولیپوزوم ویتامین D3 تأثیر قابل توجهی بر عملکرد و صفات کیفی تخم مرغان تخم‌گذار ندارد.

کلمات کلیدی: تخم مرغ، عملکرد، مرغ تخم‌گذار، نانولیپوزوم، ویتامین D3

مقدمه

ویتامین D3 یک ویتامین محلول در چربی است و به صورت درون‌زا با قرار گرفتن پوست در معرض اشعه‌ی ماوراء بنفش تولید می‌شود. تغییرات فصلی و محلی در شدت نور اشعه‌ی ماوراء بنفش تأثیر داشته و سنتز درون‌زادی ویتامین D3 را محدود می‌کند. محققین نشان داده‌اند که در فاصله‌ی سنین ۱ تا ۷۰ سالگی، نیاز به ویتامین D3، حدود ۱۵ تا ۲۰ میکروگرم در روز است و این در حالی است که مصرف روزانه‌ی این ویتامین بسیار کم‌تر از سطح توصیه شده و در حدود ۳ تا ۷ میکروگرم در روز می‌باشد (Kiely & Black 2012). در نتیجه به نظر می‌رسد گروه‌های مختلف انسانی نظیر نوجوانان، جوانان، زنان میانسال و افراد مسن در خطر کمبود این ویتامین باشند.

*نویسنده مسئول : محمدرضا قربانی، دانشیار گروه علوم دامی، دانشکده کشاورزی شیروان، دانشگاه بجنورد، بجنورد، ایران
E-mail: ghorbani.mr@ub.ac.ir

نقش اصلی ویتامین D3 در بدن افزایش جذب کلسیم و فسفر در روده و بازجذب آن از کلیه‌ها می‌باشد. کمبود ویتامین D3 می‌تواند باعث ایجاد ریکتز (نرمی استخوان) در کودکان خردسال یا افزایش خطر پوکی استخوان در بزرگسالان شود (Holick 2005). با توجه به مطالب ذکر شده اتخاذ استراتژی‌هایی که باعث افزایش مصرف ویتامین D3 گردد لازم و ضروری است.

از بین منابع مختلف غذایی، تخم‌مرغ و به خصوص زرده‌ی آن دارای محتوای ویتامین D3 است و یکی از روش‌های افزایش مصرف ویتامین D3 در یک جمعیت بدون تغییر در عادات غذایی، تولید تخم مرغ‌های غنی شده با ویتامین D3 است (Mattila et al. 2004). محققین نشان داده‌اند به هنگام استفاده از ویتامین D3 در جیره‌ی مرغان تخم‌گذار، میزان ویتامین D3 در تخم‌مرغ به صورت خطی افزایش می‌یابد که ناشی از انتقال مؤثر چربی و ویتامین‌های محلول در چربی موجود در جیره به زرده‌ی تخم مرغ است (Mattila et al. 2004).

علاوه بر نقش ویتامین D3 در تغذیه‌ی انسان، این ویتامین اهیمت حیاتی در زندگی مرغ نیز دارد. ویتامین D3 یا متابولیت فعال آن ۱،۲۵ دی هیدروکسی کوله کلسیفرول در جذب کلسیم و فسفر در روده، معدنی شدن استخوان، تنظیم هورمون پاراتیروئید نقش داشته و میزان بروز اختلالات استخوانی را کنترل می‌کند (Garcia et al. 2013). همچنین ویتامین D3 در رشد طبیعی، حفظ کیفیت تخم مرغ و پوسته و صفات تولیدی در مرغ تخم‌گذار نقش دارد (Mattila et al. 2004).

از طرفی ویتامین‌های محلول در چربی از جمله ویتامین D3، ترکیبات حساسی هستند کـه باید از عوامل پروکسیدان محافظت شوند. انکپسولاسیون ویتامین D3 در لیپوزوم‌ها، یک روش مؤثر برای حفظ خصوصیات ذاتی ویتامین D3 در طی نگهداری و تولید مکمل‌های غنی‌سازی شده با این ویتامین است و یک مانع فیزیکوشیمیایی در مقابل عوامل پراکسیدان مثل رادیکال‌های آزاد، اکسیژن یا اشعه‌ی ماوراء بنفش ایجاد می‌کند. همچنین قابلیت پخش‌پذیری و پایداری ویتامین D3 توسط وارد کردن آن در حامل‌های کلوئیدی در مقیاس نانو بهبود بخشیده می‌شود (Considine et al. 2007). مشخص شده است، وقتی ماده-ی فعال در نانو حامل‌ها درون پوشانی می‌شود، مقدار ماده‌ی مورد نیاز جهت اثرگذاری مورد انتظار نسبت به حالت آزاد کاهش می‌یابد (Mozafari et al. 2008). همچنین نشان داده شده است با توجه به ماهیت ویتامین D3 (قطبیت کم)، این ویتامین در محلول‌های چربی حل شده و به اکسیداسیون حساس است؛ در نتیجه با کپسوله کردن این ویتامین می‌توان ماندگاری و اثرگذاری آن را افزایش داد (Mohammadi et al. 2014). با توجه به امکان انتقال و انباشت ویتامین D3 در تخم‌مرغ به نظر می‌رسد با اتخاذ تدابیری همانند استفاده از فناوری نانو بتوان ضمن استفاده بهینه از این ویتامین در جیره‌ی مرغان تخم‌گذار، سطح ویتامین را در تخم مرغ بالا برد و قدم مثبتی در جهت رفع کمبودهای تغذیه‌ای انسان به عنوان مصرف کننده‌ی ثانویه برداشت. هدف از آزمایش حاضر تهیه‌ی نانولیپوزوم ویتامین D3 و بررسی تأثیر استفاده از آن در جیره بر عملکرد، صفات کیفی تخم‌مرغ، محتوای ویتامین D3 زرده تخم مرغان تخم‌گذار است.

مواد و روش کار

در این روش نانولیپوزوم‌ها با استفاده از روش Mutalik و همکاران (۲۰۱۴) با کمی اصلاح تولید شدند. بدین منظور ابتدا بخش لیپیدی حاوی ۱/۶۶۸ گرم لیستین، ۰/۸۳۵ گرم کلسترول و ۰/۰۵ گرم ویتامین D3، در یک فلاسک ته گرد ۱۰۰ میلی‌لیتری با هم مخلوط شدند. سپس ۸۲/۷۵ میلی‌لیتر اتانول به آن افزوده شد. بعد از افزودن ۲۵ گرم ساکاروز به محلول، نمونه‌ها در هموژنایزر سرعت بالا (UltraTurrax T-25, IKA) با سرعت ۱۸۰۰۰ rpm به مدت ۸ دقیقه هموژن شدند. سپس جهت جداسازی حلال، نمونه‌ها در اواپراتور روتاری با دمای ۴۵ درجه‌ی سانتی‌گراد و با دور ۲۸۰ rpm قرار داده شدند. لازم به ذکر است که قطر متوسط ذرات تولید شده که به وسیله‌ی دستگاه تعیین

اندازه ذرات (ZEN3600, England) اندازه‌گیری شد، ۲۵/۷ ± ۵۴۴ نانومتر بود. همچنین برای بررسی میزان درون پوشانی ویتامین D3 در نانولیپوزوم‌های تولید شده، کلروفرم جهت تخریب کپسول نانولیپوزومی به آن اضافه شد و محلول به دست آمده با سرعت rpm ۸۰۰۰ سانتریفیوژ شد و پس از جداسازی فاز بالایی، میزان ویتامین D3 موجود در آن با استفاده از HPLC اندازه‌گیری شد و میزان کارایی درون پوشانی (نسبت مقدار ویتامین D3 درون پوشانی شده در نانولیپوزوم به مقدار کل ویتامین D3 اضافه شده در تولید نانولیپوزوم‌ها) ویتامین D3 حدود ۸۲ درصد بود.

طرح آزمایش

تعداد یک‌صدو بیست قطعه مرغ تخم‌گذار لگهورن (سن ۳۳ هفتگی، سویه‌ی تجاری های‌لاین W-80) در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار، ۵ تکرار و ۶ قطعه مرغ در هر تکرار به مدت ۶ هفته انجام شد. همه‌ی تیمارهای آزمایشی از یک جیره‌ی پایه یکسان تغذیه کردند و تیمارهای ۱ و ۲ به ترتیب ۳۳۰۰ و ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 و تیمارهای ۳ و۴ به ترتیب ۳۳۰۰ و ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل نانولیپوزوم ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک دریافت کردند (Table 1). میانگین وزن مرغ‌ها نزدیک به هم (۵۰ ± ۱۵۴۰ گرم) بود و طی دوره آزمایش به طور آزاد به آب و خوراک دسترسی داشتند و تا حد امکان شرایط محیطی برای همه‌ی گروه‌های آزمایشی یکسان و برنامه‌ی نوردهی به صورت ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی در نظر گرفته شد. مرغ‌های تخم‌گذار به مدت یک هفته قبل از شروع آزمایش جهت عادت‌دهی در شرایط آزمایش قرار گرفتند.

مصرف خوراک، تعداد تخم‌مرغ تولیدی و وزن تخم‌مرغ، به صورت هفتگی اندازه‌گیری شد و درصد تولید تخم‌مرغ و توده‌ی تخم‌مرغ (گرم) محاسبه گردید. با توجه به مصرف خوراک (گرم/ مرغ/ روز) و توده‌ی تخم‌مرغ (گرم/ مرغ/ روز) ضریب تبدیل خوراک نیز به صورت هفتگی محاسبه شد. کلیه‌ی صفات عملکردی مرغ‌ها به صورت دو دوره‌ی سه هفته‌ای (سه هفته اول، سه هفته دوم) و کل دوره گزارش شدند. به منظور اندازه‌گیری خصوصیات کیفی تخم‌مرغ، در پایان هفته‌های دوم، چهارم و ششم از دوره‌ی آزمایش (سنین ۳۵، ۳۷ و ۳۹ هفتگی مرغ‌ها)، دو عدد تخم‌مرغ از هر تکرار به صورت تصادفی انتخاب و به آزمایشگاه ارسال شدند. در آزمایشگاه با تقسیم قطر کوچک تخم‌مرغ بر قطر بزرگ شاخص شکل تخم‌مرغ محاسبه شد. سپس تخم‌مرغ‌ها شکسته و وزن پوسته، زرده و سفیده آن‌ها با دقت اندازه‌گیری شدند. ضخامت پوسته‌ی تخم‌مرغ با دستگاه ضخامت‌سنج عقربه‌ای (Karl Kolb, FE20، آلمان) با دقت ۰/۰۱ میلی‌متر در سه نقطه از پوسته‌ی تخم‌مرغ (انتهای باریک، انتهای پهن و وسط) اندازه‌گیری و میانگین آن‌ها به عنوان ضخامت نهایی پوسته در نظر گرفته شد. استحکام پوسته با استفاده از دستگاه مقاومت سنج مکانیکی (Karl Kolb، آلمان) تعیین شد. ارتفاع سفیده، واحد هاو و رنگ زرده توسط دستگاه اتوماتیک آنالیز تخم‌مرغ (EMT-5200, Robotmation Co. Ltd., Tokyo, Japan) اندازه‌گیری شد. کلیه‌ی صفات کیفی تخم‌مرغ‌ها همانند صفات عملکردی، به صورت دو دوره‌ی سه هفته‌ای (سه هفته اول، سه هفته دوم) و کل دوره گزارش شدند. مقدار کلسترول زرده مطابق با روش ارائه شده توسط Pasin و همکاران (۱۹۹۸) و به وسیله‌ی کیت آنزیمی پارس آزمون با دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۴۶ نانومتر اندازه‌گیری شد. محتوای ویتامین D3 با روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) و در آزمایشگاه معیار دانش پارس با شماره گزارش 98-LCL-2676، مطابق با روش Dunlop و همکاران (۲۰۱۷) اندازه‌گیری شد. داده‌ها پس از جمع‌آوری در نرم‌افزار اکسل ویرایش شده و به کمک نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱ مورد تجزیه تحلیل آماری قرار می‌گیرند. برای تجزیه‌ی واریانس از GLM و برای آزمون مقایسه‌ی میانگین از روش دانکن در سطح ۰/۰۵ درصد استفاده می‌شود.

نتایج

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف ویتامین D3 و نانولیپوزوم ویتامین D3 بر عملکرد مرغان تخم‌گذار در طی دوره‌های مختلف در Table 2 گزارش شده است. در سه هفته‌ی اول، سه هفته‌ی دوم و کل دوره آزمایش استفاده از سطوح حد نیاز (۳۳۰۰ واحد بین الملل) و ۵۰ درصد بیشتر (۴۹۵۰) از ویتامین D3 و نانولیپوزوم ویتامین D3 تأثیر معنی‌داری بر صفات عملکردی نظیر وزن تخم، درصد تولید، توده‌ی تخم و ضریب تبدیل خوراک نداشت. در سه هفته‌ی دوم از آزمایش، مصرف خوراک به هنگام استفاده از ۴۹۵۰ واحد بین الملل ویتامین D3 به صورت معنی‌داری بیش‌تر از سایر گروه‌ها بود.

Table 1. Composition and calculated analyses of the basal diet

Ingredients	Value
Corn	60.50
Soybean meal (44%CP)	23.75
Vegetable Oil	4.00
Di-calcium phosphate	1.80
Oyster shell	4.80
Limestone	4.00
Salt	0.22
Sodium bicarbonate	0.23
Dl-Methionine	0.20
Vitamin premix[1]	0.25
Mineral premix[2]	0.25
Calculated analysis	
Metabolisable energy (kcal /kg)	2931.7
Crude protein (%)	15.71
Calcium (%)	3.81
Available phosphorous (%)	0.45
Methionine + Cystine (%)	0.72
Lysine (%)	0.80

[1]Vitamin premix provided per kilogram of diet: vitamin A 2.4 mg; vitamin E 20 mg, vitamin K 2.2 mg, vitamin B1 1.5 mg, vitamin B2 4.0 mg, vitamin B3 8.0 mg, vitamin B5 35.0 mg, vitamin B6 2.5 mg, vitamin B9 0.5 mg, vitamin B12 10 µg, and choline, 468 mg.

[2]Mineral premix provided per kilogram of diet: Mn 80.0 mg; Fe 75.0 mg; Zn 64.0 mg; Cu 6.0 mg and Se 0.3 mg.

Table 2. Effect of different experimental treatments on the performance of laying hens during the experimental period

Treatments[1]	Feed intake (g)	Egg mass (g)	Egg production (%)	Egg weight (g)	FCR[2]
First three weeks of experiment					
3300 IU VitD	104.3	54.8	93.3	58.6	1.91
4950 IU VitD	104.0	51.8	89.5	57.5	2.02
3300 IU NVitD	99.8	52.9	90.8	58.2	1.89
4950 IU NVitD	100.7	51.1	87.9	57.9	1.97
P-value	0.38	0.35	0.42	0.22	0.30
SEM[3]	1.09	0.77	1.19	0.20	0.03
Second three weeks of experiment					
3300 IU VitD	105.4[b]	51.7	87.0	59.5	2.05
4950 IU VitD	110.7[a]	54.1	83.8	63.0	2.13
3300 IU NVitD	103.8[b]	48.3	82.5	59.3	2.13
4950 IU NVitD	103.1[b]	44.5	75.2	58.9	2.36
P-value	0.01	0.21	0.08	0.60	0.37
SEM	1.01	1.68	1.77	1.16	0.06
Whole experiment period					
3300 IU VitD	104.8	53.3	90.1	59.0	1.97
4950 IU VitD	107.6	52.9	86.7	60.3	2.06
3300 IU NVitD	101.8	50.5	86.5	58.8	2.01
4950 IU NVitD	101.9	47.8	81.5	58.4	2.14
P-value	0.10	0.24	0.11	0.76	0.42
SEM	0.95	1.07	1.33	0.60	0.04

[1] VitD= Vitamin D3; NVitD= Nanoliposomes of vitamin D3.
[2]Feed conversion ratio.
[3]Standard errors of means.
[a-b]Means within a column with different letters differ significantly ($P<0.01$).

نتایج حاصل از تأثیر سطوح مختلف ویتامین D3 و نانولیپوزوم ویتامین D3 بر صفات کیفی تخم‌مرغان تخم-گذار در پایان دوره‌ی آزمایش در Table 3 گزارش شده است. وزن تخم‌مرغ، رنگ زرده، واحد هاو، درصد زرده، درصد سفیده تخم‌مرغ و صفات کیفی پوسته نظیر مقاومت پوسته به شکستن، درصد پوسته و ضخامت پوسته تحت تأثیر تیمارهای مختلف قرار نگرفتند.

Table 3. Effect of different experimental treatments on egg quality traits

Treatments[1]	3300 IU VitD	4950 IU VitD	3300 IU NVitD	4950 IU NVitD	P-value	SEM[2]
Egg weight (g)	59.76	59.86	61.41	60.97	0.33	0.37
Haugh unit	92.60	91.78	92.87	93.96	0.36	0.43
Yolk weight (%)	26./48	26.86	27.32	26.55	0.32	0.17
Albumen weight (%)	60.36	59.62	59.08	60.00	0.11	0.19
Yolk colour	7.86	7.89	7.74	7.89	0.33	0.03
Shell weight (%)	13.15	13.51	13.58	13.44	0.55	0.11
Shell strength (kg per cm^2)	2.86	2.82	3.15	3.16	0.12	0.07
Shell thickness (mm)	0.40	0.39	0.39	0.40	0.61	0.002

[1] VitD= Vitamin D3; NVitD= Nanoliposomes of vitamin D3.
[2] Standard errors of means.

مطابق با Table 4 غلظت ویتامین و محتوای کلسترول زرده تخم‌مرغ‌ها تحت تأثیر تیمارهای مختلف آزمایشی قرار گرفتند. غلظت ویتامین D3 در زرده‌ی تخم‌مرغ تیمارهای حاوی ۳۳۰۰، ۴۹۵۰ واحد بین الملل ویتامین D3 و ۳۳۰۰، ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل نانولیپوزوم ویتامین D3 به ترتیب ۳/۸۹۷، ۶/۰۹۶ و ۱/۳۶۵ و ۵/۷۳۵ میکروگرم به ازای هر تخم‌مرغ بود. بالاترین غلظت ویتامین در گروه استفاده کننده از ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل ویتامین و به دنبال آن ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل نانولیپوزوم ویتامین مشاهده گردید. محتوای کلسترول تخم‌مرغ در تیمارهای حاوی ۳۳۰۰، ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 و ۳۳۰۰، ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل نانولیپوزوم ویتامین D3 به ترتیب ۳۹/۹۲، ۵۳/۸۸، ۵۶/۲۸ و ۵۶/۳۸ میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ بود. تیمارهای استفاده کننده از نانولیپوزوم ویتامین D3، محتوای کلسترول زرده‌ی تخم‌مرغ بالاتری نسبت به سایر تیمارها داشتند. افزایش غلظت ویتامین D3 در جیره از ۳۳۰۰ به ۴۹۵۰ باعث افزایش غلظت کلسترول زرده‌ی تخم‌مرغ از ۳۹/۹۲ به ۵۳/۸۸ میلی‌گرم به ازای هر تخم‌مرغ شد.

Table 4. Effect of different experimental treatments on the egg yolk vitamin D3 and cholesterol content

Treatments[1]	Cholesterol (mg/egg)	Vitamin D3 (mcg/egg)
3300 IU VitD	39.92[c]	3.897[b]
4950 IU VitD	53.88[b]	6.096[a]
3300 IU NVitD	56.28[a]	1.365[d]
4950 IU NVitD	56.38[a]	5.735[c]
P-value	0.0001	0.0001
SEM[2]	1.052	0.275

[1] VitD= Vitamin D3; NVitD= Nanoliposomes of vitamin D3.
[2] Standard errors of means.
[a-b] Means within a column with different letters differ significantly (P<0.01).

بحث

مقادیر ارائه شده برای احتیاجات ویتامین‌ها در NRC در سال ۱۹۹۴، مقادیر حداقلی هستند تا عوارض کمبود برطرف گردد و اگر هدف دستیابی به عملکرد بهینه و سلامتی باشد مقادیر مورد نیاز بالاتر از مقادیر پیشنهاد شده به عنوان حداقل احتیاجات می‌باشد. طبق مطالعات محققین، اگر هدف تقویت سیستم ایمنی و یا بهبود کیفیت فراورده‌های تولیدی نظیر تخم و گوشت در نظر گرفته شود، مقادیر مورد نیاز باز هم افزایش خواهد یافت (Hernandez et al. 2012). مقدار مورد نیاز ویتامین D3 برای مرغ تخم‌گذار، طبق جداول NRC در سال ۱۹۹۴، در حدود ۳۰۰ واحد بین الملل است که این مقدار برای سویه‌ی تجاری های‌لاین W80 به ۳۳۰۰ واحد افزایش یافته است. در مطالعه‌ی حاضر فرض بر این بود که با کپسوله کردن ویتامین، شاید بتوان با مقادیر حد نیاز سویه‌ی تجاری و یا ۵۰ درصد بیش‌تر از حد نیاز باعث بهبود عملکرد و غنی‌سازی تخم مرغ شد. اما همان طور که در جداول آمده است هیچ کدام از صفات عملکردی تحت تأثیر استفاده از خود ویتامین یا نانولیپوزوم آن قرار نگرفتند. تنها مصرف خوراک در سه هفته‌ی دوم آزمایش تحت تأثیر افزایش سطح ویتامین D3، افزایش یافت ولی در کل دوره تحت تأثیر قرار نگرفت. نتایج مطالعه‌ی حاضر تا حدودی با نتایج Adhikari و همکاران در سال ۲۰۲۰ هماهنگ است. این محققین گزارش کردند تولید تخم‌مرغ و وزن تخم‌مرغ در تمام هفته‌های آزمایش تحت تأثیر تیمارهای حاوی شکل‌های مختلف ویتامین D قرار نگرفت ولی مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۹۰۰۰ واحد بین الملل ویتامین D2 در کیلوگرم خوراک، مصرف خوراک کمتری داشتند (Adhikari et al. 2020). هم راستا با نتایج آزمایش حاضر Akbari Moghaddam Kakhki و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند که افزودن غلظت‌های مختلف مکمل ۲۵-هیدروکسی ویتامین D3 (۶۹ یا ۱۳۸ میکروگرم بر کیلوگرم) به جیره‌ی پایه حاوی ۳۳۰۰ واحد بین الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک تغییری در تولید تخم‌مرغ، مرغ‌های لوهمن لایت (۷۲ تا ۸۱ هفته) مشاهده نشد. مغایر با نتایج تحقیق حاضر، Wen و همکاران در سال ۲۰۱۹ که از غلظت‌های بسیار بالای ویتامین D3 استفاد کرده بودند، گزارش کردند تولید تخم مرغ در پرندگان (های‌لاین W36) تغذیه شده با سطح ۳۵۰۱۴ واحد بین الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک در مقایسه با مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی سطوح پایین ویتامین D3 (۸۳۴۸ و ۱۸۳۴۸ واحد بین الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک) به طور معنی‌داری افزایش یافت و توده‌ی تخم‌مرغ و ضریب تبدیل خوراک مرغ‌های تغذیه شده با ۳۵۰۱۴ واحد بین الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک در مقایسه با مرغ‌های تغذیه شده با ۶۸۳۴۸ ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک بهبود یافت (Wen et al. 2019). به نظر می‌رسد سطح بالای استفاده از ویتامین دلیل بهبود عملکرد در مطالعه‌ی این محققین باشد. در مطالعه‌ای دیگر Persia و همکاران در سال ۲۰۱۳ بیان کردند عملکرد مرغان تخم‌گذار و صفات کیفی تخم مرغ از سن ۱۹ تا ۵۸ هفته تحت تأثیر جیره‌های با غلظت‌های بالای ویتامین D3 (۱۰۲۲۰۰ واحد بین الملل) قرار نگرفت. این محققین اظهار داشتند که گنجاندن مداوم سطح بالای ویتامین تأثیری بر عملکرد مرغ تخم‌گذار یا کیفیت تخم‌مرغ در طی دوره‌ی تغذیه سن ۱۹ تا ۵۸ هفته نمی‌گذارد. همسو با نتایج تحقیق حاضر Plaimast و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که درصد تولید، وزن تخم‌مرغ، مصرف خوراک مرغان تخم‌گذار پوست قهوه‌ای تحت تأثیر سطوح مختلف ویتامین D3 (۲۰۰۰ و ۶۰۰۰ واحد بین‌الملل) جیره قرار نگرفت. در مقابل، Ameenuddin و همکاران در سال ۱۹۸۶ دریافتند که وزن تخم‌مرغ، در مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی D3 بالا (۲۰۰۰۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک) نسبت به مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌ی کنترل (۹۶۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک) کاهش یافته است که احتمالاً مربوط به بالا بودن بیش از حد سطح این ویتامین در جیره است. به نظر می‌رسد یکی از دلایل عدم تأثیرپذیری صفات عملکردی در مطالعه‌ی حاضر پایین بودن سطح استفاده از ویتامین D3 در جیره باشد. محققین نشان داده‌اند عوامل مختلفی نظیر تفاوت در شکل فیزیکوشیمیایی ویتامین، ساختار مواد خوراکی (تنوع و میزان اسیدهای چرب، فیبر خوراکی، غلظت ویتامین D، جایگاه این ویتامین در بافت‌های حیوانی یا گیاهی، شرایط عمل‌آوری خوراک و اندازه‌ی ذرات)، حضور یا عدم حضور ممانعت کنندها یا تسهیل کننده‌های ویتامین، تداخل بین مواد مغذی محلول در چربی موجود در مواد خوراکی و عوامل حیوانی نظیر بیماری، سن، شرایط تغذیه‌ای، چاقی، تفاوت‌های ژنتیکی، دسترسی زیستی

ویتامین D را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Maurya & Aggarwal 2017).

ارتفاع (ضخامت) سفیده و واحد هاو شاخص‌های مهمی برای ارزیابی کیفیت داخلی تخم‌مرغ هستند. همسو با نتایج آزمایش حاضر محققین نشان دادند به هنگام استفاده از غلظت‌ها (۳۰۰۰ و ۱۵۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک) و اشکال متفاوت آن (۱۵۰۰+ ۳۷/۵ میکروگرم ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3 و ۷۵ میکروگرم ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3) در جیره، صفات کیفی تخم-مرغ همانند واحد هاو، ارتفاع سفیده و ارتفاع زرده تحت تأثیر قرار نگرفت (Duffy et al 2017). همچنین Persia و همکاران در سال ۲۰۱۳ هیچ تفاوتی در واحد هاو تخم‌مرغ و کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ، مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌های حاوی غلظت‌های مختلف ویتامین D3 از ۲۲۰۰ تا ۱۰۲۲۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک نشان ندادند؛ در حالی که Park و همکاران در سال ۲۰۰۵ نشان دادند که با افزایش ویتامین D3 جیره (تا ۲۰۰۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک)، واحد هاو کاهش می‌یابد ولی قدرت شکستن پوسته‌ی تخم‌مرغ تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد. Wen و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند واحد هاو تخم‌مرغ، مرغ‌های تغذیه شده با ۸۳۴۸ و ۶۸۳۴۸ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک کم‌تر از گروه شاهد (۱۶۸۱)، و گروه‌های تغذیه شده با ۱۸۳۴۸ و ۳۵۰۱۴ واحد بین‌الملل بود. پاسخ‌های متناقض واحد هاو تخم‌مرغ در آزمایش‌های مختلف مربوط به تنوع غلظت ویتامین D3 جیره ممکن است حاوی این نکته باشد که این پارامتر به طور مستقیم با ویتامین D3 جیره مرتبط نیست و یا این که تفاوت‌های ذکر شده ممکن است از نظر بیولوژیکی به هم مرتبط نباشند. در آزمایش فعلی، هیچ تفاوتی در وزن تخم‌مرغ، وزن نسبی پوسته، وزن نسبی زرده، وزن نسبی آلبومین و ضخامت پوسته‌ی تخم‌مرغ در بین تیمارها مشاهده نشد. در راستای نتایج مطالعه‌ی حاضر افزودن ایزوفرم‌های مختلف ویتامین D، نظیر ویتامین D2، ویتامین D3 یا ۲۵- هیدروکسی ویتامین D3 تأثیر معنی‌داری بر پارامترهای کیفیت تخم‌مرغ نداشت (Adhikari et al. 2020). Mattila و همکاران در سال ۲۰۰۴، گزارش کردند که مصرف خوراک، توده‌ی تخم‌مرغ، واحد هاو، استحکام پوسته‌ی تخم-مرغ، وزن مخصوص و کلسیم موجود در پوسته‌های تخم‌مرغ به طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت‌ها و شکل‌های مختلف ویتامین D در جیره‌های آزمایشی قرار نمی‌گیرد.

در برخی مطالعات نشان داده شده است که کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ با افزایش ویتامین D3 یا متابولیت‌های آن به جیره افزایش می‌یابد. اما مقادیر مازاد آن ممکن است اثر منفی بر جای گذارد. بیشینه‌ی دامنه‌ی تغییرات محتوای ویتامین D3 طیور ۴ تا ۱۰ برابر حداقل احتیاجات است (NRC, 1994). Wen و همکاران در سال ۲۰۱۹ گزارش کردند هر دو شاخص کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ و قدرت شکستن پوسته‌ی تخم‌مرغ، در تیمارهای حاوی ویتامین D3 بالا نسبت به تیمار شاهد افزایش نشان دادند که افزایش ویتامین D3 جیره باعث بهبود کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ می‌شود. تفاوت در پاسخ‌های کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ به جیره‌های غذایی حاوی ویتامین D3 زیاد در مطالعات مختلف احتمالاً ناشی از تغییر در سن شروع مصرف جیره‌های آزمایشی است. بر اساس گزارش Wen و همکاران در سال ۲۰۱۹ استفاده از جیره‌های حاوی غلظت‌های بالای ویتامین D3 (۱۶۸۱ و ۸۳۴۸، ۳۵۰۱۴، یا ۶۸۳۴۸ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک) در کل دوره‌ی پرورش (قبل و بعد از شروع تولید) سبب بهبود در صفات کیفی پوسته‌ی تخم‌مرغ می‌شود. در مطالعه‌ای دیگر مقاومت پوسته به شکستن در مرغ‌های تغذیه شده با جیره‌ی حاوی ۲۴۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک بالاتر از مرغ‌هایی بود که از جیره‌ی حاوی ۳۰۰ واحد بین‌الملل ویتامین D3 در کیلوگرم خوراک تغذیه کردند (Zang et al. 2011). Plaimast و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که استفاده از ۶۰۰۰ واحد بین-الملل ویتامین D3 در مقابل ۲۰۰۰ واحد بین‌الملل در جیره‌های حاوی ۳/۵ درصد کلسیم، باعث بهبود صفات کیفی پوسته‌ی تخم‌مرغ شد. این محققین معتقد بودند

مکمل کردن جیره با ویتامین D3 می‌تواند اثرات منفی کلسیم پایین (۳/۵ درصد) بر کیفیت پوسته‌ی تخم‌مرغ در سیکل دوم تولید را خنثی کند. مقادیر بالای ویتامین D3 ممکن است از طریق افزایش تولید شکل فعال ویتامین D3 (۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول) در کلیه باعث بهبود صفات کیفی پوسته شوند (Plaimast et al. 2015). ۱ و ۲۵ دی‌هیدروکسی کوله کلسیفرول باعث تحریک سنتز پروتئین باند کننده‌ی کلسیم شده که برای انتقال کلسیم از غشاء روده و یا احتمالاً برای انتقال کلسیم برای پوسته‌سازی در غدد پوسته‌ساز ضروری است (Bar et al. 2008).

همان طور که نتایج نشان می‌دهند غلظت ویتامین D3 در زرده‌ی تخم‌مرغ با افزایش سطح ویتامین جیره افزایش یافت. مشابه نتایج تحقیق حاضر، نشان داده شده است با افزایش غلظت ویتامین D3 جیره، محتوای ویتامین زرده نیز افزایش می‌یابد (Wang et al. 2019). همچنین در مطالعه‌ای افزایش ۲/۵ برابری در محتوای ویتامین D زرده‌ی تخم‌مرغ مرغان تخم‌گذار پوسته‌ی تخم قهوه‌ای، با افزایش سطح ویتامین D3 جیره از ۲۰۰۰ به ۶۰۰۰ واحد بین‌الملل مشاهده شد (Plaimast et al. 2015). در مطالعه‌ی حاضر استفاده از تکنیک نانو لیپوزوم باعث کاهش انتقال ویتامین به زرده گردید که بر خلاف تصورات طراحی آزمایش بود (Table 4). احتمالاً دمای بالا و وجود روشنایی در سالن‌های پرورش طیور و نیز تأثیرپذیری نالیپوزوم ویتامین D3 در ترکیب جیره از سایر اقلام جیره از دلایل عدم حصول نتیجه‌ی مطلوب در آزمایش حاضر باشد. نشان داده شده است، لازمه‌ی پایدار نگهداشتن ویتامین D3 در نانولیپوزوم، تأمین دمای پایین (۴ درجه‌ی سانتی‌گراد) و تاریکی است (Mohammadi et al. 2014). این محققین معتقد بودند پتانسیل زتا با افزایش دما و در نتیجه تغییر ساختار بلوری لیپیدها، کاهش می‌یابد؛ بنابراین مواد فعال با سرعت بیش‌تری نشت می‌کنند و پایداری نانولیپوزوم کاهش می‌یابد (Mohammadi et al. 2014).

تخم‌مرغ در بین غذاهای با منشأ حیوانی منبع بسیار غنی از کلسترول است و کلسترول و استرهای آن فقط در زرده‌ی تخم‌مرغ یافت می‌شوند (Stadelmann & Cotterill 1995). میزان کلسترول موجود در تخم‌مرغ تحت تأثیر عوامل ژنتیکی، ترکیب جیره‌ی غذایی، شدت تخم‌گذاری و سن است. در مطالعه‌ی حاضر، سطح کلسترول موجود در زرده‌ی تخم‌مرغ به هنگام استفاده از نانولیپوزوم ویتامین D3 در جیره‌ی مرغان، افزایش یافت. احتمالاً یکی از دلایل افزایش کلسترول زرده، استفاده از کلسترول در تهیه‌ی نانولیپوزوم باشد. محققین نشان دادند که به منظور تهیه‌ی نانولیپوزوم ویتامین D3، به ازای هر ۰/۰۵ گرم ویتامین D3، ۰/۸۳۵ گرم کلسترول نیاز است (Mutalik et al. 2014). مطالعه‌ی حاضر نشان داد که با افزایش سطح ویتامین D3 در جیره‌ی مرغان (از ۳۳۰۰ به ۴۹۵۰ واحد بین‌الملل ویتامین)، سطح کلسترول زرده افزایش یافت. مشابه نتایج تحقیق حاضر در تحقیقات انسانی استفاده از مکمل ویتامین D باعث افزایش معنی‌دار غلظت لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین (۳/۲۳ میلی‌گرم بر دسی‌لیتر) در سرم شد (Wang et al. 2012) و این در حالی است که Talaei و Mashayekhi در سال ۲۰۱۵ رابطه‌ی معکوسی بین سطح ویتامین D و سطوح کلسترول تام، تری‌گلیسیرید و لیپوپروتئین‌های با چگالی پایین و رابطه‌ی مستقیمی بین سطوح این ویتامین با لیپوپروتئین‌های با چگالی بالا در جامعه‌ی انسانی مشاهده کردند. محققین نشان دادند که افزودن ویتامین D به جیره‌ی مرغ تخم‌گذار باعث افزایش ۱/۲۶ برابری غلظت این ویتامین در سرم گردید ولی تأثیری بر غلظت تری‌گلیسرید، کلسترول تام و لیپوپروتئین‌های با چگالی بسیار پایین نداشت (Turgut et al. 2006).

نتایج این تحقیق نشان داد که استفاده از مقادیر نیاز و بیش از نیاز ویتامین D3 و نانولیپوزوم ویتامین D3 در رژیم غذایی مرغ تخم‌گذار تأثیری بر عملکرد تولیدی مرغان تخم‌گذار و صفات کیفی تخم‌مرغ ندارد. محتوای ویتامین D3 زرده به هنگام استفاده از سطوح بالای ویتامین در جیره، افزایش یافت. استفاده از نانولیپوزوم ویتامین D3 باعث کاهش غلظت ویتامین D3 و افزایش کلسترول تام زرده نسبت به ویتامین شد که نیازمند مطالعات بیش‌تری است.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان به خاطر حمایت مالی و معنوی از این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافع توسط نویسندگان وجود ندارد.

منابع مالی

مقاله حاضر از طرح شماره ۹۷۱/۰۵ استخراج شده و از محل اعتبارات معاونت پژوهشی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان می‌باشد.

منابع

Adhikari, R., White, D., House, J. D., & Kim, W. K. (2020). Effects of additional dosage of vitamin D3, vitamin D2, and 25-hydroxyvitamin D3 on calcium and phosphorus utilization, egg quality and bone mineralization in laying hens. *Poultry Science*, 99(1), 364-373.

Akbari Moghaddam Kakhki, R., Heuthorst, T., Mills, A., Neijat, M., & Kiarie, E. (2019). Interactive effects of calcium and top-dressed 25-hydroxy vitamin D3 on egg production, egg shell quality, and bones attributes in aged Lohmann LSL-lite layers. *Poultry Science*, 98(3), 1254-1262.

Ameenuddin, S., Sunde, M. L., DeLuca, H. F., & Cook, M. E. (1986). Excessive cholecalciferol in a layers diet: decline in some aspects of reproductive performance and increased bone mineralisation of progeny. *British Poultry Science*, 27(4), 671-677.

Considine, T., Patel, H. A., Singh, H., & Creamer, L. K. (2007). Influence of binding conjugated linoleic acid and myristic acid on the heat-and high-pressure-induced unfolding and aggregation of β-lactoglobulin B. *Food chemistry*, 102(4), 1270-1280.

Duffy, S. K., Rajauria, G., Clarke, L. C., Kelly, A. K., Cashman, K. D., & O'Doherty, J. V. (2017). The potential of cholecalciferol and 25-hydroxyvitamin D3 enriched diets in laying hens, to improve egg vitamin D content and antioxidant availability. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 44, 109-116.

Dunlop, E., Cunningham, J., Sherriff, J., Lucas, R., Greenfield, H., Arcot, J., Strobel, N., & Black L. (2017). Vitamin D3 and 25-Hydroxyvitamin D3 content of retial white fish and eggs in Australia. *Nutrients*, 9, 1-15.

Garcia, A. F. Q. M., Murakami, A. E., do Amaral Duarte, C. R., Rojas, I. C. O., Picoli, K. P., & Puzotti, M. M. (2013). Use of vitamin D3 and its metabolites in broiler chicken feed on performance, bone parameters and meat quality. *Asian-Australasian journal of animal sciences*, 26(3), 408- 415.

Hernandez, J. M., Weber G., & Soto-Salanova M.F. (2012). The importance of optimum vitamin nutrition for the food chain. In: Barroeta A.C. et al., (Eds.), Optimum vitamin nutrition, in the production of quality animal foods. 5M Publishing, United Kingdom. pp: 11-41.

Holick, M. F. (2005). The vitamin D epidemic and its health consequences. *The Journal of nutrition*, 135(11), 2739S-2748S.

Kiely, M., & Black, L. J. (2012). Dietary strategies to maintain adequacy of circulating 25-hydroxyvitamin D concentrations. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*, 72, 14-23.

Mattila, P., Valaja, J., Rossow, L., Venäläinen, E., & Tupasela, T. (2004). Effect of vitamin D2-and D3-enriched diets on egg vitamin D content, production, and bird condition during an entire production period. *Poultry science*, 83(3), 433-440.

Maurya V. K., & Aggarwal M. (2017). Factors influencing the absorption of vitamin D in GIT: an overview. *Journal of Food Science and Technology*, 54, 3753-3765.

Mohammadi, M., Ghanbarzadeh, B., & Hamishehkar, H. (2014). Formulation of Nanoliposomal Vitamin D3 for Potential Application in Beverage Fortification. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 4(2), 569-575.

Morrissey, R. L., Cohn, R. M., Empson Jr, R. N., Greene, H. L., Taunton, O. D. & Ziporin, Z. Z. (1977). Relative Toxicity and Metabwolic Effects of Cholecalciferol and 25-Hydroxycholecalciferol in Chicks. *The Journal of nutrition*, 107(6), 1027-1034.

Mozafari, M. R., Khosravi-Darani, K., Borazan, G. G., Cui, J., Pardakhty, A., & Yurdugul, S. (2008). Encapsulation of food ingredients using nanoliposome technology. *International Journal of Food Properties*, 11(4), 833-844.

Mutalik, S., Salian, S., Avadhani, K., Menon, J., Joshi, H., & Hegde, A. (2014). Liposome encapsulated soy lecithin and cholesterol can efficiently replace chicken egg yolk in human semen cryopreservation medium. *Journal of Systems Biology in Reproductive Medicine*, 60(30), 183-188.

National Research Council. (1994). Nutrient requirements of poultry. National.

Park, S. W., Namkung, H., Ahn, H. J., & Paik, I. K. (2005). Enrichment of vitamins D3, K and iron in eggs of laying hens. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 18(2), 226-229.

Pasin, G., Smith, G. M., & O’mahony, M. (1998). Rapid determination of total cholesterol in egg yolk using commercial diagnostic cholesterol reagent. *Food Chemistry*, 61(1-2), 255-259.

Persia, M. E., Higgins, M., Wang, T., Trample, D., & Bobeck, E. A. (2013). Effects of long-term supplementation of laying hens with high concentrations of cholecalciferol on performance and egg quality. *Poultry Science*, 92(11), 2930-2937.

Plaimast, H., Kijparkorn S., & Ittitanawong, P. (2015). Effects of vitamin d3 and calcium on productive performance, egg quality and vitamin D3 content in egg of second production cycle hens. *Thai Journal of Veterinary Medicine*, 45(2), 189-195.

Stadelmann W.J., & Cotterill, O.J. (1995). Egg Science and Technology. The Harworth Press, Binghamton, pp.490.

Talaei A., & Mashayekhi, N. (2015). Correlation between metabolic syndrome and serum concentration of vitamin 25 (OH) D. *Iranian South Medical Journal*. 17(6), 1188-1194. (In Persian).

Turgut, L., Hayirli, A., Çelebi, Ş., Yörük, M. A., Gül, M., Karaoğlu, M., & Macit, M. (2006). The effects of vitamin D supplementation to peak-producing hens fed diets differing in fat source and level on laying performance, metabolic profile, and egg quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*. 19(8) 1179-1189.

Wang, H., Xia, N., Yang Y., & Peng, D. Q. (2012). Influence of vitamin D supplementation on plasma lipid profiles: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Lipids in Health and Disease*, 11(1), 1-9.

Wen, J., Livingston, K. A., & M Persia, M. E. (2019). Effect of high concentrations of dietary vitamin D3 on pullet and laying hen performance, skeleton health, eggshell quality, and yolk vitamin D3 content when fed to W36 laying hens from day of hatch until 68 wk of age. *Poultry Science*, 98(12), 6713-6720.

Zang, H., Zhang, K., Ding, X., Bai, S., Hernandez, J. M., & Yao, B. (2011). Effects of different dietary vitamin combinations on the egg quality and vitamin deposition in the whole egg of laying hens. *Brazilian Journal of Poultry Science*, 13(3), 189-196.

Received: 01.08.2020
Accepted: 22.05.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2021.265262.2340
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.10.4

مطالعه‌ی آناتومیکی حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن در گوسفند سنگسری از طریق تصاویر سی‌تی‌اسکن

حمید محی‌الدین[1]، بابک رسولی[2]* و ابولفضل دهقانی[3]

[1] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرمسار، گرمسار، ایران
[2] استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران
[3] دانش‌آموخته دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱۰/۱۷ پذیرش: ۱۳۹۹/۱۲/۵

چکیده

تکنیک‌های مدرن تصویربرداری تشخیصی این امکان را ایجاد می‌کنند که با بررسی دقیق ارگان‌ها و ساختارها در مقاطع و زوایای مختلف تصویر دقیقی از موقعیت و وضعیت آن‌ها به دست آید. به جهت کمبود اطلاعات تخصصی در زمینه‌ی حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن در گوسفندهای نژادهای ایرانی، این مطالعه با هدف ارزیابی وضعیت طبیعی این ساختارها از طریق تصاویر سی‌تی‌اسکن طراحی گردید. یافته‌های این مطالعه جهت بررسی آسیب‌ها در حفره‌ی بینی و سینوس‌ها و انجام اعمالی مانند شاخ‌بری و سینوسکوپی کمک‌کننده است. جهت انجام این مطالعه تعداد ۸ سر گوسفند نر نژاد سنگسری که در بررسی بالینی اولیه سالم بودند، مورد استفاده قرار گرفت. تصاویر از مقاطع طولی و عرضی تهیه شد و در بیشتر موارد تصاویر به صورت عمود بر استخوان کامی اخذ شد. همچنین دندان‌های گونه‌ای به عنوان راهنمای موقعیت تصویر در نظر گرفته شد. در این مطالعه مشخص‌گردید که در گوسفند نژاد سنگسری سینوس‌های آرواره‌ای، کامی، پیشانی و اشکی سینوس‌های اطراف حفره‌ی بینی را تشکیل می‌دهند که محدوده و جایگاه هر یک از آن‌ها در این مطالعه بررسی شده است. علاوه بر آن موقعیت و شکل بوقک‌ها و مجاری بینی مطالعه گردید. نتایج این بررسی نشان داد که حفره‌ی بینی و مجاری آن در گوسفند سنگسری به نسبت نشخوارکنندگان دیگر وسیع‌تر بوده و مجرای شکمی بینی وسعت زیادی دارد. موقعیت و تعداد سینوس‌های اطراف بینی با وجود تفاوت‌های اندک، همانند سایر نشخوارکنندگان و نژادهای دیگر گوسفند است. سی‌تی‌اسکن تصویر جامعی از اجزای ساختارهای موجود در ناحیه‌ی سر به ویژه حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن در گوسفند ارائه می‌دهد و روشی مناسب جهت تشخیص انواع نئوپلازی، تروما، بیماری التهابی عفونی و غیرعفونی در این ناحیه می‌باشد.

کلمات کلیدی: آناتومی، سی‌تی‌اسکن، گوسفند، حفره‌ی بینی، سینوس

مقدمه

بررسی آناتومی دقیق ناحیه‌ی سر از دو جهت دارای اهمیت است. این ناحیه اعضای حیاتی و مهمی همچون مغز، چشم، بینی و سینوس‌های اطراف بینی را در خود جای داده است. آسیب‌های مختلف در این ناحیه اثرات جدی بر سلامت و زندگی موجود زنده دارد. لذا مطالعه‌ی وضعیت آناتومیکی و پاتولوژیک آن‌ها بسیار مهم است. دومین جنبه‌ی اهمیت این است که به دلیل کوچک بودن نسبی سر و نزدیکی زیاد ارگان‌ها و ساختارها به یکدیگر

*نویسنده مسئول : بابک رسولی، استادیار گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

E-mail: b.rasouli@semnan.ac.ir

تشخیص اجزا و عوارض مربوط به آن‌ها بسیار مشکل است و ممکن است تداخلاتی در حین تشخیص پدید آید که روند درمان را مختل کند. یکی از مشکلات تصاویر رادیوگرافی این است که در یک تصویر تمام ساختارها روی هم افتاده و فرایند تشخیص را با مشکل روبرو می‌کند (Masoudifard et al. 2008). بنابراین ارزیابی ساختارهای داخل نواحی کوچک‌تر و باریک‌تر ناحیه‌ی سر، مانند حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن با رادیوگرافی ساده عملاً امکان‌پذیر نیست. اما روش‌های تصویربرداری پیشرفته نظیر سی‌تی‌اسکن و ام‌آر‌آی می توانند جهت بررسی سر از زوایای مختلف طولی، عرضی و پشتی و نیز نماهای مختلف بافت نرم و سخت به ما کمک کنند. تصاویر سی‌تی‌اسکن با ارایه‌ی مقاطع عرضی از ناحیه‌ی سر، امکان تعیین محدوده‌ی ساختارهای مختلف و ارتباط آن‌ها را فراهم می‌آورد (Tshering et al. 2016, Crinjs et al. 2016).

در بررسی سی‌تی‌اسکن ناحیه‌ی سر، سینوس‌ها و بوقک‌ها و مجاری بینی به دلیل قرار گرفتن در کنار هوا و کنتراست بالا وضوح قابل توجهی دارند. از سوی دیگر ارگان‌هایی مانند چشم و مغز به دلیل قرار گرفتن در پوششی از بافت چربی از ساختارهای دیگر کمتر متمایزاند. تشخیص دقیق اجزای آن‌ها احتیاج به روش‌هایی مانند ام آر آی دارد (El-Gendy et al. 2014, Onuk et al. 2013). این اطلاعات علاوه بر کمک به تشخیص و درمان بیماری‌ها در مطالعه‌ی عملکرد و آناتومی این ساختارها و تعمیق دانش بشر در این زمینه نیز بسیار راهگشاست. با توجه به محدود بودن مطالعات صورت گرفته در این زمینه، هدف از این مطالعه بررسی آناتومیکی حفره‌ی بینی و سینوس‌ها از طریق تصاویر سی‌تی‌اسکن است تا با انطباق یافته‌ها با منابع آناتومیکی و مطالعات گذشته، نتایجی قابل استفاده برای دامپزشکان در اقدامات بالینی ارایه نماید. این یافته‌ها جهت بررسی آسیب‌های ناحیه‌ی سر، به ویژه در حفره‌ی بینی و سینوس‌ها کمک است. همچنین تعیین موقعیت دقیق سینوس‌ها و مجاری بینی در بررسی‌های پیش از اعمال جراحی مانند شاخ‌بری و سینوسکوپی در گوسفند مفید است. از سوی دیگر بررسی سی‌تی‌اسکن ناحیه‌ی سر در گوسفند به دلیل برخی شباهت‌های آناتومیکی با انسان به عنوان یک مدل حیوانی کاربرد دارد. این نتایج می‌تواند در مطالعات پژوهشی و آموزش‌های پزشکی مانند جراحی‌های مختلف گوش داخلی و میانی در انسان قابل استفاده باشد (Schnable et al. 2012, Tshering et al. 2016, El Sissi 2017).

پیش از این مطالعاتی پیرامون سی‌تی‌اسکن ناحیه‌ی سر در حیوانات مختلف صورت گرفته است. Shojaei و همکاران در ۲۰۰۸ سینوس‌های اطراف بینی را در بز رائینی از طریق سی‌تی‌اسکن مورد مطالعه نمودند. همچنین مطالعاتی با همین موضوع توسط Badlangana و همکاران در سال ۲۰۱۱ در زرافه و Alsafy و همکاران در سال ۲۰۱۳، در گاومیش صورت گرفت. El-Gendy و همکاران در ۲۰۱۴ سی‌تی‌اسکن سر را در الاغ انجام دادند. در سال ۲۰۱۷، Moawad و همکاران ساختمان اندام جاکوبسن را در نژادهای مختلف بز از طریق سی‌تی‌اسکن مورد ارزیابی قراردادند. در سال ۲۰۱۷ Crijns و همکاران مقایسه‌ای را پیرامون ارزیابی شکستگی‌های جمجه اسب به دو روش رادیولوژی و سی‌تی‌اسکن انجام دادند و بیان کردند که برخی شکستگی‌هایی که در نواحی اطراف حفره‌ی بینی قرار دارند تنها از طریق سی‌تی‌اسکن قابل تشخیص‌اند. در سال ۲۰۱۷ El sissi و همکاران، و در سال ۲۰۱۹ Awaad و همکاران به ترتیب مطالعاتی را پیرامون این موضوع بر روی نژادهای نروژی و مصری گوسفند انجام دادند. اگر چه تا کنون منبعی پیرامون بررسی حفره‌ی بینی و سینوس‌ها از طریق سی‌تی‌اسکن در نژادهای ایرانی گوسفند به ثبت نرسیده است. از آن جایی که گوسفند نژاد سنگسری به عنوان یک نژاد بومی ایران مطرح است، تعیین معیارها و مشخصات آناتومیکی حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن با روش‌های تصویربرداری پیشرفته ضروری به نظر می‌رسد. نتایج حاصل از این مطالعه می‌تواند در تهیه‌ی اطلس‌های آناتومی، ارزیابی شاخص‌های بیومتریک و تشخیص اختلالات و جراحات حفره‌ی بینی و ناحیه‌ی سر در گوسفند کاربردی باشد.

مواد و روش کار

جهت انجام این مطالعه تعداد ۸ سر گوسفند نر نژاد سنگسری تایید شده از طرف سازمان دامپزشکی و دامنه سنی ۱ الی ۲ سال که در بررسی‌های بالینی سالم بودند از کشتارگاه تهیه گردید.تعیین سن با استفاده از فرمول دندانی حیوانات انجام گرفت. میانگین وزن گوسفندان بین ۴۰ تا ۵۰ کیلوگرم ثبت گردید.

جهت تصویربرداری به روش سی‌تی‌اسکن، نمونه‌ها در سریع‌ترین زمان ممکن (کمتر از پنج ساعت) به مرکز تصویربرداری منتقل شده و تصاویر از مقاطع طولی و عرضی تهیه شد. در بیشتر موارد تصاویر سی‌تی‌اسکن به صورت سریالی عمود بر استخوان کامی تهیه شد. جهت انجام این مطالعه از دستگاه سی‌تی‌اسکن مدل سوماتوم اسپیریت ساخت شرکت زیمنس کشور آلمان استفاده شد. تنظیمات تکنیکی دستگاه ۱۰۰ کیلوولت، ۷۱ میلی‌آمپر و ۲۰۰۰WINDOW WIDTH و WINDOW LEVEL ۴۰۰ قرار داده شد و مدت زمان اسکن نیز ۱ ثانیه در نظر گرفته شد. نتایج حاصل از آن توسط نرم‌افزار مارکوپکس محصول شرکت تحولات نوین یادمان طبقه‌بندی و ذخیره شد. لازم به ذکر است که در تصاویر از مقاطع عرضی ناحیه‌ی سر شماره دندان‌های گونه‌ای به عنوان راهنمای موقعیت تصاویر در نظر گرفته شد. در ادامه ساختارهای موجود در تصاویر به وسیله‌ی رفرنس‌های آناتومی نام‌گذاری و ارزیابی شدند.

نتایج

در تصویر تهیه شده از برش سهمی ناحیه‌ی سر که بسیار به تیغه‌ی میانی نزدیک است، علاوه بر سینوس پیشانی لابیرنت‌های استخوان پرویزنی نیز در زیر آن به خوبی نمایان هستند. به دلیل عدم انطباق این برش بر صفحه‌ی میانی بدن و همچنین جا به جایی حنجره مقطع طولی این عضو در تصویر دیده نمی‌شود. برش طولی از زبان که در تصویر مشخص است ساختار کلی و تغییرات ضخامت در طول این عضو را به خوبی نمایان می‌کند (Figure 1).

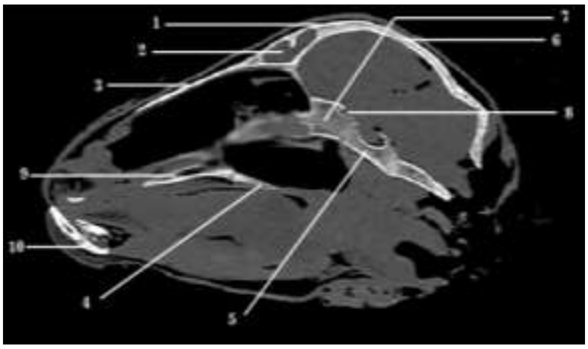

Figure 1. Scout view of the head.
1. Frontal bone, 2. Frontal sinus, 3. Nasal bone, 4. Mandible, 5. Basi-sphenoid bone, 6. Parietal bone, 7. Pre-sphenoid bone, 8. Optic nerve, 9. Maxillary bone, 10. Palatine bone.

در تصاویر اخذ شده از برش‌های عرضی در موقعیت سومین و چهارمین دندان گونه‌ای وسعت و محدوده‌ی بوقک‌های پشتی و شکمی و مجاری بینی قابل مشاهده است. مجاری بینی در این تصاویر به صورت وسیع دیده می‌شوند و فضای مشترک بینی وسیع‌ترین آن‌هاست. همچنین بوقک‌ها اتصالاتی با دیواره‌های جانبی حفره‌ی بینی دارند که به نوعی از نظر بافت مخاطی بوقک‌ها را پشتیبانی می‌کند. کام سخت هم در بالای زبان قرار دارد و نوع بافت آن بافت استخوانی اسفنجی قابل مشاهده است. در این تصاویر قسمت بالایی تیغه‌ی میانی بینی به صورت غضروفی T شکل و بخش پائینی آن که شامل استخوان ناودانی و عضو جاکوبسن یا وومرونازال است دیده می‌شود. این عضو به صورت دو مجرا در طرفین استخوان ناودانی بود و توسط غضروف‌هایی حمایت می‌شد. ساختار زبان و تفاوت در نسج عضلانی بخش‌های قشری و مرکزی آن و همچنین برجستگی زبانی مشخص‌است. به علاوه تمامی عضلات زیرزبانی در تصاویر سی‌تی‌اسکن به خوبی قابل مشاهده بود. در تصاویر سینوس‌های کامی و آرواره‌ای و منفذ ارتباطی آرواره ای–کامی بخوبی مشخص بود. در این تصویر کانال بینی– اشکی در سمت جانب بوقک شکمی و کانال تحت-حدقه‌ای در مجاورت سینوس آرواره‌ای (ماکزیلاری) دیده می‌شود. لذا چهارمین دندان گونه‌ای محدوده‌ی ابتدایی این دو ساختار در نظر گرفته می‌شود (Figure 2 & 3).

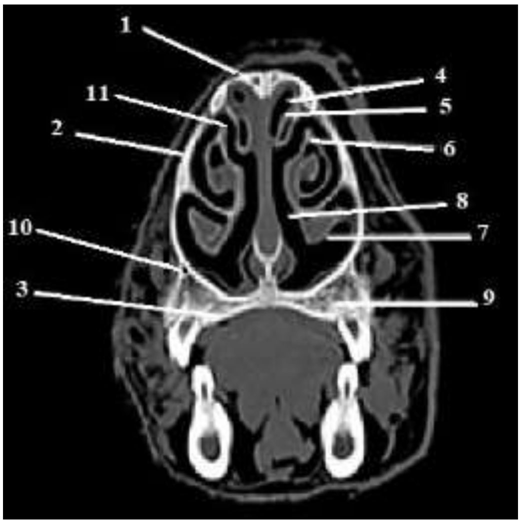

Figure 2. Transverse image through the 3rd cheek tooth.
1. Nasal bone, 2. Maxillary bone, 3. Palatine process of maxillary bone, 4. Dorsal meatus, 5. Dorsal concha, 6. Dorsal lamella of the ventral concha, 7. Ventral lamella of ventral concha, 8. Common meatus, 9. Sphenoid sinus, 10. Supra orbital canal, 11. Middle meatus.

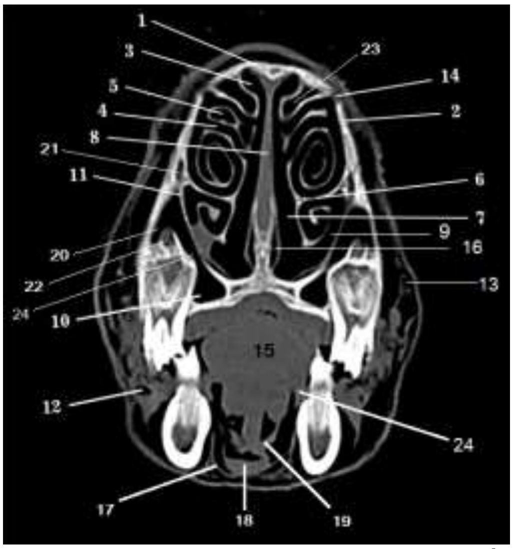

Figure 3. Transverse image through the 4th cheek tooth.
1. Nasal bone, 2. Maxillary bone, 3. Dorsal meatus, 4. Middle meatus, 5. Dorsal concha, 6. Ventral concha, 7. Common meatus, 8. Nasal septum, 9. Ventral meatus, 10, Palatine sinus, 11. Naso-maxillary opening 12. Ventral labial vein, 13. Facial vein, 14. Naso-maxillary fissure, 15. Linguae, 16. Jacobson organ, 17. Mylohyoid muscle, 18. Genio-hyoid muscle, 19. Genioglossal muscle, 20. Maxillary sinus, 21. Naso-maxillary canal, 22. Infra-orbital canal, 23. Concho-frontal sinus, 24. Stylo-glossal muscle.

در مقاطع عرضی موقعیت پنجمین و ششمین دندان گونه‌ای، سینوس پیشانی در بالاترین ناحیه مشخص است و صفحات استخوانی این سینوس را به بخش‌های میانی و جانبی تقسیم می‌کند. در این تصاویر سینوس کامی دیده می‌شود ولی ارتباطی با سینوس آرواره‌ای ندارد. حفره‌ی چشم به صورت توده‌ای سیاه رنگ و با دانسیته‌ی پایین دیده شد که به دلیل ترکیب با بافت‌های چربی و پیوندی بود. حباب اشکی و سینوس اشکی در کنار چشم‌ها به شکل حفراتی مشخص بودند. در این تصاویر بوقک میانی نیز در کنار بوقک‌های دیگر دیده شد (Figure 4 & 5). بافت زبان به خصوص نسبت به برش‌های نواحی نزدیک به پوزه یک‌دست و شبیه بخش مرکزی آن بوده و ماهیچه‌های زیرزبانی با توجه به نزدیکی به ریشه‌ی زبان به هم نزدیک‌تر شده و کمتر قابل تشخیص از هم می‌باشند. در ناحیه‌ی میانی این تصاویر بوقک پرویزنی و در پایین آن مجرای بینی- حلقی و صفحه‌ی جداکننده‌ی آن، تیغه‌ی حلقی دیده می‌شود. در تصاویر کانال فوق حدقه‌ای دیده می‌شود، لذا شروع این مجرا در موقعیت ششمین دندان گونه‌ای است (Figure 5).

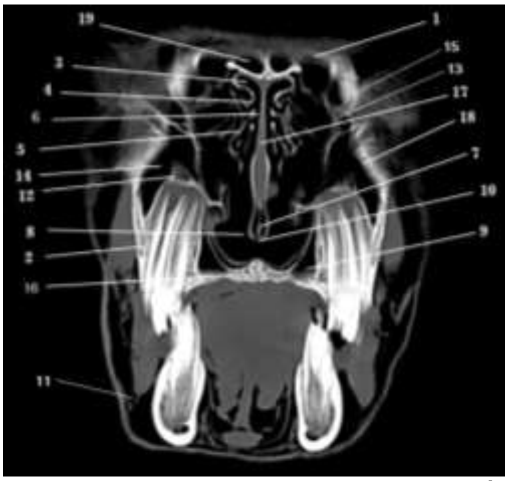

Figure 4. Transverse image through the 5th cheek tooth.
1. Frontal bone, 2. Maxillary bone, 3. Dorsal meatus, 4. Dorsal concha, 5. Middle concha, 6. Common meatus, 7. Vomer bone, 8 Nasopharyngeal duct, 9. Palatine sinus, 10. Pharyngeal septum, 11. Facial vein, 12. Infraorbital canal, 13. Nasolacrimal canal, 14. Maxillary sinus, 15. Lacrimal bone, 16. Palatine bone, 17. Nasal septum, 18. Zygomatic bone, 19. Medial compartment of frontal sinus.

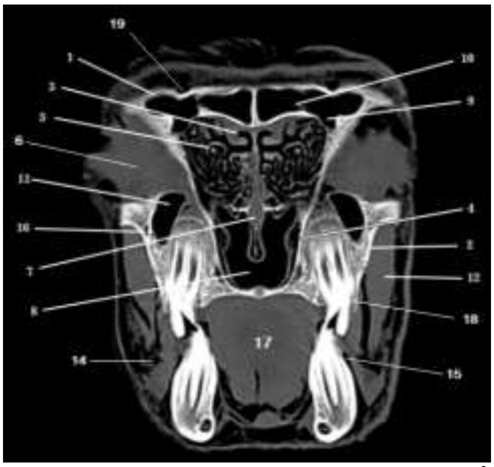

Figure 5. Transverse image through the 6th cheek tooth.

1.Frontal sinus, 2. Maxillary bone, 3. Dorsal meatus, 4. Perpendicular part of palatine bone, 5. Ethmoidal labyrinth, 6. Orbital cavity, 7. Vomer bone, 8. Nasopharyngeal duct, 9. Lateral compartment of frontal sinus, 10. Medial compartment of frontal sinus, 11. Lacrimal bulla, 12. Masseter muscle, 13. Medial pterygoid muscle, 14. Transverse facial artery. 15. Deep facial vein, 16. Zygomatic bone, 17. Lingua, 18. 6th cheek tooth, 19. Supraorbital canal.

در مقطع عرضی از موقعیت میانی کره چشم سینوس پیشانی دیده می‌شود و سینوس اشکی نیز بر خلاف تصاویر قبلی قابل دیدن است. دندان‌های آسیای بالا و بخش عمودی استخوان کامی در دو انتهای حفره‌ی بینی و زیر حباب اشکی به خوبی دیده می‌شوند. از آن جایی که به انتهای بدنه استخوان فک پائین نزدیک می‌شویم مقاطع این استخوان به خوبی مشخص هستند و بافت استخوانی اسفنجی آن در تصاویر قابل تشخیص هستند. در این تصاویر مقاطع عضلات جوشی و رجلی میانی نیز قابل مشاهده بود (Figure 6).

در مقطع عرضی از موقعیت ناحیه‌ی عقبی حدقه که از میانه‌ی مغز می‌باشد، خروجی حفره‌ی چشم نیز دیده می‌شود. این دو بافت در تصاویر به طور کامل قابل تمایز نیستند که این نشان از حساسیت اندک این روش به دانسیته‌های متفاوت بافتی، به خصوص بافت‌های نرم است. استخوان پیش پروانه‌ای در زیر مغز قرار گرفته و از سطح شکمی مغز را نگهداری می‌کند. در این تصویر از بین سینوس‌های مختلف تنها بخش جانبی سینوس پیشانی دیده می‌شود. در این تصویر کام نرم در موقعیت پشتی زبان قابل مشاهده است (Figure 7).

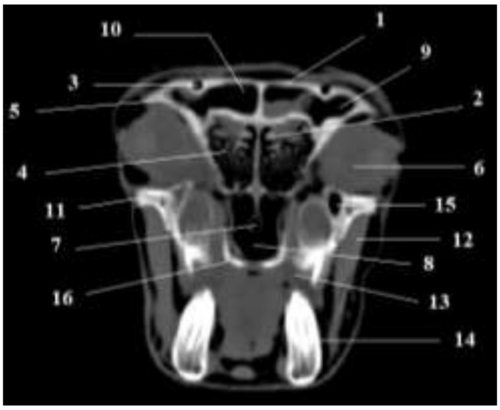

Figure 6. Transverse image through the middle of the eyeball.

1. Frontal bone, 2. Lacrimal bulla, 3. Supra orbital foramen, 4. Ethmoidal concha, 5. Zygomatic process of frontal bone, 6. Eyeball, 7. Pharyngeal septum, 8. Nasolacrimal duct, 9. Lateral compartment of frontal sinus, 10. Medial compartment of frontal sinus, 11. Temporal process of zygomatic bone, 12. Masseter muscle 13. Medial pterygoid muscle, 14. Body of mandible, 15. Lacrimal bulla, 16. Perpendicular part of palatine bone.

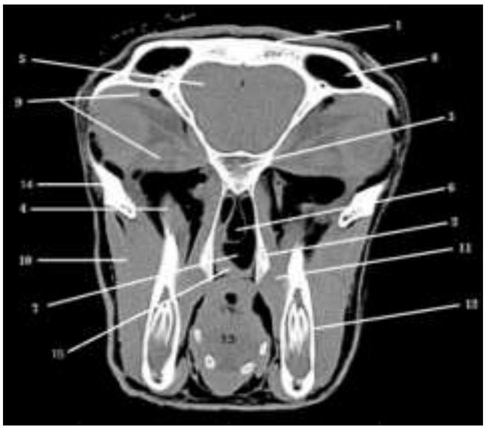

Figure 7. Transverse image through the caudal part of orbit.

1. Frontal bone, 2. Pterygoid bone, 3. Pre sphenoid bone, 4. Parietal bone, 5. Frontal lobe of cerebrum, 6. Pharyngeal septum, 7. Nasopharyngeal duct, 8. Lateral compartment of frontal sinus, 9. Periorbital muscles, 10. Masseter muscle, 11. Medial pterygoid muscle, 12. Ramus of mandible, 13. Lingua, 14. Zygomatic bone, 15. Soft plate.

بحث

یکی از ساختارهایی که به واسطه‌ی اهمیت و پیچیدگی زیاد، بیش از سایرین مورد توجه می‌باشد سینوس‌های اطراف حفره‌ی بینی است. در این مطالعه، مشخص‌گردید که گوسفند سنگسری دارای سینوس‌های پیشانی، آرواره‌ای، کامی و اشکی است. در مطالعات انجام گرفته بر روی گوسفند نژاد مصری مشخص گردید که سینوس کامی به صورت مشخص در این نژاد وجود ندارد ولی سینوس پروانه‌ای دیده می‌شود. این مشاهدات با مطالعه‌ی حاضر و مطالعه‌ی انجام گرفته در گوسفند نروژی در تناقض است (Awaad et al. 2019, El Sissi et al. 2107).

سینوس پیشانی گوسفند سنگسری در دو طرف چپ و راست توسط یک تیغه از هم به دو بخش میانی و جانبی تقسیم شده‌اند. این مطلب پیرامون گوسفند نروژی، بز و الاغ نیز مطابقت دارد و با نشخوارکننده‌ی بزرگ متفاوت است. در گوسفند نژاد مصری این سینوس سه قسمتی است. در الاغ سینوس پیشانی از موقعیت جلویی با بخش مسدود شده بوقک پشتی یکی شده و سینوس پیشانی–بوقکی را تشکیل می‌دهند که با مجرای میانی بینی ارتباط دارد (Awaad et al. 2019, El-Gendy et al. 2014, El Sissi et al. 2107). بررسی تصاویر سی‌تی‌اسکن گوسفند سنگسری همچنین ساختاری را با وسعت کمتر نشان می-دهد. این ویژگی در گاومیش نیز گزارش شده است (Alsafy et al. 2013). محدوده‌ی ابتدایی این سینوس در نژادهای مختلف گوسفند به نسبت بز جلوتر و در پنجمین دندان گونه‌ایست ولی در بز در عقب ناحیه‌ی آلوئولی و در میانه‌ی حدقه است (Awaad et al. 2019, Shojaei et al. 2008).

سینوس پیشانی در گوسفند، شتر و سایر علفخواران گستردگی قابل توجهی دارد. زرافه و خوک وحشی (*Phacochoerus aethiopicus*) دارای سینوس نسبتاً گسترده‌تر بوده علاوه بر استخوان آهیانه، تا استخوان گیجگاهی و حتی استخوان پس‌سری نیز پیش می‌رود. تفسیر پیرامون گستردگی و ارتباط این ساختار را می‌توان با عملکرد جمجمه ارزیابی نمود. گستردگی این سینوس در واقع برای تأمین نیازهای فیزیولوژیک مانند گرم کردن هوای ورودی به حنجره، افزایش جریان هوا در اطراف مغز، جلوگیری از سنگینی بیش از حد سر و همچنین کاهش هزینه‌ی ساخت توده‌ی استخوانی برای حیوان طراحی شده است (Badlangana et al. 2011). همانند سایر نشخوار-کنندگان کانال فوق حدقه‌ای در مجاورت سینوس پیشانی دیده می‌شود (El Sissi et al. 2107) در مطالعات Onuk و همکاران در سال ۲۰۱۳ مشخص گردید که در بز و گوسفند این کانال در موقعیت جلویی سوراخ فوق حدقه‌ای قرار می‌گیرد که با مشاهدات ما هم‌خوانی دارد (Madkour et al. 2016).

سینوس آرواره‌ای در الاغ از سومین دندان گونه‌ای آغاز شده با یک تیغه‌ی استخوانی نازک ناقص به دو بخش جلویی و عقبی تقسیم می‌شود. همچنین تیغه‌ای به صورت کوچک‌تر در این مطالعه و مطالعه‌ی Shojaei و همکاران در سال ۲۰۱۸ در بز در محدوده‌ی چهارمین دندان گونه‌ای مشاهده شد. این تیغه به شکل کامل‌تری در اسب گزارش شده است (De Zani et al. 2010, D'Août et al. 2015, El-Gendy et al. 2014). به نظر می‌رسد که ابتدای محدوه-ی این سینوس همانند بز در چهارمین دندان گونه‌ایست و بخش جلویی و کوچک‌تر آن متمایل به موقعیت میانی و در مجاورت کانال تحت حدقه‌ای قرار می‌گیرد. این بخش از سینوس آرواره‌ای در همین ناحیه با سینوس کامی از طریق مجرای آرواره‌ای – کامی مرتبط است. وجود این منفذ ارتباطی در نشخوارکنندگان دیگر مانند گاومیش، بز و گاو نیز گزارش شده است (Konig & Liebich 2020). بین سینوس آرواره‌ای و پیشانی همانند شتر ارتباطی مشاهده نشد. اگر چه این ارتباط در اسب و گوسفند نژاد نروژی وجود دارد (De Zani et al. 2010).

سینوس آرواره‌ای در گوسفند نژاد مصری وسیع‌تر بوده و از محدوده‌ی دومین دندان گونه‌ای تا بعد از آخرین دندان گونه‌ای محدوده‌ی این حفره‌ی مخروطی شکل است. اگر

چه از لحاظ دو قسمتی بودن با یافته‌های این تحقیق و مطالعه‌ی مربوط به نژاد نروژی مطابقت دارد (Awaad et al. 2019, El Sissi et al. 2107).

کانال تحت حدقه‌ای در محدوده‌ی سومین تا پنجمین دندان گونه‌ای و سینوس کامی در محدوده‌ی چهارمین و پنجمین دندان گونه‌ای مشاهده شد که از این نظر با بز مشابهت داشته و با شتر متفاوت است. همچنین سینوس پروانه‌ای در بز و گوسفند وجود ندارد ولی در شتر و گاو دیده می‌شود (Alsafy et al. 2013). سینوس اشکی تنها در محدوده‌ی میانی حفره‌ی چشمی دیده شد و برخلاف آنچه در گاومیش و گاو مشاهده شده ارتباطی با سینوس آرواره‌ای نداشت. این سینوس با بخش جانبی سینوس پیشانی در ارتباط است (El-Gendy et al. 2014, Konig and Leibich 2020).

در مطالعه‌ی حاضر مشخص‌گردید که شکل و تعداد بوقک‌ها و مجاری بینی با منابع آناتومی و سایر نشخوار-کنندگان مطابقت دارد. بوقک‌ها شامل پشتی، شکمی، پرویزنی و همچنین بوقک کوچک و محدود شده‌ی میانی بود. با این وجود اندازه‌ی مجاری بینی در گوسفند و گاومیش به نسبت بز و شتر وسیع‌تر به نظر می‌آید. این اختلافات به دلیل تفاوت‌ها در شکل جمجمه، شرایط محیط زندگی و عادت‌های حیوان است. در اکثر حیوانات همانند گوسفند وسیع‌ترین این مجاری متعلق به مجاری شکمی و مشترک بینی است (El-Gendy et al. 2014, Konig and Leibich 2020).

در این مطالعه تیغه‌ی میانی بینی به صورت غضروف T شکل دیده شد که از پایین به وسیله‌ی استخوان ناودانی حمایت شده و در محدوده‌ی دندان ۵ گونه‌ای از کف حفره‌ی بینی فاصله می‌گرفت. در مطالعات انجام شده بر روی شتر و تک‌سمیان این تیغه به همراه استخوان ناودانی تا انتهای حفره‌ی بینی امتداد می‌یابد و مشاهدات ما با نشخوارکنندگانی مانند بز و گاومیش سازگاری بیشتری دارد (Alsafy et al. 2013, Konig 2020, Leibich, Shojaei et al. 2008). همچنین اندام جاکوبسن یا تیغه‌ای بینی به صورت دو لوله‌ی باریک در طرفین قاعده‌ی استخوان ناودانی دیده شد که با مشاهدات پیرامون این ساختار در بز و گوسفندهای نژاد مصری و نروژی سازگاری دارد (El Sissi et al. 2107, Moawad et al. 2017, Awaad et al. 2019).

در نهایت می‌توان گفت که با وجود این که سی‌تی‌اسکن تصویر جامعی از اجزای موجود در ناحیه‌ی سر به ویژه حفره‌ی بینی و سینوس‌ها ارایه می‌دهد، توصیه کردن به استفاده از آن در مورد گوسفند باید با توجه به هدف مورد نظر صورت گیرد. چنان چه رویکرد درمانی در دام‌های صنعتی مورد نظر باشد به دلیل هزینه‌های بالا و تعداد زیاد دام‌ها این روش توصیه نمی‌گردد. اما در مورد قوچ‌هایی که قیمت بالایی دارند و هم از نظر حفظ ذخایر ژنتیکی مورد توجه هستند، این تحلیل هزینه به نفع انجام تصویربرداری است. در این موارد انواع نئوپلازی، تروما، بیماری‌های التهابی عفونی و غیرعفونی حفره‌ی بینی و سینوس‌ها و حتی آسیب‌های سایر نواحی سر مانند دندان‌ها می‌توانند از طریق سی‌تی‌اسکن تشخیص داده شوند. در این مطالعه مشخص-گردید که الگوی کلی حفره‌ی بینی و سینوس‌های اطراف آن از شکل کلی سایر نشخوارکنندگان و نژادهای دیگر گوسفند تبعیت می‌کند. اگر چه شباهت‌های بیشتری با گوسفند نژاد نروژی دارد. به منظور ارزیابی دقیق بافت‌های نرم و ساختارهای دیگر روش‌هایی مانند MRI و سی‌تی-اسکن سه بعدی توصیه می‌شود. به علاوه جهت مطالعات تکمیلی، بررسی چگونگی پیدایش و تکامل سینوس‌ها در دوره‌های سنی مختلف اعم از قبل و پس از تولد پیشنهاد می‌شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان این مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه سمنان، برای حمایت مالی از این کار تشکر می‌کنند.

تعارض منافع

بین نویسندگان هیچ گونه تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع مالی

منابع مالی و تجهیزاتی این مقاله توسط دانشگاه سمنان تأمین گردیده است.

منابع

Awaad, A.S., Abdel Maksoud, M.K.M., Fathy M.Z. (2019). Surgical anatomy of the nasal and paranasal sinuses in Egyptian native sheep (Ovis aries) using computed tomography and cross sectioning. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 48(4):279-289.

Alsafy, M.A., El-Gendy, S.A., Abumandour, M.M. (2014). Computed tomography and gross anatomical studies on the head of one-humped camel *(Camelus dromedarius). Anatomical Recrords.* 297(4), 630 42.

Alsafy, M.A., El-Gendy, S.A., El Sharaby, A.A.(2013). Anatomic reference for computed tomography of paranasal sinuses and their communication in the Egyptian buffalo *(Bubalus bubalis). Anatomia, Histologia, Embryologia*. 42(3),220-31.

Badlangana, N.L., Adams, J.W., Manger, P.R. (2011). A comparative assessment of the size of the frontal air sinus in the giraffe (Giraffa camelopardalis). *Anatomical records.* 294, 931–940.

Crijns, C. P., Weller, R., Vlaminck, L, Verschooten, F., Schauvliege, S, Powell, S.E., Van Bree H.J.J., Gielen I.M.V.L. (2017). Comparison between radiography and computed tomography for diagnosis of equine skull fractures. *Equine* Veterinary *Education.* 31(10), 543-550.

De Zani, D., Borgonovo, S., Biggi, M., Vignati, S., Scandella, M., Lazzaretti, S., Modina, S., Zani D. (2010). Topographic comparative study of paranasal sinuses in adult horses by computed tomography, sinuscopy, and sectional anatomy.*Veterinary Research Communications*. 34 Suppl 1:S13-6.

D'Août, C., Nisolle, J.F, Navez, M., Perrin, R., Launois, T., Brogniez, L., Clegg, P., Hontoir F., Vandeweerd, J.M. (2015). Computed Tomography and Magnetic Resonance Anatomy of the Normal Orbit and Eye of the Horse. *Anatomia, Histologia, Embryologia*. 44(5):370-7.

Dyce, K.M., Sack, W.O., Wensing, C.J.G. (2018). Textbook of Veterinary Anatomy. (5th ed). Saunders press. London, UK. p. 479 – 490.

El-Gendy, S.A, Alsafy, M.A., El Sharaby, A.A. (2014). Computed tomography and sectional anatomy of the head cavities in donkey (*Equus asinus). Anatomical* Science International. 89(3):140-150.

El Sissi, M., El shafey, A.B., Ali, A.M., Allam, A.H.M. (2017). Endoscopic Sinus and Nasal Surgery Training Using Sheep as Animal Model. *The* Egyptian *Journal of* Anatomy. *40(2),381-390.*

König HE, Leibich HG (2020). Veterinary Anatomy of Domestic Animals Textbook and Colour (7th ed) Schattauer Verlag , Vienna , Austria. p. 233-258.

Madkour, N., Amin, M., Karkoura, A.A., Alsafy, M.A.M., El-Gendy, S.A. (2016). Computed Tomography and Gross Anatomical Studies of the Orbital Cavity of the Baladi Goat *(Capra hircus) Alexandria* Journal *of Veterinary Sciences*. 51(2), 74- 81.

Masoudifard, M., Shojaei, B., Vajhi, A.R. (2008). Radiographic anatomy of the head of the sheep. Iranian Journal of Veterinary Science. 3(4), 41-48.

Moawad U.K., Awaad A.S., Abedellaah, B.A. (2017). Morphological, histochemical and computed tomography on the vomeronasal organ (Jacobson's organ) of Egyptian native breeds of goats (Capra hircus). *Beni-Suef University* Journal *of Basic and Applied Sciences.* 6(2),174–183.

Tshering Vogel, D.W., Thoeny, H.C. (2016) Cross-sectional imaging in cancers of the head and neck: how we review and report. *Cancer Imaging.* 16, 20-26.

Received: 06.01.2021
Accepted: 23.02.2021

DOI: 10.22055/IVJ.2020.244291.2292
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.11.5

مطالعه مورفولوژی، توپوگرافی و هیستوپاتولوژی ضایعات شیردانی در گاو: وابستگی فاکتورهای مستعد کننده داخلی و خارجی با فراوانی ضایعات

شهرام ملکی[1*]، امیر زکیان[1]، رضا درویش نیا[2]، وحید فرهادی[2] و هانیه بختیاری[2]

[1] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
[2] دانش آموخته دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۶/۱ پذیرش: ۱۳۹۹/۸/۲۴

چکیده

ضایعات شیردانی به عنوان یکی از عوامل اثرگذار بر سلامت و تولید نشخوارکنندگان شناخته می‌شوند که بسیاری از آن‌ها غیربالینی هستند و عموماً قابل تشخیص نمی‌باشد. در مطالعه‌ی حاضر فراوانی انواع ضایعات شیردانی در گاوهای کشتار شده در کشتارگاه صنعتی گلشن خرم‌آباد و ارتباط آن با عوامل خطر داخلی و خارجی سنجیده شد. در فاصله‌ی زمانی پاییز ۱۳۹۶ تا تابستان ۱۳۹۷ به صورت تصادفی شیردان ۴۰۰ رأس گاو نر و ماده در بازه‌ی سنی ۱ تا ۶ سال به منظور وجود ضایعات شیردانی بررسی گردید. پس از تأیید وجود ضایعه، نمونه‌ی بافتی جهت مطالعه‌ی هیستوپاتولوژیکی اخذ شد. فراوانی ضایعات شیردانی ۷۴/۵ درصد (فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصد: ۷۹/۳۱-۷۱/۲) بود. شیوع ضایعات شیردان در گاوهای نر کمتر از گاوهای ماده بود. فراوانی ضایعات شیردانی با افزایش سن رابطه مستقیم و معنی‌داری داشته و کم‌ترین و بیشترین رخداد به ترتیب مربوط به دام‌های با سن پایین‌تر از ۲ سال و دام‌های بالاتر از ۴ سال بود. بین وجود اجسام خارجی و ضایعات شیردان ارتباط آماری برقرار بود، ضمن آن که در ۳۹/۲۵ درصد (۱۵۷ از ۴۰۰ مورد) شیردان‌های بررسی شده اجسام خارجی یافت شد. فراوانی ضایعات شیردان در فصول تابستان، پاییز، بهار و زمستان به ترتیب برابر با ۸۷، ۷۷، ۷۰ و ۶۴ درصد بود و مشخص شد بین رخداد زخم‌های شیردانی با فصل ارتباط آماری معنی‌دار برقرار است. تمامی ضایعات موجود از نوع ۱ و ۲ و در اشکال خطی، مدور، بیضوی و نامنظم بود. یافته‌های هیستوپاتولوژیک نشان داد نکروز انعقادی، انفیلتراسیون سلولی و خونریزی با شدت ضایعات رابطه‌ی مستقیم داشته و همچنین نفوذ بافت پیوندی متراکم در مابین ضایعات شیردانی یک یافته قابل انتظار به شمار می‌رود. ضایعات شیردانی متأثر از فاکتورهای خطر میزبانی و محیطی بوده و نوع تحت بالینی ضایعات شیردان در گاوهای استان لرستان در سطح وسیعی وجود دارد که نقش سیستم مدیریتی-پرورشی را در افزایش بروز ضایعات نشان می‌دهد.

کلمات کلیدی: ضایعات شیردانی، گاو، توپوگرافی، مورفولوژی، هیستوپاتولوژی

مقدمه

شیردان معده اصلی نشخوارکنندگان بوده که به صورت اولیه یا ثانویه دچار ضایعاتی می‌گردد که از مهم‌ترین آن‌ها زخم شیردان است. ضایعات شیردانی در گاو می‌تواند باعث خونریزی شدید یا سوراخ شدن دیواره شیردان شود که نتیجه آن کم خونی، پریتونیت و مرگ است (Palmer and Whitlock 1984, Smith et al. 1986). اگرچه در

*نویسنده مسئول : شهرام ملکی، استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه لرستان، خرم‌آباد، ایران
E-mail: maleki.sh@lu.ac.ir

اغلب اوقات ضایعات شیردان تظاهرات بالینی اندکی داشته و شیوع آن‌ها پایین است (Whitlock 1999) اما با تغییر در مسائل مدیریتی و جیره غذایی رخداد آن‌ها رو به فزونی است (Cable et al. 1998).

زخم‌های شیردان نتیجه برهم خوردن تعادل بین شرایط پاتوفیزیولوژیک شیردانی است که متعاقب آن عدم توانایی فرآیندهای حمایتی مخاط شیردانی در برابر اسیدهای شیردانی رخ می‌دهد (Hussain et al. 2019). با این که علل زیادی برای زخم اولیه شیردان در گاو مطرح شده است اما علت این عارضه همچنان نامشخص می‌باشد (Hund and Wittek 2017). زخم شیردان از اختلالات سیستم گوارشی گاو می‌باشد که عموماً با خسارات اقتصادی همراه است (Zhang et al. 2015). بیماری ممکن است به دنبال مشکلات تغذیه‌ای (Ahmed et al. 2002)، اختلالات مدیریتی به خصوص در گاوهای تازه‌زا (Palmer and Whitlock 1984) و پر تولید (Aukema and Breukink 1974, Nielsen et al. 2019)، بیماری‌های متابولیک، عفونی و گوارشی (Kureljusic et al. 2013, Constable et al. 2016, Hund et al. 2016) و سابقه مصرف طولانی مدت داروهای ضد التهاب غیر استروئیدی (Hund and Wittek 2017) رخ دهد. اما به طور کلی عواملی از قبیل جنس، سن، آبستنی، زایمان و فصل می‌توانند به عنوان فاکتورهای خطر میزبانی و محیطی در بروز بیماری مؤثر باشند (Costa et al. 2002, Constant et al. 2016). زخم‌های شیردان بر اساس شدت در ۵ گروه طبقه‌بندی می‌شوند (Braun et al. 2019, Braun et al. 2020, Gerspach et al. 2020) که عبارتند از زخم‌های غیر متنفذه با آسیب جزئی به دیواره شیردان (نوع ۱)، زخم‌های غیرمتنفده همراه با آسیب دیدگی عروق اصلی شیردان و خونریزی شدید داخل شیردانی (نوع ۲)، که این دو نوع در بیشتر موارد از اشکال تحت بالینی بیماری محسوب می‌شوند. زخم‌های نوع ۳ که متنفذه و همراه با پریتونیت و چسبندگی احشایی موضعی است. نوع ۴ که زخم‌های متنفذه همراه با پریتونیت منتشر و ورود گسترده‌ی مواد غذایی به حفره‌ی صفاقی می‌باشد و نوع ۵ که در آن یک زخم متنفذه به درون بورس اومنتال ایجاد و التهاب تمامی لایه‌های احشایی اطراف ارگان‌های حفره‌ی شکمی را باعث می‌شود. نوع ۳ تا ۵ اشکال حاد بیماری را باعث می‌شوند (Brscic et al. 2011, Braun et al. 2019). اشکال ۱ و ۲ غالباً در زمان کالبدگشایی، ذبح و کشتار مشخص می‌شوند و انواع ۳ تا ۵ به شکل بالینی بروز می‌نمایند، لذا تعیین موارد تحت بالینی بیماری در راستای اقدامات پیش‌گیری کننده مهم تلقی می‌گردد (Ok et al. 2001, Raoofi et al. 2007). اما از آن جا که نوع ۱ زخم به صورت حاد و مزمن رخ می‌دهد لذا از نظر مورفولوژی ماکروسکوپیک اختلافاتی بین آن‌ها وجود دارد و به منظور روشن‌تر شدن این اختلاف نوع ۱ زخم به ۴ زیر گروه شامل 1a (اروزیون توام با حداقل آسیب مخاطی، گاهی اوقات تنها تغییر رنگ مخاط آبی تا بنفش)، 1b (ارزیون‌های عمیق‌تر با خون‌ریزی مخاطی با حاشیه‌های مشخص و مرکز فرو رفته)، 1c (زخم‌های آتشفشانی پوشیده با ضایعات نکروزه و فیبرین، دارای مرکز فرو رفته و حاشیه‌های ملتهب) و 1d (چروکیدگی مدور با یک نقطه کانونی) تقسیم می‌شود (Fox 1980, Braun et al. 1991, Hund and Wittek 2017).

در اکثر موارد زخم شیردان در گاو به شکل تحت بالینی بروز می‌کند (Braun et al. 1991) و اثر واضحی بر رشد و کارایی دام ندارد (Brown et al. 2007) و لذا به ندرت می‌توان آن را به کمک روش‌های معمول بالینی از سایر بیماری‌های گوارشی تشخیص داد (Hund and Wittek 2017). به همین دلیل غالباً این عارضه پس از مرگ و هنگام کالبدگشایی مشخص می‌گردد. اندازه‌گیری غلظت گاسترین پلاسما، پپسینوژن سرم، شمارش گلبول‌های قرمز و میزان هموگلوبین (Braun et al. 2020)، آزمایش وجود خون مخفی در مدفوع و همچنین تصویربرداری (Gerspach et al. 2020) می‌توانند در تشخیص زخم شیردان مفید باشند (Braun et al. 2019). برای درمان زخم شیردان از تجویز داروهای آنتی‌اسید، H_2–آنتاگونیست‌ها، بلوک کننده‌های پمپ پروتونی، پروکینتیک‌ها، کائولین و

پکتین، انتقال خون و یا ترمیم به روش جراحی بسته به نوع و شدت ضایعات شیردانی استفاده می‌گردد (Clissold and Campoli-Richards 1986, Maton and Burton 1999, Zhang et al. 2015). اساسی‌ترین روش پیشگیری از وقوع زخم‌های شیردانی به حداقل رساندن استرس و عوامل مسبب آن است، اگرچه امروزه عمل به چنین توصیه‌ای در گاوهای شیری که در سیستم‌های تولیدی پر فشاری قرار دارند امکان‌پذیر نیست (Hund and Wittek 2017).

مطالعات کشتارگاهی در بسیاری از کشورها به عنوان یک استراتژی با اهمیت برای تشخیص بیماری‌های دامی و اخذ اطلاعات ضروری با هدف شناخت بیشتر بیماری‌ها و کنترل احتمالی مورد استفاده قرار می‌گیرد (Phiri 2006). نظر به این که امروزه با توسعه‌ی روش‌های پرورش متراکم و بهره‌گیری از حداکثر توان تولید دام‌ها، وجود عوامل میزبانی و محیطی مسبب استرس و بیماری‌های زمینه‌ای سبب بروز ضایعات شیردان می‌گردد (Constable et al. 2016, Hund and Wittek 2017)، لذا به عنوان اولین گام برای بررسی فراوانی ضایعات شیردان در استان لرستان و در گام دوم ارزیابی وضعیت مورفولوژیکی و هیستوپاتولوژیکی ضایعات شیردانی و ارتباط آن‌ها با عوامل خطر محیطی و میزبانی این تحقیق طراحی شد.

مواد و روش کار

منطقه و جمعیت مورد مطالعه

مطالعه‌ی حاضر بر روی گاوهایی که جهت ذبح به کشتارگاه صنعتی گلشن (واقع در کیلومتر ۱۰ جاده خرم‌آباد منطقه بیرانشهر) منتقل می‌شدند، در ۴ فصل سال و بازه زمانی آبان ماه ۱۳۹۶ تا شهریورماه ۱۳۹۷ انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر ۲۸ بار به کشتارگاه مراجعه (در هر فصل ۷ بار) و ۴۰۰ راس گاو (در هر فصل ۱۰۰ راس) مورد بررسی قرار گرفتند. حیوانات کشتار شده از هر دو جنس نر (۲۰۰ راس) و ماده (۲۰۰ راس) بوده و دامنه‌ی سنی آن‌ها بین ۱ تا ۶ سال (میانگین و انحراف معیار: ۳/۸۴±۰/۲۳) متغیر بود. گاوهای کشتار شده در بازه‌ی زمانی مطالعه‌ی حاضر شامل نژادهای بومی (۳۱ درصد)، دو رگ (۴۶ درصد) و اصیل هلشتاین (۲۳ درصد) بود. تمامی مراحل و پروتکل‌های مطالعه‌ی حاضر در قالب طرح تحقیقاتی مصوب به تأیید گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان رسید.

تعیین حجم نمونه و روش نمونه گیری

حجم نمونه با استفاده از فرمول Thrustfiled در سال ۱۹۹۵ با فاصله اطمینان ۹۵ درصد و دقت مطلق ۵ درصد با در نظر گرفتن شیوع مورد انتظار ۵۰ درصدی به دلیل آن که مطالعه‌ی دیگری تا به حال بر روی شیوع زخم و دیگر ضایعات شیردانی در استان لرستان انجام نشده بود، تعیین گردید.

$$N = (1.96)^2 P_{exp} (1-P_{exp})/d^2$$

که در آن n برابر است با حجم نمونه، P_{exp} مقدار شیوع مورد انتظار (۵۰ درصد) و d میزان دقت مطلق مطلوب است که ۵ درصد برآورد گردید. بنا بر فرمول فوق حجم مورد نیاز برای مطالعه حاضر برابر با ۳۸۴ نمونه بود، اگر چه در این مطالعه ۴۰۰ راس گاو بررسی شد تا دقت مطالعه به ۴ درصد افزایش یابد.

با حضور در سالن کشتارگاه، حیوانات به صورت تصادفی انتخاب و پس از تعیین جنسیت، بر مبنای فرمول دندانی (Rezaei et al. 2018) در ۴ گروه سنی دسته‌بندی شدند. در انتهای خط کشتار، شیردان گاوهای انتخاب شده از دیگر احشای دستگاه گوارشی جدا و بر روی یک میز مسطح قرار می‌گرفت. با ایجاد برش در طول خم بزرگ شیردان و پس از تخلیه محتویات، سطح مخاطی این عضو به آرامی با آب شستشو داده می‌شد تا با کمک منبع نور و در صورت لزوم ذره‌بین به دقت تمام بخش‌های آن به منظور یافتن ضایعات احتمالی بررسی شود. هر گونه تغییر رنگ، زخم و ضایعه‌ی مخاطی-عضلانی، خون‌ریزی، پر خونی، ساییدگی بافتی و نیز وجود یا عدم وجود اجسام خارجی متنفذه یا غیرمتنفذه (سنگ‌ریزه و ماسه، فلز، پلاستیک و لاستیک) پس از تأیید در جدولی که از پیش طراحی شده

بود ثبت و عکس‌برداری می‌گردید تا در هنگام تجزیه و تحلیل داده‌ها مورد توجه قرار گیرد. پس از تعیین نوع، اندازه، شکل و عمق زخم به صورت تصادفی از هر یک از ضایعات مشاهده شده تعدادی برای نمونه‌برداری انتخاب و نمونه‌های بافتی تهیه شده درون ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد شناور می‌شدند. پس از تثبیت، قالب‌گیری و برش نمونه‌های بافتی در آزمایشگاه (۵-۶ میکرومتر)، مقاطع به روش استاندارد هماتوکسلین-ائوزین رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ نوری بررسی شدند. در مطالعه‌ی هیستوپاتولوژیکی به دقت وجود مواردی از قبیل نکروز، تخریب و جدا شدن بافت پوششی، نفوذ سلول‌های آماسی، پرولیفراسیون سلول‌های پوششی، متاپلازی، آتروفی غدد و زخم (Wiepkema et al. 1987) مورد توجه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری

مطالعه‌ی حاضر از نوع مقطعی و نمونه‌گیری از نوع تصادفی بود که به منظور بررسی فراوانی ضایعات شیردانی در گاوهای کشتار شده و ارزیابی فاکتورهای خطر مستعد کننده احتمالی بر شیوع آن انجام گردید. اطلاعات و داده‌های جمع‌آوری شده و فاکتورهای خطر طی دوره نمونه‌گیری با کد گذاری به درون جداول Excel منتقل و به وسیله‌ی نرم‌افزارهای آماری (Analyse-it software, V. 4.80.2, Leeds, UK; Medcalc Software, V. 14.8.1, Ostend, Belgium) ارزیابی شدند. فاکتورهای مستعد کننده داخلی (سن، جنسیت و جسم خارجی) و همچنین خارجی (فصل) به عنوان متغیرهای کوواریانت (Independent or explanatory) در نظر گرفته شدند، در حالی که گاوهای با یا بدون ضایعات شیردانی به عنوان متغیر وابسته (Outcome) قلمداد شدند. ارتباط بین فاکتورهای توصیفی و وابسته در ابتدا با استفاده از آزمون تک متغیره مربع کای (Chi-Square) بررسی گردید. در ادامه تأثیر تمامی فاکتورهایی که مقادیر P<۰/۲ در آزمون مربع کای داشتند با استفاده از مدل رگرسیون لاجستیک (Logistic regression) چند متغیره به روش قدم به قدم پس رونده (Stepwise backward) بررسی شد. نسبت شانس (Odd ratio) نیز با فاصله اطمینان (Confidence Interval) ۹۵ درصد محاسبه گردید.

نتایج

فراوانی کلی ضایعات شیردانی در مطالعه‌ی حاضر ۷۴/۵ درصد با فاصله اطمینان ۹۵ درصدی برابر با ۷۹/۳۱-۷۱/۲ درصد بود. شیوع ضایعات شیردان در گاوهای نر ۶۲/۵ درصد و در گاوهای ماده ۸۶/۵ درصد بود (Table 1). آزمون آماری نشان داد بین ضایعات شیردانی و جنسیت ارتباط معنی‌داری (P=۰/۰۰۰۱) برقرار است. نسبت شانس ابتلا به ضایعات شیردانی در دام‌های ماده ۱/۲۵ برابر بیشتر از دام‌های نر بود (Table 3).

همانطور که نتایج Table 1 نشان می‌دهد شیوع ضایعات شیردانی با افزایش سن رابطه مستقیم و معنی‌داری داشته (P=۰/۰۰۰۱) و کم‌ترین شیوع در دام‌های با سن پایین‌تر از ۲ سال (۵۵ درصد) و بیش‌ترین شیوع در دام‌های با سن ۴ الی ۶ سال (۹۸ درصد) رویت شد. نسبت شانس ضایعات شیردان در دام‌های بین ۲ تا ۳ سال، ۳ تا ۴ ساله و بزرگ‌تر از ۴ سال به ترتیب ۱/۰۲ برابر، ۱/۶۷ برابر و ۳/۵۳ برابر بیش‌تر از دام‌های کوچک‌تر از ۲ سال بود.

نتایج بررسی فراوانی اجسام خارجی متنفذه و غیرمتنفذه در شیردان نشان داد که ۱۴۶ مورد از شیردان‌های بررسی شده دارای سنگ ریزه و ماسه (۳۶/۵ درصد) و درون ۱۱ شیردان فلز (۲/۷۵ درصد) دیده شد، اما در ۲۴۳ شیردان (۶۰/۷۵ درصد) هیچ جسم خارجی وجود نداشت. از این میان به ترتیب در ۱۰۰ درصد شیردان‌هایی که در آن‌ها فلز (۱۱ از ۱۱) بود، ۹۱/۸ شیردان‌هایی که در آن‌ها سنگ ریزه و ماسه (۱۳۴ از ۱۴۶) وجود داشت و نیز در ۶۲/۹۶ درصد شیردان‌هایی که فاقد جسم خارجی بودند (۱۵۳ از ۲۴۳) ضایعات شیردانی ثبت گردید که بیان‌گر وجود ارتباط آماری معنی‌دار بین جسم خارجی و ضایعات شیردانی بود (P=۰/۰۰۰۱). از مجموع ۱۱ جسم خارجی فلزی که در

۴۰۰ شیردان بررسی شده دیده شد، ۱ مورد (۹/۱ درصد) از نوع متنفذه و مابقی غیرمتنفذه (۹۰/۹ درصد) بودند و در هر شیردان تنها یک جسم خارجی فلزی وجود داشت. نسبت شانس بروز ضایعات شیردانی در دام‌هایی که دارای جسم خارجی بودند ۶/۱۶ برابر بیش‌تر از دام‌های بدون جسم خارجی بود. لازم به ذکر است که در مطالعه‌ی حاضر هیچ نمونه‌ی پلاستیکی و لاستیکی در شیردان‌های مورد بررسی دیده نشد.

Table 1. Absolute and relative frequency of abomasal lesions and prevalence percentage (with 95% confidence interval) of studied population according to the host and environmental risk factors in the Golshan industrial slaughterhouse, Khorramabad during the autumn 2017 to summer 2018

Risk factor	With lesion (%)	Without lesion (%)	Overall (%)	Prevalence (95% Confidence interval)
		Sex		
Male	125 (31.25)	75 (18.75)	200 (50)	62.5 (57.28-66.8)
Female	173 (43.25)	27 (6.75)	200 (50)	86.5 (81.23-90.13)
		Age (year)		
2<	55 (13.75)	45 (11.25)	100 (25)	55 (51.30-59.03)
2-3	65 (16.25)	35 (8.75)	100 (25)	65 (61.18-70.27)
3-4	80 (20)	20 (5)	100 (25)	80 (74.64-86.59)
4-6	98 (24.5)	2 (0.5)	100 (25)	98 (92.22-99.79)
		Foreign bodies		
Sand and gravel	134 (33.5)	12 (3)	146 (36.5)	91.8 (87.16-96.4)
Metallic	11 (2.75)	-	11 (2.75)	100
Without foreign bodies	153 (38.25)	90 (22.5)	243 (60.75)	62.96 (60.06-65.5)
		Season		
Autumn	77 (19.25)	23 (5.75)	100 (25)	77 (73.63-80.09)
Winter	64 (16)	36 (9)	100 (25)	64 (61.24-68.59)
Spring	70 (17.5)	30 (7.5)	100 (25)	70 (66.9-74.59)
Summer	87 (21.75)	13 (3.25)	100 (25)	87 (84.59-92.01)
Overall	298 (74.5)	102 (25.5)	400 (100)	74.5 (71.2-79.31)

Table 2. Absolute and relative frequency of abomasal lesions of studied population according to the type, number, consensual, shape, longitudinal size, diameter (mm) and anatomical location in the Golshan industrial slaughterhouse, Khorramabad during the autumn 2017 to summer 2018

Classification	Number	Percent from affected cattle (298 cases)	Percent from studied cattle (400 cases)
Type			
1	223	74.83	55.75
1a	95	31.88	23.75
1b	60	20.13	15
1c	45	15.10	11.25
1d	23	7.72	5.75
2	75	25.17	18.75
Number			
1-5	178	59.73	44.5
6-10	82	27.51	20.5
>10	38	12.75	9.5
Consensual			
Type 1 with 1-5 lesions	158	53.02	39.5
Type 1 with 6-10 lesions	56	18.79	14
Type 1 with >10 lesions	9	3.02	2.25
Type 2 with 1-5 lesions	20	6.71	5
Type 2 with 6-10 lesions	42	14.1	10.5
Type 2 with >10 lesions	13	4.36	3.25
Shape			
Linear	153	51.34	38.25
Circular and/or oval	95	31.88	15.75
Irregular	50	16.78	12.5
Longitudinal size of linear lesions (153 cases)			
20< mm	92	30.87	23
20-30 mm	38	12.75	9.5
>30 mm	23	7.72	5.75
Diameter of circular and/or oval lesions (95 cases)			
2< mm	29	30.53	7.25
2-5 mm	46	48.42	11.5
>5 mm	20	21.05	2.5
Anatomical position			
Pylori	207	69.46	51.75
Fundus	89	29.86	22.25
Cardia	2	0.67	0.5

فراوانی ضایعات شیردان در فصول پاییز، تابستان، بهار و زمستان به ترتیب برابر با ۷۷ درصد، ۸۷ درصد، ۷۰ درصد و ۶۴ درصد بود (Table 1). آزمون آماری مربع کای نشان داد بین رخداد ضایعات شیردانی با فصل (P=۰/۰۰۰۱) ارتباط آماری معنی‌دار برقرار است. نسبت شانس ابتلا در فصل پاییز ۱/۴۲ برابر، در فصل بهار ۱/۱ برابر و در فصل تابستان ۱/۷۳ برابر بیش‌تر از فصل زمستان بود. در ارزیابی ضایعات شیردانی بر اساس نوع مشخص شد، رخداد ضایعات نوع ۱ با ۷۴/۸۳ درصد بیش از نوع ۲ با ۲۵/۱۷ درصد است. ضمن آن که هیچ موردی از ضایعه نوع ۳ و ۴ در مطالعه‌ی حاضر ثبت نگردید (Table 2). فراوانی زیر گروه‌های 1a، 1b، 1c و 1d نیز به ترتیب برابر با ۳۱/۸۸، ۲۰/۱۳، ۱۵/۱۰ و ۷/۷۲ درصد از کل ضایعات نوع ۱ بود. در ارزیابی شیردان‌های بررسی شده بر حسب تعداد ضایعات نتایج نشان داد ۵۳/۷۳ درصد کل شیردان‌های دارای ضایعه بین ۱ تا ۵، ۲۷/۵۱ درصد بین ۶ تا ۱۰ و ۱۲/۷۵ درصد بیش از ۱۰ ضایعه داشتند. همچنین نتایج مشخص کرد بیش از نیمی از شیردان‌های دارای ضایعه بین

۱ تا ۵ مورد ضایعه نوع ۱ و ۱۴/۱ درصد از شیردان‌های دارای ضایعه ۶ تا ۱۰ مورد ضایعه نوع ۲ داشتند، اما تنها در ۳/۰۲ درصد شیردان‌های دارای ضایعه بیش از ۱۰ ضایعه نوع ۱ دیده شد (Fig 1 و Table 2). لازم به ذکر است که برخی از شیردان‌ها دارای چند نوع ضایعه و چند زیر گروه از زخم‌های نوع ۱ بودند اما غالب‌ترین عارضه به عنوان ضایعه‌ی اصلی و بقیه به عنوان فرعی در نظر گرفته شد کم‌ترین و بیش‌ترین تعداد ضایعات که در ارزیابی کشتارگاهی شیردان‌های بررسی شده دیده شد به ترتیب ۱ و ۴۳ مورد بود که نشان از دامنه‌ی گسترده‌ی وجود ضایعات در گاو دارد.

Table 3. Logistics regression model and odds ratio (95% confidence interval) to determine the relationship between the host and environmental risk factors with the occurrence of abomasal lesions in the Golshan industrial slaughterhouse, Khorramabad during the autumn 2017 to summer 2018

Risk factor	Odd ratio (95% Confidence Interval)	Standard error	Wald static	Regression equation (B)	P-value
Sex					
Male	-	0.37	0.02	0.05	reference
Female	1.25 (0.51-2.17)				0.89
Age (year)					
2<	-	0.24	27.77	1.26	reference
2-3	1.02 (0.89-1.69)				0.08
3-4	1.67 (1.48-2.03)				0.03
4-6	3.53 (2.15-5.64)				0.006
Foreign bodies					
No	-	0.18	29.29	0.98	reference
Yes	6.16 (1.82-9.03)				0.0001
Season					
Winter	-	2.14	8.35	- 0.45	reference
Autumn	1.42 (0.78-3.02)				0.1
Spring	1.1 (0.23-2.46)				0.2
Summer	1.73 (0.97-3.31)				0.06

در ارزیابی مورفولوژیکی مشخص شد که ۵۱/۳۴ درصد از ضایعات شیردانی به شکل خطی، ۳۱/۸۸ درصد مدور و یا بیضوی و ۱۶/۷۸ درصد نامنظم (بی‌شکل، شعاعی یا ستاره شکل) بودند (Fig 1). از میان ۱۵۳ مورد ضایعات خطی رویت شده در این مطالعه، به ترتیب ۶۰/۱۳ درصد، ۲۴/۸۴ درصد و ۱۵/۰۳ درصد دارای اندازه‌ی طولی کم‌تر از ۲۰ میلی‌متر، بین ۲۰ تا ۳۰ و بزرگ‌تر از ۳۰ میلی‌متر بودند. از میان ۹۵ مورد ضایعات مدور و یا بیضوی نیز به ترتیب ۳۰/۵۳ درصد، ۴۸/۴۲ درصد و ۲۱/۰۵ درصد به ترتیب دارای قطر یا کانونی کم‌تر از ۲، بین ۲ تا ۵ و بزرگ‌تر از ۵ میلی‌متر بودند.

طبقه‌بندی ضایعات بر حسب موقعیت آناتومیکی نشان داد ۶۹/۴۶ درصد ضایعات شیردانی در موقعیت پیلور و ۲۹/۸۶ درصد در نواحی مختلف فاندوس قرار داشتند، اما از میان ۴۰۰ شیردان بررسی شده تنها دو مورد ضایعه در کاردیا (۰/۶۷ درصد) وجود داشت که یکی از آن‌ها ناشی از جسم خارجی فلزی متنفذه بود. از نظر توپو-مورفولوژی عموماً ضایعات بخش پیلور از هر سه نوع خطی، مدور یا بیضوی و نامنظم (با غالبیت نوع خطی) بودند و در ناحیه‌ی فاندوس بیش‌تر ضایعات نامنظم بودند. ضایعات خطی نیز بیش‌تر در مرز چین‌های شیردانی ناحیه‌ی فاندوس یا در عمق آن‌ها و بین چین‌ها دیده شدند.

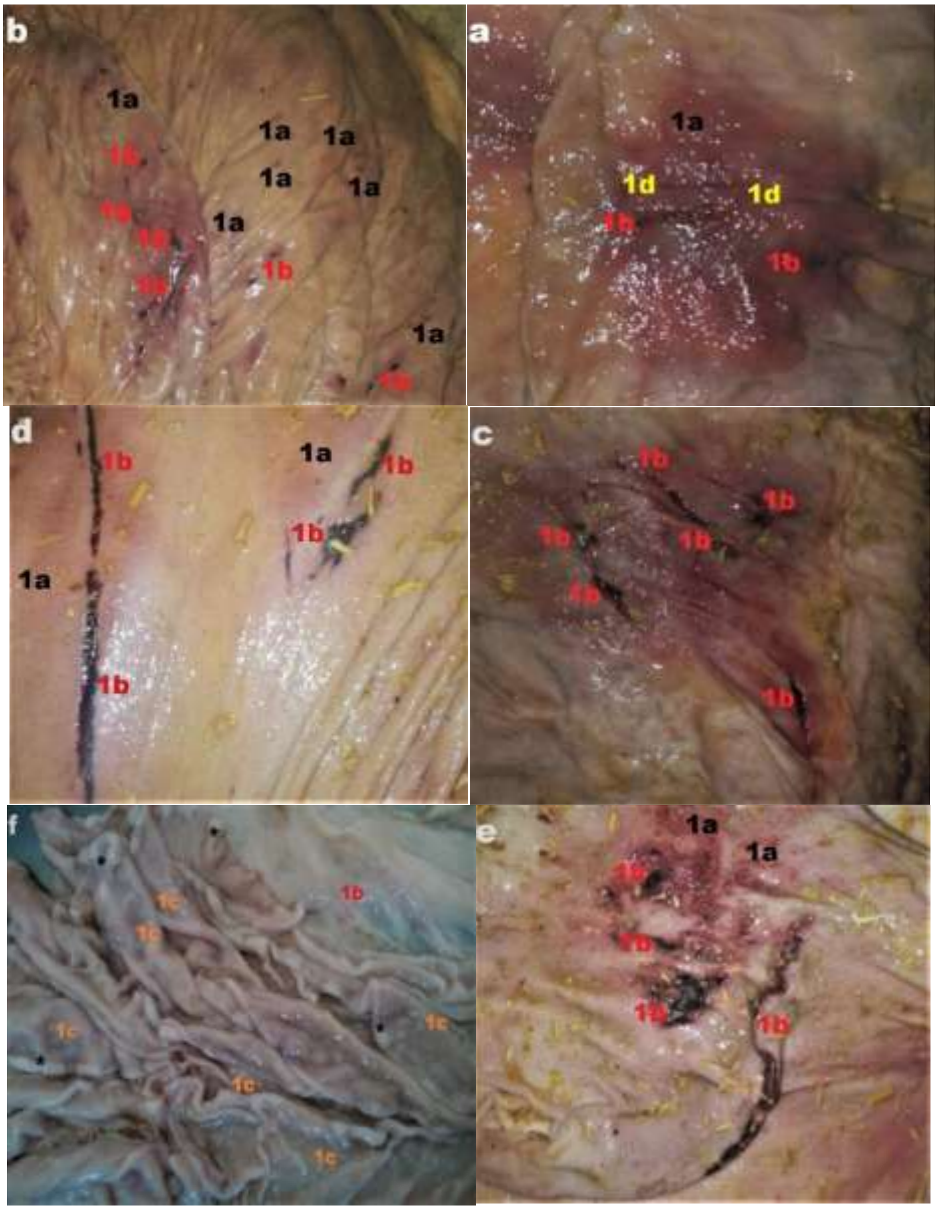

Fig 1. Abomasal showing multiple type of lesions such as 1a, 1b and 1c at the body of abomasum of 3 years old female cow (a); presence of seven lesions 1a and 1b at the body of abomasum of 4 years old bull (b); linear and circular shape lesions of type 1b at the body of abomasum of female 4 years old cow (c); the large linear lesion of type 1b at the pyloric part of the abomasum of male 5 years old bull (d); the linear and irregular lesions of type 1a and 1b at abomasum of 3 years old female cow. Note to the red to brown tissue discoloration and also more deep mucosal damage with local bleeding and formation of dark red to black spots (e); the presence of radial and circular lesions of type 1c in the form of white spots with sunken centers and linear type 1b lesion in the pyloric and the body of abomasum of a 5-years-old female cow (f). Note to the hyperplasia in the areas between and into the abomasal folds (asterisks)

یافته‌های درشت بینی نشان دهنده‌ی وجود پر خونی، التهاب و تغییر رنگ بافتی در ضایعات نوع ۱ که در موارد شدیدتر همراه با فرورفتگی و وقوع خون‌ریزی درون ضایعات و تشکیل زخم‌های آتشفشانی و در ادامه‌ی چروکیدگی بافتی اطراف ضایعات بود. در نوع ۲ نیز عمق ضایعات بیش‌تر و فرایند التهابی گسترده‌تر بود، ضمن آن که خون‌ریزی فراتر از مخاط شیردانی همراه با سوراخ شدگی در سطح بافت نیز وجود داشت. در ۱۰/۷۵ درصد (۴۳ مورد از ۴۰۰ مورد) از کل شیردان‌های بررسی شده خون‌ریزی و پرخونی دیده شد (Fig 2a) که این پدیده در

شیردان‌های دچار ضایعه و فاقد ضایعه به ترتیب برابر با ۱۲/۱ (۳۸ از ۲۹۸ مورد) و ۴/۹ درصد (۵ از ۱۰۲ مورد) بود. غالب ضایعات ثبت شده در مطالعه‌ی حاضر منجر به آسیب لایه‌ی عضلانی شیردان نشده بودند و محدود به مخاط بودند.

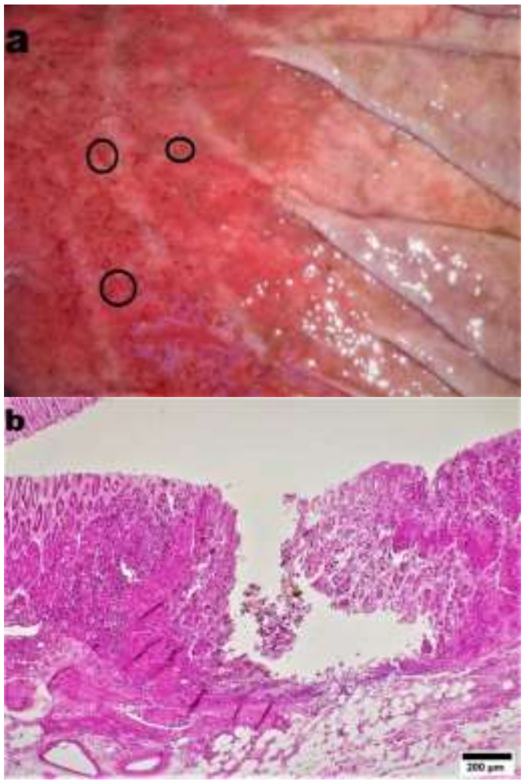

Fig 2. (a) Diffuse hyperemia and focal hemorrhage areas in the form of petechia and ecchymosis throughout the abomasum of a 2-years-old male bull; (b) abomasal lesions of type 1d in abomasum of 4 years old female cow which present deep erosions of the mucosal layer with cellular infiltration and chronic inflammatory response in the surrounding area (H&E staining)

به منظور تأیید یا رد ضایعات کشتارگاهی به مطالعه‌ی میکروسکوپیک پرداخته شد و نتایج نشان داد به استثنای ۱ مورد در بقیه موارد ضایعات به درستی تشخیص داده شده بود که ممکن است ناشی از اشتباه در اخذ نمونه‌ی بافتی یا تهیه مقطع میکروسکوپی باشد. یافته‌های هیستوپاتولوژیک نشان دهنده‌ی وجود اروزیون سطحی یا عمقی لایه‌ی مخاطی همراه با درجات ملایمی از واکنش التهابی حاد یا مزمن سلول‌های تک هسته‌ای و نشت فیبرین، هایپرپلازی بافت پوششی، نکروز انعقادی و پر خونی خفیف و از بین رفتن قسمت اندکی از غدد در ضایعات نوع ۱ بود که بسته به شدت ضایعه میزان واکنش‌های بافتی نیز متفاوت بود. به ترتیب در ۳۴، ۵۸، ۷۶ و ۸۸ درصد از ضایعات نوع ۱a، ۱b، ۱c و ۱d نکروز انعقادی دیده شد. میزان انفیلتراسیون سلولی نیز در ضایعات نوع ۱a، ۱b، ۱c و ۱d به ترتیب برابر با ۵۳، ۶۹، ۷۴ و ۸۰ درصد بود. بافت پیوندی نیز بسته به شدت زخم در لا به لای مخاط آسیب دیده قابل تشخیص بود که در ۷۰ درصد ضایعات نوع ۱a، ۷۶ درصد ضایعات نوع ۱b، ۷۴ درصد ضایعات نوع ۱c و ۸۹ درصد ضایعات نوع ۱d دیده شد. در حالی که در ضایعات نوع ۲، یافته غالب هیستوپاتولوژیکی نکروز انعقادی در بیش از ۹۷ درصد موارد و تشکیل بافت پوششی (۹۳ درصد) و آتروفی غدد کمی شدیدتر و همراه با تخریب و کنده شدن بافت پوششی (۷۲ درصد) و نفوذ گسترده‌تر سلول‌های التهابی (۹۸ درصد موارد) بود (Fig 2 b).

نتایج آزمون Omnibus در ارزیابی کل مدل رگرسیونی لاجستیک نشان داد برازش مدل قابل قبول بوده (x^2=۱۱۳/۴۵ ؛P=۰/۰۰۰۱) و مدل پایا است. دقت کل طبقه‌بندی دام‌ها برابر با ۷۴/۸ درصد بود که در گروه دام‌های دارای ضایعات شیردانی این مقدار ۸۲/۴ درصد می‌باشد و نشان داد ۲۴۳ راس از دام‌ها به درستی تفکیک شده است. لذا ۸۲/۴ درصد پیش‌بینی‌ها در مورد ارتباط زخم با فاکتورهای خطر مورد بررسی صحیح بود. مجموع متغیرهای میزبانی و محیطی بررسی شده توانست ۲۴/۹ تا ۳۶/۶ درصد از تغییرات فراوانی ضایعات شیردان را تبیین کند. سن به تنهایی ۳۸/۲۱ درصد تغییرات زخم، وجود جسم خارجی به تنهایی ۳۹/۶۵ درصد تغییرات زخم و جنسیت به تنهایی ۹/۰۴ درصد تغییرات زخم شیردان را توجیه کرد. تأثیر نتایج نشان می‌دهد که فقط وجود جسم خارجی (P=۰/۰۰۰۱) و سن (P=۰/۰۰۰۱) به طور معنی‌داری بروز ضایعات شیردانی را پیش‌بینی می‌کند و چون جهت تأثیرات مربوط به متغیر جسم خارجی و سن

مثبت است لذا بیان‌گر این نکته می‌باشد که وجود جسم خارجی و همچنین افزایش سن، سبب بالا رفتن شانس ابتلا به ضایعات شیردانی می‌شود (Table 3).

بحث

علت مرگ ۱/۶ درصد از گاوهای پرواری جوان، خون-ریزی و بروز زخم‌های متنفذه شیردان بوده که به عنوان یک یافته‌ی تصادفی به ثبت رسیده است (Jelinski et al. 1995). در این مطالعه هیچ موردی از ضایعات نوع ۳ و ۴ در شیردان‌های بررسی شده وجود نداشت و با توجه به این، نویسندگان تمرکز مطالعه‌ی حاضر را بر روی بررسی دقیق-تر ویژگی‌های مورفولوژیکی و توپوگرافی ضایعات نوع ۱ و ۲ و همچنین ارتباط این ضایعات با عوامل خطر میزبانی و محیطی قرار دادند. فراوانی کلی ضایعات شیردانی در مطالعه‌ی حاضر ۷۴/۵ درصد با فاصله‌ی اطمینان ۹۵ درصدی برابر با ۷۹/۳۱–۷۱/۲ درصد بود و ۲۹۸ مورد از ۴۰۰ شیردان بررسی شده حداقل یک نوع ضایعه داشتند. در ایران چندین مطالعه کشتارگاهی در مناطق غربی و شمال کشور در خصوص فراوانی انواع ضایعات شیردانی در گاو، گاومیش و گوسفند به انجام رسیده که بیان‌گر دامنه‌ی شیوع گسترده‌ی ضایعات شیردانی بین ۱/۲ تا ۸۱/۶ درصد است (Raoofi et al. 2001, Raoofi et al. 2007, Ramin and Mizban 2012, Mousavi et al. 2015, Akbari et al. 2017). در سطح جهان نیز مطالعات کشتارگاهی محدودی در این خصوص طراحی و انجام گرفته است. در یک مطالعه‌ی کشتارگاهی در استرالیا ۶۵/۹ درصد از گاوهای پرواری، ۴۸/۵ درصد از گاوهای شیری و ۵۹/۳ درصد از گوساله‌های شیرخوار دارای ضایعات شیردانی بودند (Hund et al. 2016). در یک بررسی کشتارگاهی دیگر مشخص شد تنها ۱ درصد از گاوهای شیری ضایعه‌ی شیردانی دارند (Aukema and Breukink 1974). Mesaric در سال ۲۰۰۵ و همچنین Munch و همکارن در سال ۲۰۱۹ شیوع بالاتر از ۸۰ درصدی ضایعات شیردان را در گاوهای شیری اعلام نمودند. بر اساس بررسی صورت گرفته شیوع زخم‌های شیردانی در مطالعه‌ی حاضر پس از مطالعه‌ی Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۷ در تبریز در جایگاه دوم بالاترین فراوانی رخداد در کشور قرار دارد. تحقیقات نشان داده که شیوع ضایعات شیردانی بسته به جمعیت بررسی شده، نحوه‌ی تشخیص و طبقه‌بندی یافته‌های حاصله بسیار متغیر است. اگر چه بررسی خط زمانی مطالعات بیان‌گر این نکته است که به تدریج در سالیان اخیر رخداد ضایعات شیردانی رو به افزایش است که این نکته می‌تواند ریشه در افزایش استرس‌های وارده به نشخوارکنندگان به ویژه گاوهای شیری به علت افزایش تقاضای تولید شیر و تغییر در جیره داشته باشد. لذا پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی به بررسی نقش حجم خوراک دریافتی و ترکیبات جیره (خصوصاً منبع کربوهیدرات جیره) به عنوان یک عامل خطر در بروز ضایعات شیردانی پرداخته شود. در استان لرستان در بیشتر فصول سال دسترسی به چراگاه جهت تغذیه دام‌های بومی، میسر است و مطالعات نشان داده حضور در سطح چراگاه اگر چه همراه با کاهش استرس است اما به دلیل افزایش احتمال آلودگی به انگل‌های خونی (تیلریوز) و دستگاه گوارشی (استرتاژیا، تریکواسترونژیلوس و کوپریا)، کمبودهای تغذیه‌ای (مس و سلنیوم) و همچنین مصرف برخی گیاهان مرتعی می‌تواند بر افزایش ضایعات شیردان اثرگذار باشد (Bus et al. 2019).

در یک مطالعه کشتارگاهی ۲۰/۵ درصد از گاوها زخم نوع ۱ شیردانی داشتند و فراوانی زیر گونه‌های نوع ۱a تا ۱d به ترتیب برابر با ۲۹/۹، ۲۸/۹، ۳۲/۶ و ۸/۶ درصد بود (Braun et al. 1991). نتایج مطالعه‌ی حاضر در استان لرستان نشان داد، رایج‌ترین ضایعات نوع ۱ به ترتیب ۱a، ۱b، ۱c و ۱d با ۳۱/۸۸، ۲۰/۱۳، ۱۵/۱۰ و ۷/۷۲ درصد است که از این حیث مشابه با نتایج مطالعه‌ی Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۷ در گاو و بر خلاف یافته‌های Ghadrdan-Mashhadi و همکاران در سال ۲۰۱۰ در گاومیش بود. با توجه به عدم رویت هیچ موردی از زخم‌های بالینی نوع ۳ و ۴ در مطالعه‌ی حاضر، به نظر می‌رسد اهمیت توجه به

زخم‌های غیر بالینی نوع ۱ (۷۴/۸۳ درصد از کل ضایعات) و ۲ (۲۵/۱۷ درصد از کل ضایعات) بسیار مهم‌تر است چرا که این دام‌ها عموماً از گله حذف نمی‌شوند اما به دلیل وجود دردهای شکمی (در ۳۰ درصد مبتلایان به ضایعات نوع ۱) و عدم وجود روش تشخیصی اختصاصی و قطعی برای مشخص نمودن آن‌ها می‌تواند سبب کاهش تولید شیر و اختلال در عملکرد تولیدمثلی دام‌های ماده شود. اگر چه در مطالعات دیگری نشان داده شده که زخم‌های نوع ۱ و ۲ بر تولید شیر و نرخ باروری آثار معنی‌داری ندارد (Nielsen et al. 2019). علاوه بر آن نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد که احتمالاً ضایعات شیردانی نوع ۱ و ۲ پیشرفت نکرده و به نوع ۳، ۴ و حتی ۵ تبدیل نمی‌شود و یا این که نوع ۳، ۴ و ۵ ضایعات شیردانی خیلی سریع و عموماً به دنبال عوامل تروماتیک ایجاد شده و فرصت کافی برای ارجاع دام به کشتارگاه میسر نیست.

مطالعات مختلف در خصوص ارتباط بین جنسیت و فراوانی ضایعات شیردانی نتایج متناقضی را به ثبت رسانده است. بر این اساس مطالعه Hob naghi و همکاران در سال ۲۰۱۵ مشخص کرد که شیوع زخم‌های شیردانی به طرز معنی‌داری در گاو و گوسفندان ماده بیش‌تر از نر است. همچنین Ramin و Mizban در سال ۲۰۱۲ نشان دادند اگر چه شیوع ضایعات شیردانی در ماده بیش‌تر از نر بود اما از نظر آماری اختلاف معنی‌داری برقرار نیست. در مقابل نتایج مطالعه‌ی Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۷ بیان‌گر بالاتر بودن معنی‌دار تعداد ضایعات شیردان در جنس نر و شانس ابتلای بالاتر جنس نر در مقابل جنس ماده بود. نتایج مطالعه‌ی حاضر در کشتارگاه گلشن خرم‌آباد همسو با نتایج Hob naghi و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دهنده‌ی بالاتر بودن معنی‌دار ضایعات شیردانی در جنس ماده در مقایسه با جنس نر بود و نسبت شانس ابتلا به ضایعات شیردانی در جنس ماده ۱/۲۵ برابر بیش‌تر از نر بود. ارتباط سن با جنس ماده در وقوع ضایعات شیردانی توسط استرس‌های طول حیات که سبب کاهش خون‌رسانی به بافت شیردان می‌گردد قابل توجیه است. زمان نگهداری دام‌های نر اصولاً کمتر از ماده‌ها است و استرس‌ها تا یک سالگی در نر و ماده تقریباً مشابه است اما با افزایش سن، استرس‌هایی از قبیل آبستنی، زایمان، دوره‌ی انتقالی، تولید شیر و فحلی در جنس ماده ایجاد و افزایش رخداد ضایعات را به همراه دارد. در نقطه‌ی مقابل دام‌های نر را دامداران با حجم فراوانی از مواد دانه‌ای که اغلب بدون رعایت دوره آداپتاسیون می‌باشد، پرورش می‌دهند تا هر چه سریع‌تر پروار و روانه بازار شوند. همین نکته علاوه بروآرد آوردن استرس ناشی از تغییرات مکرر جیره‌ی غذایی سبب افزایش اسیدیته محیط شیردان و مستعد نمودن شرایط برای ایجاد ضایعات مخاطی به دنبال برهم خوردن تعادلی بین مکانیسم‌های دفاعی و تهاجمی شیردان می‌گردد. البته برخی محققین دیگر بر این باورند که جنسیت به خودی خود نمی‌تواند به عنوان یک فاکتور خطر داخلی در بروز ضایعات شیردانی به شمار آید بلکه کیفیت و کمیت تغذیه را بر شرایط جنسی غالب دانسته‌اند (Jelinski et al. 1995, Raoofi et al. 2007, Ghadrdan-Mashhadi et al. 2010).

نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان داد به دنبال افزایش سن فراوانی ضایعات شیردانی نیز افزایش می‌یابد به نحوی که بیش‌ترین شیوع در گاوهای گروه سنی بزرگ‌تر از ۴ سال دیده شد. از این حیث نتایج این تحقیق همسو با یافته‌های دیگر مطالعات در گاومیش (Ramin and Mizban 2012, Hussain et al. 2019) و گاو (Mousavi et al. 2015) و مغایر با نتایج Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۷ و Ghadrdan-Mashhadi و همکاران در سال ۲۰۱۰ بود. نتایج برخی مطالعات حاکی از فراوانی بالاتر زخم‌های شیردانی در گروه سنی زیر دو سال و برخی دیگر در گروه‌های سنی ۴ و بالای ۴ سال دارند. شانس ابتلا به ضایعات شیردانی گاوهای گروه سنی بالای ۴ سال در این مطالعه ۳/۵۳ برابر بیش‌تر بود که این مقدار در مطالعه‌ی Hussain و همکاران در سال ۲۰۱۹ در گروه سنی بالای ۶ سال ۲/۹۵ برابر دیگر گروه‌های سنی بود. بر اساس منابع امکان ایجاد ضایعات شیردانی در گروه‌های سنی زیر ۵ ماه بیش‌تر از دیگر گروه‌های سنی است، چون در گوساله‌های

شیر خوار مهم‌ترین آنزیم‌های پروتئولیتیک پپسین و کیموزین است که اگر اسیدیته شیردان برای مدتی بالا بماند خطر وارد آمدن آسیب به مخاط شیردانی بالا می‌رود (Ahmed et al. 2002) و به ندرت حیوانات مسن دچار ضایعات اولسراتیو و متنفذه می‌شوند که به پریتونیت‌های شدید ختم می‌گردد (Njaa et al. 2012). در یک مطالعه‌ی دیگر که بر روی گوسفند انجام گرفت مشخص شد شدیدترین ضایعات درشت بینی شیردان در بره‌ها بین سن ۴ تا ۱۰ هفتگی رخ می‌دهد (Buddle et al. 1988). با افزایش سن تغییر در برنامه‌های مدیریتی، تغذیه‌ای و وارد آمدن استرس‌های محیطی به تدریج می‌تواند زمینه را برای بروز زخم شیردانی مهیا کند. با افزایش سن، جثه دام تغییر کرده و نیازهای تغذیه‌ای بالا می‌رود که این مسئله می‌تواند باعث افزایش تولید اسیدهای چرب فرار در شکمبه، ورود به شیردان و کاهش حرکات و میزان تخلیه شیردان شود. این پدیده در کنار کاهش تدریجی فعالیت لایه‌های محافظتی مخاط شیردانی می‌تواند باعث شکل‌گیری ضایعات شیردانی شود. اما به طور کلی بروز ضایعات شیردانی در تمامی سنین امکان‌پذیر است (Constable et al. 2016).

از مجموع ۴۰۰ شیردان بررسی شده در این مطالعه، ۱۵۷ مورد (۳۹/۲۵ درصد) دارای جسم خارجی (سنگ ریزه و ماسه: ۹۳ درصد؛ فلز: ۷ درصد) بودند که از این تعداد، ۱۴۵ مورد (۹۲/۳۵ درصد) حداقل یک ضایعه‌ی شیردانی داشتند و شانس ابتلا به زخم در دام‌های دارای جسم خارجی ۶/۱۶ برابر بیش‌تر از دام‌های فاقد جسم خارجی بود. ممکن است ترومای وارده به دیواره‌ی شیردان ناشی از سنگ و ماسه یا تریکوبزوار و اجسام فلزی سبب افزایش احتمال ایجاد زخم شود. اگر چه مطالعات نشان داده احتمال این که تریکوبزوار در گسترش زخم‌های متنفذه کشنده گوساله نقش داشته باشد اندک است (Katchuik 1992, Jelinski et al. 1995). در مقابل ذرات درشت علوفه خشبی و کاه در گوساله‌هایی که تنها با علوفه تغذیه می‌شوند نه تنها بر سلامت کلی اثر منفی دارد بلکه سبب افزایش شیوع ضایعات می‌شود (Mattiello et al. 2002, Ba¨hler et al. 2010). مواد خشبی، فیبری و کاه سبب ساییدگی، خراش‌های سطحی و افزایش زمان تخلیه شیردان به علت انسداد نسبی پیلور می‌شوند که در ادامه منجر به تحریک و حساسیت مخاط شیردان و ایجاد ضایعه اولیه می‌شود و به تدریج این ضایعات به سمت عمقی‌تر شدن پیش می‌رود (Brscic et al. 2011). نتایج بررسی ۴۹۲ شیردان گاو در کشتارگاه ارومیه نشان داد که در ۱۰/۹۷ درصد موارد جسم خارجی و تریکوبزوار و در ۱/۰۱ درصد موارد خاک و شن دیده و مشخص شد ارتباط نزدیکی بین زخم‌های شیردانی و جسم خارجی وجود دارد شد (Tehrani et al. 2012). همچنین مطالعه‌ی Raoofi و همکاران در سال ۲۰۰۷ مشخص کرد در ۲۴۴ مورد شن در داخل شیردان دیده شده که از این تعداد ۲۹/۱ درصد دچار زخم بودند و ثابت شد بین ترومای ناشی از شن و بروز زخم ارتباط وجود دارد. در یک مطالعه موردی نیز مشخص شد دو مورد جسم خارجی فلزی از شیردان یک راس گاو ۲ ساله ماده که سبب دل درد شدید و زخم شیردانی خون‌ریزی دهنده شده بود پس از تأیید رادیوگرافی و لاپاراسکوپی به روش جراحی خارج شد (Constant et al. 2016) که نشان دهنده احتمال ورود جسم خارجی فلزی متنفذه به شیردان است.

محققین در آلمان نشان دادند که وقوع زخم‌های شیردان در فصل تابستان بیش‌تر است که این یافته را مرتبط با مصرف بالای کودهای نیتروژنه در مراتع در فصل تابستان دانسته‌اند (Fecteau and Whitlock 2009). از طرفی تغذیه در مراتع در فصل تابستان می‌تواند با آلودگی بیش‌تر انگلی توأم باشد که آن هم منجر به افزایش موارد زخم شیردان می‌گردد (Khodakaram-Tafti et al. 2015, Constant et al. 2016) اما مطالعات انسانی نشان داده شیوع زخم‌های خون‌ریزی دهنده‌ی معدی در فصول سرد بیش‌تر از فصول گرم سال است و دلیل آن کاهش بیان معنی‌دار HSP70 (Heat Shock Protein 70)، فاکتورهای محافظ مخاطی و افت ضخامت مخاطی آنتروم معدی در فصول سرد است که می‌تواند ناشی از کاهش خون‌رسانی باشد (Yuan et al. 2015). مطالعه‌ی

Ramis و همکاران در سال ۲۰۰۶ نیز نشان داد فراوانی زخم‌های معدی خوک در فصول پاییز و زمستان بیش‌تر از بهار و تابستان است. اما نتایج مطالعه‌ی Raoofi و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Tehrani و همکاران در سال ۲۰۱۲ ثابت کرد با وجود این که فراوانی زخم شیردان گاو در فصل تابستان بیش‌تر از سایر فصول است اما ارتباط معنی‌داری بین فصول مختلف در وقوع زخم‌های شیردان مشاهده نشد. این در حالی است که مطالعه‌ی حاضر نشان داد نه تنها فراوانی ضایعات شیردانی در فصل تابستان بیشتر است بلکه از نظر آماری با سایر فصول سال اختلاف معنی‌داری وجود دارد و شانس رخداد ضایعات در فصل تابستان ۱/۷۳ برابر بیش‌تر است که این نتایج در توافق با مطالعه‌ی Akbari و همکاران در سال ۲۰۱۷ بود. قطعاً شرایط تغذیه‌ای و خوراک دام مهم‌ترین پارامتر محسوب می‌شود و اغلب ضایعات شیردانی با تغییرات تغذیه‌ای که تابع تغییر فصول سال به ویژه در دام‌های بومی و دو رگ که به صورت سنتی و وابسته به چراگاه نگهداری می‌شوند، در ارتباط است. بسته به سن، وضعیت تغذیه‌ای، میزان تولید، مدیریت و سطح استرس وارده به دام تعداد ضایعاتی که در شیردان ممکن است ایجاد شود متغیر است. نتایج مطالعه Ghadrdan-Mashhadi و همکاران در سال ۲۰۱۰ و Raoofi و همکاران در سال ۲۰۰۱ نشان داد که تعداد زخم‌های شیردانی از ۱ تا ۲۶ مورد در گاومیش و از ۱ تا ۲۰ در گاو مورد متغیر است. در بررسی Raoofi و همکاران در سال ۲۰۰۷ نیز که بر روی ۴۰۰ راس گاو انجام گرفت، مشخص شد که ۱۴ راس از دام‌ها بیش از ۱۰ زخم شیردانی داشتند. لازم به ذکر است که امکان وقوع همزمان تا حداکثر ۲۰۰ مورد ضایعه در شیردان گاو وجود دارد (Francoz and Guard 2002) و بسته به فاکتورهای خطر داخلی و خارجی مؤثر بر وضعیت شیردان دامنه وقوع ضایعات گسترده است. نتایج مطالعه حاضر نشان داد کم‌ترین تعداد ضایعات با ۱ مورد در شیردان ۴۲ راس از گاوها بود و ۳۸ راس از دام‌های بررسی شده بیش از ۱۰ ضایعه شیردانی داشتند (۴ راس بومی، ۴ راس دورگ و ۲ راس اصیل هلشتاین) که از این میان یک راس گاو ۶ ساله دو رگ با ۴۳ ضایعه بیش‌ترین رخداد را به خود اختصاص داد. به نظر می‌رسد در گاوهای استان لرستان وجود عوامل استرس‌زای فراوان مانند بیماری‌های زمینه‌ای دردناک و جابجایی‌ها در طول حیات اقتصادی دام می‌تواند یکی از مهم‌ترین دلایل در توجیه تعداد بالای ضایعات در مقایسه با سایر مطالعات از این دست باشد. ضمن آن که گاوهای بومی و دو رگ در کشورمان عموماً حیات اقتصادی بیشتری داشته و حتی علی‌رغم کاهش فراوان تولید در گذر زمان به دلیل این که در بسیاری از موارد نحوه‌ی پرورش و نگهداری آن‌ها سنتی است در سیستم باقی می‌مانند و همین مورد نیز می‌تواند باعث احتمال بالاتر بودن ضایعات شیردانی در گاوهای بومی و دو رگ نسبت به اصیل باشد که در واقع تابع غیر مستقیم سن محسوب می‌شود.

در خصوص موقعیت توپوگرافیک ضایعات شیردان گاو، نتایج این مطالعه نشان دهنده‌ی بیش از دو برابر بودن ضایعات پیلور (۶۹/۴۶ درصد) در مقایسه با فاندوس (۲۹/۸۶ درصد) شیردان بود. این نتایج مشابه با یافته‌های برخی مطالعات در خصوص رخداد بیش‌تر ضایعات در پیلور (Mills et al. 1990, Fecteau and Whitlock 2009, Hund et al. 2016, Akbari et al. 2017) و در مغایرت با یافته‌های دیگر مطالعات در خصوص بروز بیش‌تر ضایعات در فاندوس گاو، گاومیش و گوسفند است (Raoofi et al. 2007, Tajik et al. 2013, Khodakaram-Tafti et al. 2015). اگر چه انتظار بروز ضایعات در هر نقطه از شیردان وجود دارد اما علل احتمالی بالاتر بودن وقوع ضایعات پیلوریک در این مطالعه می‌تواند ناشی از ریفلاکس ترشحات صفراوی به درون پیلور، کاهش نرخ تخلیه شیردان و برهم خوردن محیط هموستاتیک داخلی شیردان و تأثیر تغذیه با علوفه‌ی خشک و خشبی و انسداد نسبی پیلور و یا تریکو- فیتوبزوار باشد (Marshall 2009). در این تحقیق ضایعات به سه شکل خطی، مدور یا بیضوی و نامنظم دیده شد که البته بیش از ۵۰ درصد ضایعات از نوع خطی بودند. در مطالعه‌ی Raoofi و همکاران در سال

۲۰۰۱ و Mousavi و همکاران در سال ۲۰۱۶ نیز بیش‌تر ضایعات از نوع خطی بودند، ضمن آن که ضایعات مدور و بیضوی عموماً در ناحیه‌ی فاندوس و ضایعات خطی بر روی چین‌های شیردانی قرار داشتند. از نظر اندازه‌ی طولی بزرگ‌ترین ضایعه‌ی دیده شده در مطالعه‌ی حاضر با طول ۶۰ میلی‌متر در ناحیه‌ی فاندوس یک راس گاو ماده ۳ ساله و بزرگ‌ترین ضایعه‌ی مدور در مطالعه‌ی حاضر با قطری برابر با ۱۰ میلی‌متر در ناحیه‌ی پیلور یک راس گاو ماده ۲ ساله قرار داشت. ضایعات گرد و بیضوی رویت شده در مطالعه‌ی Raoofi و همکاران در سال ۲۰۰۱ اندازه‌ای بین ۲ تا ۲۵ میلی‌متر داشتند.

یافته‌های درشت بینی مطالعه‌ی حاضر تقریباً در بردارنده تمامی مشخصه‌های کلاسیک ضایعات شیردانی بر طبق انتظار بود، به استثنای پر خونی و خونریزی شیردان که به عنوان یک یافته‌ی پر تکرار با ۱۰/۷۵ درصد فراوانی در کل شیردان‌های بررسی شده در این مطالعه به ثبت رسید. به طور کلی شیردان در مقایسه با سایر بخش‌های دستگاه گوارشی نشخوارکنندگان دارای سطح سروزی بنفش و سطح مخاطی قرمز تا بنفش است. وجود نواحی قرمز رنگ خون‌ریزی و پرخونی چند کانونه در سطح مخاطی شیردان غالباً نشانه پروسه‌های التهابی اولسراتیو یا انفارکتوسی است (Njaa et al. 2012) که به دلیل آسیب‌های عروقی ناشی از سموم، کورتیکوستروئیدها (داخلی، خارجی) و بیماری‌های عفونی رخ می‌دهد. التهاب شیردان یک عارضه اسپورادیک به شمار می‌رود که به ویژه در نشخوارکنندگان شیرخوار به دلیل طیف وسیعی از عوامل عفونی می‌تواند همراه با خون-ریزی منتشر و التهاب نکروتیک سطوح مخاطی و لایه‌های عمقی شیردان به صورت حاد یا مزمن رخ دهد. Jensen و همکاران در سال ۱۹۷۶ گزارش کرده‌اند که زخم‌های شیردانی همراه با پر خونی و التهاب شیردان عموماً یک یافته کالبدگشایی است و در بالین قابل تشخیص نیست. در مطالعه‌ی حاضر ۱۲/۱ درصد از شیردان‌های دارای ضایعات، شواهد ماکروسکوپی دال بر خون‌ریزی و پرخونی گسترده را داشتند که این مقدار در شیردان‌های فاقد ضایعه برابر با ۴/۹ درصد بود.

به طور کلی نتایج این مطالعه ثابت کرد که ضایعات شیردانی در گاوهای استان لرستان به عنوان یک پدیده رایج کشتارگاهی محسوب می‌شود و عوامل خطر داخلی و خارجی شامل جنسیت، سن، جسم خارجی و فصل در تغییرات شیوع این عارضه اثرگذار است. اگر چه در مطالعه‌ی حاضر ضایعات و زخم‌های شیردانی شدید و بالینی دیده نشد اما ضایعات نوع ۱ و ۲ به اشکال مختلف (خطی، مدور، بیضوی و نامنظم) در موقعیت‌های آناتومیکی متفاوت شیردان (پیلور، کاردیا و فاندوس) و با ابعاد متنوعی قابل رویت بودند. دو مورد از محدودیت‌های مطالعه‌ی حاضر عدم امکان اخذ نمونه میکروبیولوژی از ضایعات جهت کشت و همچنین عدم دسترسی به تاریخچه‌ی دام‌ها در خصوص نوع تغذیه و سیستم پرورش و نگهداری آن‌ها بود. به نظر ما، نتایج این مطالعه باید در یک کارآزمایی بالینی و آینده‌نگر تأیید شود تا اهمیت آن بیش از پیش روشن گردد. به دلیل فقدان وجود مدل‌های مناسب درون تنی برای مطالعه بر چگونگی شکل‌گیری ضایعات شیردانی در گاو، بخش اعظمی از حدس و گمان‌ها در این خصوص کماکان مجهول باقی مانده است و لذا دانستن هر چه دقیق‌تر فاکتورهای خطر مرتبط با بروز این عارضه‌ی گوارشی می‌تواند ارزشمند باشد. توصیه می‌شود در مطالعات آتی سایر فاکتورهای احتمالی مؤثر در بروز ضایعات شیردانی از قبیل کلونیزاسیون باکتریایی و قارچی شیردان، میزان کربوهیدرات جیره، آلودگی به تیلریوز، BVD، وضعیت ویتامین A و E و غلظت مس بدن و همچنین تأثیر واقعی این یافته‌ها بر اقتصاد دامپروری و آسایش دام به دقت ارزیابی شود.

تشکر و قدردانی

نویسندگان تمایل دارند تا مراتب قدردانی خود را از کارشناس محترم آزمایشگاه پاتولوژی (دکتر پیرزاده) و مسئول فنی- بهداشتی کشتارگاه گلشن (دکتر نورمحمدی) به دلیل همکاری در مراحل مختلف مطالعه حاضر، اعلام نمایند.

تعارض منافع

بین هیچ یک از نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

منابع مالی

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی مصوب به شماره ۹۶/۳/۰۳/۵۲۹۹۸ در دانشگاه لرستان انجام گردیده است. نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه لرستان به سبب حمایت مالی مراتب قدردانی را دارا هستند.

منابع

Ahmed, A.F., Constable, P.D. & Misk, N.A. (2005). Effect of orally administered omeprazole on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *J. Vet. Med. A Phys. Path. Clin. Med*, 52(5), 238-243.

Ahmed, A.F., Constable, P.D. & Misk, N.A. (2002). Effect of feeding frequency and route of administration on abomasal luminal pH in dairy calves fed milk replacer. *J Dairy Sci*, 85,1502-1508.

Ahmed, A.F., Constable, P.D. & Misk, N.A. (2001). Effect of orally administered cimetidine and ranitidine on abomasal luminal pH in clinically normal milk-fed calves. *Am. J. Vet. Res*, 62,1531-1538.

Akbari, H., Shahbazfar, A.A., Araghi-Sooreh, A., Hasannejad, H., Zangisheh, M. & Taheri, M. (2017). Macroscopic and pathologic evaluation of cattle abomasal ulcers in Tabriz industrial slaughterhouse. *Vet. Res. Bio. Prod*, 30,192-202. (In Persian)

Aukema, JJ. & Breukink, HJ. (1974). Abomasal ulcer in adult cattle with fatal haemorrhage. *Cornell Vet. J*, 64,303-17.

Ba¨hler, C., Regula, G. & Stoffel, M.H. (2010). Effects of the two production programs Naturafarm' and 'conventional' on the prevalence of non-perforating abomasal lesions in Swiss veal calves at slaughter. *Res. Vet. Sci*, 88,352-630.

Braun, U., Eicher, R. & Ehrensperger, F. (1991). Type 1 abomasal ulcers in dairy cattle. *Zentralbl Vet. Med. A*, 38,357-66.

Braun, U., Bretscher, R. & Gerber, D. (1991). Bleeding abomasal ulcers in dairy cows. *Vet. Rec*, 129(13): 279-284.

Braun, U., Reif, C., Nuss, K., Hilbe, M. & Gerspach, C. (2019). Clinical, laboratory and ultrasonographic findings in 87 cows with type-4 abomasal ulcer. *BMC Vet. Res*, 15,100.

Braun, U., Gerspach, C., Reif, C., Hilbe, M. & Nuss, K. (2020). Clinical, laboratory and ultrasonographic findings in 94 cows with type-1 abomasal ulcer. Schweiz Arch Tierheilk, 162, 235-244.

Brown, C.C., Baker, D.C. & Barker, I.K. (2007). Alimentary System. In: Jubb Kennedy and Palmer's Pathology of Domestic Animals. (4th ed.) Saunders, London, UK. Pp: 63-67.

Buddle, B.M., Herceg, M. & Ralston, M.J. (1988). A goat mortality study in the southern North Island. *New Zea. Vet. J*, 36,167-170.

Bus, J.D., Stockhofe, N. & Webb, L.E. (2019). Invited review: Abomasal damage in veal calves. *J. Dairy Sci*, 102,943-960

Brscic, M., Heutinck, L.F.M., Wolthuis-Fillerup, M., Stockhofe, N., Engel, B. & Visser, E.K. (2011). Prevalence of gastrointestinal disorders recorded at postmortem inspection in white veal calves and associated risk factors. *J. Dairy Sci*, 94,853-863.

Cable, C.S., Rebhun, W.C. & Fubini, SL. (1998). Concurrent abomasal displacement and perforating ulceration in cattle: 21 cases (1985-1996). *J. Am. Vet. Med. Asso*, 212,1442-1445.

Clissold, S.P. & Campoli-Richards, D.M. (1986). Omeprazole. A preliminary review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic potential in peptic ulcer disease and Zollinger-Ellison syndrome. *Drugs*, 32,15-47.

Constable, P.D., Hinchcliff, K.W., Done, S.H. & Grunberg, W. (2016). Veterinary Medicine. (11th ed.). Elsevier, Missouri, USA, Pp: 1346-1348.

Constant, C., Francoz, D., Babkine, M. & Desrochers, A. (2016). Imaging diagnosis-Traumatic abomasitis caused by foreign bodies in a cow. *Vet. Radio. Ultras*, 57 (6): 63-66.

Costa, L.R., Gill, M.S., Williams, J., Johnson, A.J., Angel, K.L. & Mirza, M.H. (2002). Abomasal ulceration and abomasopleural fistula in an 11-month-old beef master bull. *Can. Vet. J*, 43,217-219.

Fecteau, M. & Whitlock, R.H. (2009). Abomasal Ulcers. In: Current Veterinary Therapy: Food Animal Practice. Anderson, D.E. and Rings, D.M. (eds.). Saint Louis: W.B. Saunders, London, UK.

Fox, F.H. (1980). The esophagus, stomach, intestines and peritoneum. In: Bovine medicine and surgery. Amstutz, H. (2nd ed.) Santa Barbara (CA): American Veterinary Publications, USA. Pp: 667-668.

Francoz, D. and Guard, C.L. (2002) Abomasoal ulcers. In: Large Animal Internal Medicine. Smith, B.P. (ed.). (3rd ed.) Mosby and Elsevier, Missouri, USA.

Gerspach, C., Oschlies, C., Kuratli, J. & Braun, U. (2020). Ultrasonographic documentation of type-3 abomasal ulcer in a cow with left displacement of the abomasum. *Acta Vet. Scand*, 62,29.

Ghadrdan-Mashhadi, A., Esmaeilzadeh, S. & Gandomi, M. (2010). Prevalence of different abomasal ulcers in buffalos of Ahvaz: an abbatorial survey. *J. Vet. Res*, 65,351-356. (In Persian)

Hob-Naghi, R., Ramin, A., Amir-Tighi, S. & Gholzardi, A. (2015). An abattoir investigation of the subclinical abomasal ulcers in cattle and sheep in Urmia, west Azerbaijan. *Iran. J. Vet. Clin. Sci*, 9(1): 61-70. (In Persian)

Hund, A., Beer, T. & Wittek, T. (2016). Abomasal ulcers in slaughtered cattle in Austria. Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere, 44,279-85. (In German)

Hund, A. & Wittek, T. (2017). Abomasal and Third Compartment Ulcers in Ruminants and South American Camelids. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prac*, 34,35-54.

Hussain, S.A., Uppal, S.K. & Sood, N. (2019). The prevalence, frequency and topographic distribution of Type 1 abomasal ulcers in water buffalo (Bubalus bubalis): a case control study. *Vet. Arh*, 89,317-329.

Jelinski, M.D., Ribble, C.S. & Chirino-Trejo, M. (1995). The relationship between the presence of Helicobacter pylori, Clostridium perfringens type A, Campylobacter spp, or fungi and fatal abomasal ulcers in unweaned beef calves. *Can. Vet. J*, 36,379-382.

Jensen, R., Pierson, R.E. & Braddy, P.M. (1976). Fatal abomasal ulcers in yearling feedlot cattle. *J. Am. Vet. Med. Asso*, 169,524-6.

Katchuik, R. (1992). Abomasal disease in young beef calves: surgical findings and management factors. *Can. Vet. J*, 33,459-461.

Khodakaram-Tafti, A., Hajimohammadi, A. & Amiri, F. (2015). Prevalence and pathology of abomasal abnormalities in sheep in southern Iran. *Bulg. J. Vet. Med*, 18,270-276.

Kureljusic, B., Ivetic, V., Savic, B., Jezdimirovic, N., Cvetojevic, D., Kureljusic, J et al. (2013). Pathomorphological characteristics of abomasal ulcers in high-yielding dairy cows. *Acta Vet. Scand*, 63,237-246.

Marshall, T.S. (2009). Abomasal ulceration and tympany of calves. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prac*, 25,209-220.

Maton, P.N. & Burton, M.E. (1999). Antacids revisited. A review of their clinical pharmacology and recommended therapeutic use. *Drugs*, 57, 855-70.

Mattiello, S., Canali, E. & Ferrante, V. (2002). The provision of solid feeds to veal calves: II. Behavior, physiology, and abomasal damage. *J. Anim. Sci*, 80,367-375.

Mesaric, M. (2005). Role of serum pepsinogen in detecting cows with abomasal ulcer. *Vet. Arh*, 75,111–118.

Mills, K.W., Johnson, J.L. & Jensen, R.L. (1990). Laboratory findings associated with abomasal ulcers/tympany in range calves. *J. Vet. Diag. Invest*, 2,208-212.

Mousavi, S.M., Azimpour, S. & Hosseini, S.M. (2015). A survey on the rate of abomasal ulcers of local cattle slaughtered in Noor city abattoir. *J. Vet. Clin. Path*, 9,131-139. (In Persian)

Munch, S.L., Nielsen, S.S., Krogh, N.A. & Capion, N. (2019). Prevalence of abomasal lesions in Danish Holstein cows at the time of slaughter. *J. Dairy Sci*, 102,1-7.

Nielsen, S.S., Krogh, M.A., Munch, S.L. & Capion, N. (2019). Effect of non-perforating abomasal lesions on reproductive performance, milk yield and carcass weight at slaughter in Danish Holstein cows. *Prev. Vet. Med*, 167,101-107.

Njaa, B.L., Panciera, R.J., Clark, E.G. & Lamm, C.G. (2012). Gross Lesions of Alimentary Disease in Adult Cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Prac*, 28,483-513.

Nuss, K., Wehbrink, D. & Schweizer, G. (2005). Surgical treatment of type 3 abomasal ulcers in a cow. *Tierarztl Prax Ausg G Grosstiere Nutztiere*, 33,427-230. (In German)

Ok, M., Sen, I. & Turgut, K. (2001). Plasma gastrin activity and the diagnosis of bleeding abomasal ulcers in cattle. *J. Vet. Med. A Phys. Path. Clin. Med*, 48,563-568.

Palmer, J. & Whitlock, R. (1984). Perforated abomasal ulcers in adult dairy cows. J. Am. Vet. Med. Asso, 184,171-174.

Phiri, A. (2006). Common conditions leading to cattle carcass and offal condemnations at 3 abattoirs in the Western Province of Zambia and their zoonotic implications to consumers. *J. South Afr. Vet. Asso*, 77,28-32.

Ramin, A.G. & Mizban, S. (2012). An abattoir investigation of the abomasal ulcers and their relationship with age and sex in west Azerbaijan buffaloes. *Vet. Res. Bio. Prod*, 25,18-24. (In Persian)

Ramis, G., Gómez, S. & Ballesta, M. (2006). Esophagogastric ulcer in finishing pigs from twelve large multi-site herds in southeastern Spain, 1995-2000: Descriptive epidemiology. *J. Swine Heal. Prod*, 14,18-24.

Raoofi, A., Karimi, I., Mohammadzadeh, K. & Mardjanmehr, S.H. (2007). A survey on the frequency and macroscopic classification of abomasal ulcers in cattle at the slaughterhouse of Shahre-Kord, Iran. *Iran. Vet. J*, 3,14-20. (In Persian)

Raoofi, A., Mardjanmehr, S.H., Bokaie, S. & Hosseinifard, S.M. (2001). Prevalence study and pathological examination of abomasal ulcers at Babol›s abbatoir. *J. Vet. Res*, 56,65-68. (In Persian)

Rezaei, S., Zakian, A. & Moradpour, N. (2018). Methods of Determining age of ruminants and camelids by using dentition patterns. *Eltiam*, 6,56-72. (In Persian)

Smith, D.F., Munson, L. & Erb, HN. (1986). Predictive values for clinical signs of abomasal ulcer disease in adult dairy cattle. *Prev. Vet. Med*, 3,573-580.

Tajik, J., Khodakaram-TAFTI, A., Heidari, M. & Babazadeh, M. (2013). Prevalence, histopathological, and some epidemiological aspects of abomasal ulcers in water buffalo (*Bubalus bubalis*) in Iran. *Comp. Clin. Path*, 22,271-275

Tehrani, A., Javanbakht, J., Marjanmehr, S.H., Hassan, M.A. & Solati, A. (2012). A Pathological Lesions Study of Bovine Abomasums in Urmia Abattoir. *J. Clin. Exp. Path*, 2,121.

Thrusfield, M. (1995). Sampling. In: Veterinary Epidemiology (2nd Ed.). Black Well Science Ltd., London, UK. p. 179-284.

Whitlock, R.H. (1999). Abomasal ulcers. In: Current Veterinary Therapy and Food Animal Practice. Howard, J.L. and Smith, R.A. (eds.). (6th ed.) Saunders, London, UK. p. 527-532.

Whitlock, RH. (1980). Bovine stomach diseases. In: Veterinary gastroenterology Anderson, N.V. (ed.). Philadelphia: Lea and Febinger, p. 425-428.

Wiepkema, P.R., Van Hellemond, K.K. & Roessingh, P. (1987). Behaviour and abomasal damage in individual veal calves. *Appl. Anim. Behav. Sci*, 18,257-268.

Yuan, X.G., Xie, C., Chen, J., Xie, Y., Zhang, K.H. & Lu, N.H. (2015). Seasonal changes in gastric mucosal factors associated with peptic ulcer bleeding. *Exp. Therap. Med*, 9,125-130.

Zhang, S.X., Fu, K., Chi, X.X., Zhang, J.T., Gao, L. & Wang, H.B. (2015). Laparoscopic abomasal cannulation in sheep. *Vet. Med*, 60,314-322.

Received: 22.08.2020
Accepted: 14.11.2020

DOI: 10.22055/IVJ.2021.272510.2347
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.12.6

گزارش یک مورد هیپرپلازی فیبرواپیتلیال پستان در یک قلاده گربه‌ی مو کوتاه اهلی

آناهیتا رضائی[۱*]، سروش سابیزا[۲]، علیرضا غدیری[۳]، محمد اسدی‌ایرایی[۴] و آناهیتا معمار[۵]

[۱] دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۲] استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۳] استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۴] دستیار طب داخلی دام‌های کوچک، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
[۵] دانشجوی دکترای عمومی دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

دریافت: ۱۳۹۹/۱۱/۲۱ پذیرش: ۱۴۰۰/۲/۱۹

چکیده

هیپرپلازی فیبرواپیتلیال، یک تغییر فیزیولوژیک در بافت پستان است که با افزایش قابل توجه اندازه‌ی یک یا چند غده‌ی پستانی مشخص می‌شود. این بیماری به طور معمول در گربه‌های جوان دیده می‌شود و همچنین ممکن است در گربه‌های ماده با سن بالا نیز مشاهده شود. در این گزارش به بررسی مشخصات بالینی، رادیوگرافی و هیستوپاتولوژی یک گربه مبتلا به هیپرپلازی فیبرواپیتلیال پرداخته می‌شود. گربه‌ی ماده ۴ ساله با وزن ۲/۷ کیلوگرم که دارای یک توده‌ی بزرگ در زیر ناحیه‌ی شکمی بود، به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ارجاع داده شد. پس از انجام معاینه‌ی بالینی و ارزیابی رادیولوژی مورد عمل جراحی قرار گرفت و توده‌ی جدا شده به بخش پاتولوژی ارسال گردید. توده‌ی مزبور توپر بوده و در مقطع برش لوبول‌های متعدد که منظره‌ای شبیه به مغز گردو پیدا کرده بود، مشاهده شد. در بررسی میکروسکوپی، تکثیر سلول‌های اپیتلیال مجاری پستانی و تشکیل توبول‌های جدید قابل توجه بود. همچنین میزان زیادی بافت همبند در اطراف لوله‌های تشکیل شده، مشاهده گردید. در بین رشته‌های همبندی، فضاهای خالی وجود داشت که بیان‌گر ادم بود. لازم به ذکر است که هیچ‌گونه تغییرات بدخیمی دیده نشد. در مجموع با توجه به مشخصات بالینی، رادیولوژی و میکروسکوپی، هیپرپلازی فیبرواپیتلیال تشخیص داده شد. پاتوفیزیولوژی هیپرپلازی فیبرواپیتلیال پستان گربه به خوبی مشخص نشده است اما به احتمال زیاد تغییرات هورمون‌های جنسی در ایجاد آن نقش ایفا می‌نمایند.

کلمات کلیدی: هیپرپلازی فیبرواپیتلیال، تغییر فیزیولوژی، گربه، پستان

مقدمه

هیپرپلازی فیبرواپیتلیال، یک تغییر فیزیولوژیک در بافت پستان است که با افزایش قابل توجه اندازه یک یا چند غده پستانی مشخص می‌شود. هیپرپلازی فیبرواپیتلیال به طور معمول در گربه‌های جوان کمتر از دو سال، دیده می‌شود.

*نویسنده مسئول : آناهیتا رضائی، دانشیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران
E-mail: a.rezaie@scu.ac.ir

البته ممکن است در گربه‌های ماده با سن بالا نیز مشاهده شود (Hayes and mooney 1985). به ندرت در گربه‌های نر دیده شده است. این تغییر به نام‌های دیگری مانند هیپرپلازی فیبرآدنوماتوز و هیپرپلازی پستان گربه نیز شناخته می‌شود (Gimenez et al. 2010). در اغلب موارد، یک تغییر سریع، بدون وجود التهاب و درد و برگشت‌پذیر در پستان رخ می‌دهد. هیپرپلازی فیبرواپیتلیال همراه با تولید شیر نمی‌باشد. به طور معمول می‌توان بر اساس یافته-های بالینی تشخیص داده شود، اما می‌بایست از تومورهای پستان تفریق داده شوند (MacDougall 2003). گربه‌ها کمتر از سگ‌ها به تومورهای پستانی مبتلا می‌شوند و بیشتر تومورهای پستانی در گربه‌ها از نوع بدخیم بوده که احتمال متاستاز به غدد لنفاوی اطراف و ریه در آن‌ها بسیار زیاد است. به همین دلیل تفریق قطعی هیپرپلازی فیبرواپیتلیال از تومورها حائز اهمیت است که این امر فقط با بررسی میکروسکوپی امکان‌پذیر می‌باشد (Wehrend et al. 2001). هدف از این گزارش، بررسی مشخصات بالینی، رادیوگرافی و میکروسکوپی یک گربه مبتلا به هیپرپلازی فیبرواپیتلیال می‌باشد.

تاریخچه بیمار

یک قلاده گربه ماده ۴ ساله نژاد مو کوتاه اهلی (DSH) با وزن ۲/۷ کیلوگرم و وضعیت بدنی ۳ از ۹، که دارای یک توده بزرگ در زیر ناحیه شکمی بود، به بیمارستان دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز ارجاع داده شد. در معاینه بالینی، تعداد ضربان قلب، تعداد تنفس و درجه حرارت مقعدی طبیعی بودند. بنابر اظهارات صاحب حیوان، توده‌ی مذکور از حدود ۷ روز پیش ایجاد و در حال افزایش اندازه بود. این گربه، چهار ماه قبل زایمان داشته است. با معاینه بالینی، توده مذکور به یکی از غدد پستانی مرتبط بود و هیچ گونه آثاری از جراحت و یا درد در هنگام ملامسه نداشت. سپس اقدام به اخذ نمونه خون و شمارش تعداد سلول‌های خونی، ارزیابی بیوشیمیایی سرم، سنجش سطح الکترولیت‌ها و ارزیابی ادرار گردید که هیچ گونه مورد مشکوک و قابل توجهی گزارش نگردید. به منظور ارزیابی بیشتر، حیوان مورد نظر تحت ارزیابی اولتراسونوگرافی و رادیوگرافی قرار گرفت. همچنین با سنتز از غده‌ی پستانی مذکور، هیچ مایعی بذل نشد. بیمار جهت انجام جراحی برداشت توده پستانی و عقیم‌سازی (به درخواست صاحب حیوان)، به بخش جراحی ارجاع گردید. ابتدا با تجویز داخل عضلانی آسپرومازین با دوز ۰/۱ میلی-گرم/کیلوگرم آرامبخشی ایجاد شد. سپس آنژیوکت شماره ۲۴ در ورید سفالیک دست بیمار نصب و تثبیت گردید. پس از موزنی کامل محوطه‌ی شکمی، بیهوشی با تجویز داخل وریدی ترکیب دیازپام (۰/۲ میلی‌گرم/کیلوگرم) و کتامین (۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم) القا گردید و لوله‌گذاری نایی انجام شد و به منظور نگهداری بیهوشی نیز از روش بیهوشی استنشاقی با ایزوفلوران و غلظت ۱/۵ درصد و جریان اکسیژن ۱/۵ لیتر در دقیقه استفاده شد. سپس برش معمول سلیوتومی از رهیافت خط وسط شکم ایجاد و اواریوهیسترکتومی رحم آبستن به صورت اِن بلاک[1] صورت پذیرفت. پس از بستن خط وسط شکم و بخیه‌ی پوست به شکل معمول، برای برداشت توده‌ی پستانی اقدام به ایجاد برشی دوکی شکل در قاعده توده گردید. توده جدا شد و نقیصه‌ی ایجاد شده بخیه گردید. توده برداشت شده در ظرف حاوی فرمالین بافر ۱۰ درصد قرار داده شد و جهت ارزیابی‌های بیشتر به بخش پاتولوژی ارسال گردید.

نتایج

در ارزیابی اولتراسونوگرافی از محوطه‌ی شکمی، غدد پستانی ساختاری یکنواخت با لبه‌های طبیعی داشتند. همچنین بیمار، در وضعیت آبستنی سه هفته تشخیص داده شد. در نمای جانبی رادیوگرافی از غده پستانی، پستان اول قدامی بسیار بزرگتر و به طول ۱۰ سانتی‌متر و ضخامت ۶

1 En block

سانتی‌متر گزارش گردید (Fig 1.A). در بررسی ماکروسکوپی توده‌ی توپر و گرد به قطر حدود ۶ سانتی‌متر که توسط جراحی برداشت شد (Fig 1.C & 1.B). سطح مقطع توده، لوبوله و مشابه مغز گردو بود (Fig 1.D). توده مذکور سفید تا صورتی کم رنگ بوده و میزان کمی مایعات زرد تا قهوه‌ای رنگ، لابلای لوبول‌ها مشاهده گردید. در کیست، خون‌ریزی و نکروز دیده نشد. در بررسی میکروسکوپی، تکثیر سلول‌های اپیتلیال مجاری پستانی و تشکیل توبول‌های جدید قابل توجه بود. همچنین این مجاری توسط میزان زیادی بافت همبند احاطه شده بودند (Fig 2). در بین رشته‌های همبندی، فضاهای خالی مشاهده گردید که بیان‌گر ادم بود. لازم به ذکر است که هیچ گونه تغییرات بدخیمی مشاهده نگردید. در مجموع با توجه به مشخصات بالینی، رادیولوژی و میکروسکوپی، هیپرپلازی فیبرواپیتلیال تشخیص داده شد.

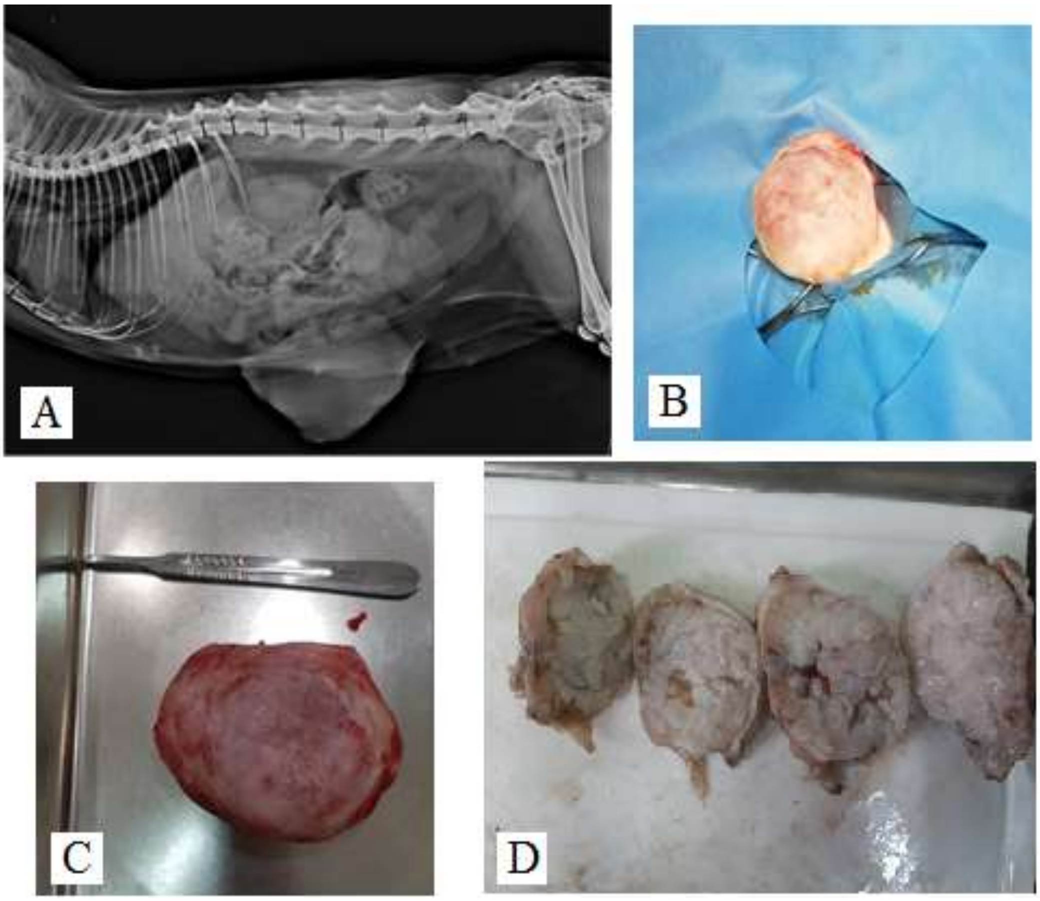

Fig 1. A: Radiographic picture. B: Mass during surgery. C: Mass after surgery. D: Cross section of the mass. It had multiple lobules and was similar to walnut kernel.

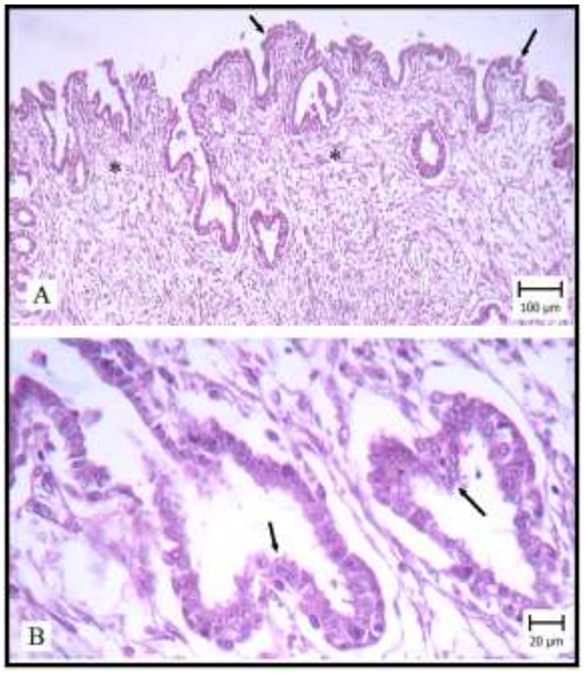

Fig 2. A: Microscopic figures, fibroepithelial hyperplasia in cat. Proliferation of epithelial cells (arrows), lose connective tissue (star), (H&E) (Bar=100 µm). B: Part of the (A) with more magnification. Note to proliferation of epithelial cells (arrows), (H&E) (Bar=20 µm).

بحث و نتیجه‌گیری

توده‌های پستانی در گربه از اهمیت بالایی برخوردار هستند، زیرا تومور در گربه‌ها، در بیش از ۸۰ درصد موارد بدخیم هستند. هیپرپلازی فیبرواپیتلیال، نیز که یک تغییر خوش‌خیم در پستان است شبیه تومورهای پستانی می‌باشد، لذا تشخیص قطعی آن از اهمیت به سزایی برخوردار است (Hayden et al. 1981). تشخیص هیپرپلازی در صورتی که همه غدد پستانی درگیر باشد با توجه به تاریخچه و علایم بالینی مشکل نیست. همچنین در بیشتر موارد پروژسترون خون بالا می‌باشد و یا این که در تاریخچه حیوان، سابقه‌ی مصرف پروژسترون موجود است (Millanta et al. 2005). اما زمانی که فقط یکی از غدد پستانی درگیر باشد و یک توده باشد، تشخیص مشکل است زیرا باید از تومورهای بدخیم تفریق داده شود (Payan-Carreira 2013). در این گربه نیز با توجه به این که یک توده بزرگ بود، لذا بررسی کامل میکروسکوپی صورت گرفت.

گاهی توده آنقدر بزرگ است که باعث ایجاد اختلال در راه رفتن حیوان می‌شود و اگر رسیدگی نشود موجب ایسکمی در توده پستانی می‌گردد (Pereira et al. 2004). در بعضی موارد نیز ممکن است به علت بزرگی و برخورد با زمین زخم شود و متعاقب آن عفونت و مرگ رخ دهد. هر چند هیپرپلازی فیبرواپیتلیال اگر پس از زایمان یا سقط رخ دهد، خود به خود بهبود می‌یابد، اما رسیدگی به آن و برداشت توده به علت حجیم بودن ضروری می‌باشد (Leidinger et al. 2011). در این گربه نیز به علت بزرگ بودن و به درخواست صاحب حیوان برداشت کامل توده صورت پذیرفت. اواریوهسترکتومی یا توقف استفاده از پروژسترون هر چند تأثیری در تحلیل خود به خودی توده ندارند اما بهتر است این موارد اجرا شوند (Leidinger et al. 2011). در این گربه نیز با توجه به رضایت صاحب حیوان، اواریوهیسترکتومی صورت پذیرفت. هیپرپلازی فیبرواپیتلیال به طور معمول در گربه‌های جوان کمتر از دو سال، دیده می‌شود. البته دامنه‌ی سنی که مطرح است شش ماه تا سیزده سال می‌باشد. سن گربه‌ی این گزارش چهار سال بود.

در بررسی ماکروسکوپی، هیپرپلازی فیبرواپیتلیال به دو صورت توپر و داخل توبولی دیده می‌شود. در شکل توپر یک بافت یکنواخت سفید تا خاکستری دیده می‌شود (Burstyn 2010). در شکل داخل توبولی، برآمدگی‌هایی دیده می‌شود که بین آن‌ها شکاف‌هایی تشکیل شده و در بین آن‌ها مقدار کمی مایعات دیده می‌شود (Payan-Carreira 2013). در این گزارش مشخصات ماکروسکوپی توده بیان‌گر نوع داخل توبولی بود.

علت اصلی ایجاد هیپرپلازی فیبرواپیتلیال پستان گربه به خوبی مشخص نشده است اما فرضیه‌ی موجود، سطح بالای پروژسترون سرم را عامل ایجاد آن معرفی می‌کند و حاکی از تولید بیش از حد اولیه این هورمون است که اثر تحریک کننده روی رشد اپیتلیوم غده پستانی دارد (Leidinger et al. 2011). هر چند در روند تشخیص و درمان این بیمار، سنجش میزان پروژسترون انجام نشد ولی به احتمال زیاد

بالا بودن سطح پروژسترون خون عامل ایجاد این توده بوده است. در نهایت هیپرپلازی فیبرواپیتلیال هر چند که یک آسیب کم خطر است، اما بهتر است که اقدامات تشخیصی و درمانی کاملی صورت پذیرد.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای بهداروند بابت تهیه نمونه‌های پاتولوژی تشکر و قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ گونه تضاد منافعی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز تأمین گردیده است.

منابع

Burstyn, U. (2010). Management of mastitis and abscessation of mammary glands secondary to fibroadenomatous hyperplasia in a primiparturient cat. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, *236*(3), 326-329.

Giménez, F., Hecht, S., Craig, L. E., & Legendre, A. M. (2010). Early detection, aggressive therapy: optimizing the management of feline mammary masses. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, *12*(3), 214-224.

Hayden, D. W., Johnston, S. D., Kiang, D. T., Johnson, K. H., & Barnes, D. M. (1981). Feline mammary hypertrophy/fibroadenoma complex: clinical and hormonal aspects. *American Journal of Veterinary Research*, *42*(10), 1699.

Hayes, A. A., & Mooney, S. (1985). Feline mammary tumors. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, *15*(3), 513-520.

Leidinger, E., Hooijberg, E., Sick, K., Reinelt, B., & Kirtz, G. (2011). Fibroepithelial hyperplasia in an entire male cat: cytologic and histopathological features. *Tierarztl Prax Ausg K Kleintiere Heimtiere*, *39*(3), 198-202.

MacDougall, L. D. (2003). Mammary fibroadenomatous hyperplasia in a young cat attributed to treatment with megestrol acetate. *The Canadian Veterinary Journal*, *44*(3), 227.

Millanta, F. A., Calandrella, M., Bari, G., Niccolini, M., Vannozzi, I, & Poli, A. L. E. S. S. A. N. D. R. O. (2005). Comparison of steroid receptor expression in normal, dysplastic, and neoplastic canine and feline mammary tissues. *Research in Veterinary Science*, *79*(3), 225-232.

Payan-Carreira, R. (2013). Feline mammary fibroepithelial hyperplasia: a clinical approach. *Insights from Veterinary Medicine. InTechOpen*, 215-232.

Pereira, P. D., Carvalheira, J., & Gärtner, F. (2004). Cell proliferation in feline normal, hyperplastic and neoplastic mammary tissue–an immunohistochemical study. *The Veterinary Journal*, *168*(2), 180-185.

Wehrend, A., Hospes, R., & Gruber, A. D. (2001). Treatment of feline mammary fibroadenomatous hyperplasia with a progesterone-antagonist, 148(11), 346-7.

Received: 09.02.2021
Accepted: 09.05.2021

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2020.225021.2245
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.1.5

Bacteriologic survey of hepatic and cardiac lesions in commercial poultry carcasses

Zoleikha Atabay[1], Seyed Mostafa Peighambari[2*], Seyed Ahmad Madani[3] and Azam Yazdani[4]

[1] DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] Professor, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Animal and Poultry Health and Nutrition, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[4] MSc., Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 05.04.2020 Accepted: 30.11.2020

Abstract

The aim of this study was to survey the infectious lesions of liver and heart of commercial poultry carcasses caused by bacteria, to assess the role and the rate of incidence of bacteria other than *E. coli* in development of liver and heart lesions in commercial poultry flocks, and to determine the antimicrobial sensitivity of the isolated bacteria. Samples were taken from heart blood and liver's visceral surface of 614 carcasses obtained from 150 flocks (including 118 broiler flocks, 14 laying flocks, 12 turkey flocks, 2 breeder flocks, 2 quail flocks and 2 partridge flocks) located in 18 provinces of Iran. The bacterial isolates were classified into genus and species based on microbiological standard methods. Out of 484 isolates, 382 (78.92%) *Escherichia coli*, 37 (7.64%) *Salmonella*, 18 (3.71%) *Proteus*, 17 (3.51%) *Staphylococcus aureus*, 9 (1.85%) *Streptococcus*, 7 (1.44%) *Pseudomonas aeruginosa*, 6 (1.23%) *Klebsiella*, 5 (1.03%) *Staphylococcus epidermidis* and 4 (0.71%) negative coagulase *Staphylococci* were detected while in 165 cases, no bacteria were found. *Salmonella* was detected in a young turkey flock (7-day old). Antimicrobial sensitivity test was performed for 100 *E. coli* isolates from broiler flocks, 2 *E. coli* isolates from quail flock and 30 *Salmonella* isolates. The resistance pattern of *E. coli* isolates included 56 patterns. The highest drug resistance was observed to doxycycline, flumequine, tetracycline and enrofloxacin. In 30 *salmonella* isolates, 17 resistance patterns were observed. The highest drug resistance was observed to ampicillin and nalidixic acid. All *Salmonella* isolates belonged to serogroup D. Results showed that *Escherichia coli* was the most common pathogen isolated from heart and liver lesions but other bacterial infections should also be noticed. Drug resistance patterns even in isolates of one farm may vary; therefore, performing antimicrobial sensitivity test is necessary prior to prescribing any antibacterial agent in a farm.

Keywords: *Escherichia coli*, *Salmonella*, Heart, Liver, Drug resistance

[*] **Corresponding Author**: Seyed Mostafa Peighambari, Professor, Department of Avian Diseases, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
E-mail: mpeigham@ut.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.266036.2341
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.2.6

Preparation of age profile based on incisors changes in Khouzestan Arabian mares

Kaveh Khazaeel[1*], Hamid Pesarakli[2], Alireza Ghadrdan Mashhadi[3] and Mahdi Pourmahdi Borujeni[4]

[1] Assistant Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Graduated of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 09.01.2021 Accepted: 02.05.2021

Abstract

The horse age estimation is based on the evaluation of teeth. The ability to age estimation can be used when buying livestock, predicting its useful sporting life span, and helping to determine disease prognosis and insurance targets. In the present study, evaluation of incisor teeth of Khouzestan Arabian mares was performed to prepare the age profile of changes in the incisors. In this study, 78 Arabian mares of Khouzestan were examined. After confirming the authenticity of the animals, the images were digitally prepared from vestibular, rostral, and occlusal surfaces of the lower incisors. The prepared images were analyzed by the computer and the parameters related to the growth of deciduous and permanent teeth and their number and changes in the occlusal surface of the lower incisors were investigated. Finally, dental age profile was presented. The dI_3 tooth in Khouzestan Arabian mares had a variety of eruption times, while the eruption time of the dI_1 and dI_2 teeth was almost similar to that of other horses. In permanent teeth, premature growth of I_2 and I_3 was observed in some cases. Dental star first appeared on the occlusal surface of the lower incisors at about 5.5 years old, and the enamel spot on I_1 appeared about a year earlier than usual. In the age range of 15 days to 24 years old, the growth of the incisors teeth and some of its morphological changes were observed in cases earlier than usual.

Key words: Age Profile, Age Estimation, Dental Changes, Incisor Teeth, Khouzestan Arabian Mare

* **Corresponding Author**: Kaveh Khazaee**,** Assistant Professor Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: k.khazaeil@scu.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2021.238283.2282
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.3.7

Simultaneous evaluation of cyclophosphamide and aqueous extract of palm pollen in vitro fertilization on sperm quality and subsequent embryo development in Mice

Narges Delgarm[1], Majid Morovati-Sharifabad[2*], Elham Salehi[2], Mohammad Afkhami-ardakani[3], and Mohammad Saeed Heydarnejad[4]

[1] Msc, Department of Basic sciences, Ardakan university, Ardakan, Iran
[2] Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Ardakan, Iran
[3] PhD Graduate of Histology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran
[4] Associate Professor, Department of Animal Sciences, Faculty of Science, Shahrekord University, Shahrekord, Iran

Received: 06.07.2020 Accepted: 13.02.2021

Abstract

Palm pollen is one of the traditional medicinal plants with potential antioxidant properties that is used to treat infertility.The aim of this study was to investigate the protective effects of palm pollen on the growth process of embryos obtained from laboratory fertilization following cyclophosphamide administration. In this experimental study, 36 NMRI male mice weighing approximately 36-30 g were randomly divided into 6 groups: after adapting to the environment for one week, all groups were treated daily for 28 days.The Groups included the control group, Cyclophosphamide, Cyclophosphamide with high and low dosages of palm pollen and two groups palm pollen alone, with high and low doses. Subsequently, weighing and necropsy were done, all animals were euthanized for stimulate ovulation using PMSG and HCG and 6 adult fertile mice were used. Fertilization was assessed in HTF + 4mg BSA culture medium, fertilized eggs incubated for 120 hours. Embryonic developmental stages and intra-laboratory fertility rates in all groups were investigated. The results showed that the percentage of fertilized eggs, two-celled embryos, morula, blastocysts and the percentage of hatched embryos in Cyclophosphamide group decreased significantly compared to the control group. Cyclophosphamide and palm pollen group with high and low dosages, showed significant increase compared to Cyclophosphamide group. The Cyclophosphamide group had a significant increase in the percentage of stopped embryos compared to the control group. The percentage of stopped embryos in mice receiving the palm pollen with high and low dosages showed a significant decrease after Cyclophosphamide administration compared to Cyclophosphamide group. Palm pollen following Cyclophosphamide administration improved the growth process of embryos obtained from laboratory fertilization.

Keywords: Mice, Palm pollen, Cyclophosphamide, Laboratory fertilization

* **Corresponding Author**: Majid Morovati-Sharifabad, Associate Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ardakan University, Ardakan, Iran
E-mail: mmorovati@ardakan.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.259701.2327
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.4.8

Prevalence of Toxocara egg in public parks of Kermanshah city, the West of Iran

Farid Rezaei[1*], Maryam Karimi Dehkordi[2] and Fatemeh Azizinejad[3]

[1] Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
[2] Assistant Professor, Department of clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran
[3] DVM Graduate, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran

Received: 29.11.2020 Accepted: 01.03.2021

Abstract

Toxocariasis is one of the most important parasitic and widespread infections which is caused by direct contact with dogs and cats or contact with sources contaminated with the parasite's eggs, such as soil and grass, in public places where dogs and cats travel, as well as the consumption of contaminated vegetables. The aim of this study was to investigate the contamination of soil and grass in different parks of Kermanshah, West of Iran, with *Toxocara* eggs. In this descriptive cross-sectional study, 120 soil and 120 grass samples were collected from a total of 16 public parks and gardens in Kermanshah, then the parasitic contamination of soil and grass samples exanimated by flotation deposition method. Results showed that out of 16 parks studied, 15 parks were infected with *Toxocara* species eggs in terms of soil samples (93.7%) and 13 parks in terms of grass samples (81.2%). Also, the prevalence of infection with *Toxocara* species eggs was 70.8% in soil samples and 30.8% in grass samples. Rresults of this study showed that the contamination of Kermanshah parks with *Toxocara* species eggs is high, which increases the risk of toxocariasis in humans. Therefore, to reduce the risk of human infection, the need for control programs such as prevention of environmental contamination with parasite eggs, especially in public places such as public parks, with dog feces is recommended.

Key words: *Toxocara*, VLM, Cat, Dog, Kermanshah

* Corresponding Author: Farid Rezaei, Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
E-mail: f.rezaei@razi.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2021.247567.2297

DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.5.9

The effect of various physiological and environmental factors on serum vitamin D concentration in horses

Naser Salehi-Ardakani[1], Mohammad Reza Aslani[2*], Afshin Jafari-Dehkordi[3] and Abdonnaser Mohebbi[3]

[1] DVSc student of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

[2] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

[3] Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

Received: 09.09.2020 Accepted: 22.01.2021

Abstract

Vitamin D as a fat-soluble vitamin is essential for calcium and phosphorus homeostasis and normal skeletal growth and development. Furthermore, association of vitamin D with infectious and non-infectious diseases and malignancies has been shown in a large growing body of literature. However, limited reports about the status of vitamin D in domestic animals particularly in horses are available. In this study blood samples were collected from 160 horses in Yazd and 15 horses in Ardabil area. The sera were analyzed for vitamin D, calcium, phosphorous, magnesium and parathyroid hormone using standard methods. Serum vitamin D was significantly higher in age groups of 1-3 and 3-6 years, first, second and third parity, in Yazd in comparison with Ardabil area and female horses. Also, more than 4 hours of exposure to sunlight had a positive significant effect on blood vitamin D levels in horses. The horse color, breed and pregnancy were not significantly associated with vitamin D concentrations. In conclusion, altitude, gender, more than 4 hours sunlight exposure, parity and age are associated with vitamin D levels in horses, while color, breed and pregnancy had not any effect on this vitamin levels in horses.

Key words: Vitamin D, Horse, Calcium, Phosphorous, Sunlight exposure

[*] **Corresponding Author**: Mohammad Reza Aslani, Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

E-mail: aslani_mr@yahoo.com

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2020.245788.2294
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.6.0

The survey of *Pseudomonas aeruginosa* infection of reproduction system of mares in both Suburb of Tehran and Alborz provinces of Iran

Massoud Talebkhan Garoussi[1*], Mostafa Soleymani[2], Taghi Zahraei Salehi[3] and Faramarz Gharagozloo[1]

[1] Professor, Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[2] DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
[3] Professor, Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 28.08.2020 Accepted: 08.12.2020

Abstract

The objective of this survey was to evaluate the infection of *P. aeruginosa* within the mare population including horse riding clubs, clinical cases and different centers which keep horses in both suburbs of Tehran and Alborz provinces of Iran. Totally, 276 specimens were taken randomly from clitoral fossa and vagina of 138 pregnant (no. 9, 6.52%) and non-pregnant (no. 129. 93.48%) mares using sterile swabs. The horses included: horse riding clubs (79, 57%), referral clinical cases (32, 23%) and biological research center mares (27, 20%) in suburb of Tehran and Alborz provinces, Iran. They were transported beside ice bags to the diagnostic l laboratory in Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Iran. The cultures were confirmed using differential biochemical tests. The data were analyzed using SPSS software version 19. *P. aeruginosa* was isolated from 6 mares (4.35 %). *P. aeruginosa* was isolated from clitoral fossa (No. 2, 1.45%), vagina (No.2, 1.45%) and clitoral fossa + vagina (No. 2, 1.45%), respectively. Infected mares aged among 8-20 years old. All of the infected mares were non-pregnant. Four (2.9%) and 2 (1.45%) mares were Thoroughbred and Arab breed, respectively. *P. aeruginosa* was isolated only from mares in the horse riding clubs in both suburbs of Tehran and Alborz provinces of Iran. It is concluded that mares of horse riding clubs in suburb of Tehran and Alborz provinces, Iran are infected by *P. aeruginosa*. The control programs should be done using routine screening of swabs taken before mating by laboratories experienced in the isolation and identification of this specific organism in horse riding clubs and also other horse rearing centers in Tehran and Alborz provinces of Iran.

Key words: Alborz, Mare, *Pseudomonas aeruginosa*, Reproduction, Tehran

* **Corresponding Author**: Massoud Talebkhan Garoussi, Professor, Department of Theriogenology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
E-mail: garoussi@ut.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.249234.2301
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.7.1

Radiographic assessment of hip joint after femoral head and neck ostectomy and its relationship with clinical findings in dogs

Mostafa Tayebi[1], Ahmad Khajeh[2*] and Mehdi Tavana[2]

[1] DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran

Received: 20.09.2020 Accepted: 21.05.2021

Abstract

In this study, after taking radiographs from orthogonal views confirming coxo-femoral joint disease, 8 adult dogs were selected with an age range of 9 months to two years who had hip joint pain or Ortolani's Sign elicited in the clinical examination. Cases with multiple orthopedic problems in addition to coxo-femoral joint disease were excluded. After lameness test and hip joint function, they underwent femoral head and neck ostectomy. Immediately after the surgery, radiographs were taken from orthogonal views of hip joint and the list of postoperative management and physiotherapy program was submitted to the patient's owners. The study lasted up to four months after surgery. The results of the present study show that the depth of the acetabulum, in the second and fourth months after surgery, is significantly lower than before surgery. Also, the depth of the acetabular cavity in the fourth month showed a significant decrease compared to the second month, which all indicate the progress of bone remodeling in the hip joint; however, no significant reduction was observed in the diameter of the acetabular cavity compared to before surgery. At the end of the fourth month, in 87.5% of cases, there was no bone-bone contact between the femur and the acetabular cavity, and all of these cases showed very mild lameness. The only case (12.5%) that showed a bony connection between the femur and the acetabular cavity was due to inadequate resection of the femoral neck associated with moderate lameness and pain elicit in hip joint function. Revision surgery to resection of ossicles, especially in the neck region and lesser trochanter, it can improve the patient's condition. serial radiographs can be helpful in diagnosing these cases. Also, as the time length increases after FHO surgery, THR surgery becomes more difficult with bone remodeling progress.

Keywords: Dog, FHO, Acetabulum, Radiology

[*] **Corresponding Author**: Ahmad Khajeh, Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shoushtar Branch, Islamic Azad University, Shoushtar, Iran
E-mail: ahmad_vet64@yahoo.com

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2020.223000.2240
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.8.2

The effect of hydroalcoholic extract of *Thymbra spicata* on in- vitro maturation of ovine oocyte

Esmail Ghobadi[1], Aliasghar Moghadam[2*], Tayebeh Mohammadi[3] and Peyman Rahimi Faili[4]

[1]DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
[2] Associated Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
[3] Assistant Professor, Department of Basic and Pathobiological Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
[4] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran

Received: 16.03.2020 Accepted: 31.05.2020

Abstract

In vitro maturation (IVM) of oocytes and subsequently, in vitro fertilization (IVF) for the generation of embryos in the laboratory have important values. Considering that antioxidants are known as effective free radicals scavenger, it is possible to improve the in vitro oocyte maturation and the fetal quality. Therefore, the aim of this study is to evaluate the effect of *Thymbra spicata* hydroalcoholic extract as a source of antioxidant on in-vitro sheep oocyte maturation. Cumulus oocyte complexes (COCs) were collected from ewe ovaries and were cultured for 24 hours in maturation medium in TCM supplemented with FSH, LH, FBS, cysteamine, pyruvate sodium and antibiotics (control group) and in maturation medium without cysteamine (as an antioxidant) supplemented with different doses of *Thymbra spicata* hydroalcoholic extract (1mg/ml: group 1, 10 mg/ml: group 2, 50 mg/ml: group 3) as an antioxidant. In-vitro maturation stages and resumption of meiotic was assessed by determination of cumulus cells mass expansion and number of oocytes in metaphase II stage of meiotic division in all groups. Cumulus cells mass expansion was similar between control, 2 and 3 groups. However, in group 1 was lower than control group. Nuclear maturation was similar between control and group 3 and both of them were different with groups 1 and 2. The results of this study showed that the *Thymbra spicata* hydro alcoholic extract, has a positive effect on oocyte maturation that is doses dependent. So with increasing concentration of *Thymbra spicata* hydroalcoholic extract, the rate of maturation immature oocytes is increased. Generally, we conclude that addition of appropriate amounts of natural extracts such as Thymbra spicata to maturation medium improves oocytes maturation.

Key words: In vitro maturation (IVM), Oocyte, Sheep, *Thymbra spicata*

* **Corresponding Author**: Aliasghar Moghadam, Associated Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Razi University, Kermanshah, Iran
E-mail: moghaddam@razi.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**
DOI: 10.22055/IVJ.2021.241129.2287
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.9.3

Effect of using nanoliposomes of vitamin D3 in diet on performance and egg quality of laying hens

Mohammad Reza Ghorbani[1*], Mohammad Noshad[2] and Hadis Mirzaei[3]

[1]Associate Professor, Department of Animal Sciences, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran
[2]Associate Professor, Department of food Sciences and Technology, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran
[3] PhD Student from Poultry Nutrition, Faculty of Animal Sciences and Food Technology, Agricultural Sciences and Natural Resources University of Khuzestan, Mollasani, Iran

Received: 01.08.2020 Accepted: 22.05.2021

Abstract
The present study was carried out to investigate the effect of using nanoliposomes vitamin D3 (NVitD) in diet on performance and egg quality of laying hens. One hundred and twenty Leghorn laying hens (Hy-line W-80 Commercial strain) were used in a completely randomized design with four treatments, five replicates and six hens per replicate for six weeks. The treatments consisted of: 1- control with 3300 IU VitD/kg of diet, 2- 4950 IU VitD/kg of diet 3- 3300 IU NVitD/kg of diet and 4- 4950 IU NVitD/kg of diet. In the second three weeks of the experiment, the hens that received 4950 IU VitD/kg in their diet had the most feed intake in comparison with others. The egg yolk VitD content was increased significantly with increasing VitD concentration in hens diet. In equal amounts of diet VitD, application of nanoliposomes reduced the VitD content of egg yolk. Egg yolk cholesterol concentrations increased when using NVitD. The results of the present experiment showed that the use of NVitD did not have a significant effect on the production performance and egg quality traits of laying hens.

Key words: Egg, Laying hens, Performance, Nanoliposomes, Vitamin D3

* **Corresponding Author**: Mohammad Reza Ghorbani, Associate Professor, Department of Animal Sciences, Shirvan Faculty of Agriculture, University of Bojnord, Bojnord, Iran
E-mail: ghorbani.mr@ub.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2021.265262.2340
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.10.4

Anatomical study of nasal cavity and surrounding sinuses in Sangsari sheep through CT scan images

Hamid Mohyeddin[1], Babak Rasouli[2*] and Abolfazl Dehghani[3]

[1] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Garmasr Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
[3] DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

Received: 06.01.2021 Accepted: 23.02.2021

Abstract

Modern diagnostic imaging techniques make it possible to obtain an accurate picture of the organs and the position of the structures in different sections and angles. Due to the lack of specialized information about the nasal cavity and paranasal sinuses in Iranian sheep, this study was designed to assess normal morphology and position of these structures through CT scan images. The findings of the present study may help assess the injuries of the nasal cavity and sinuses and perform surgeries such as herniation and sinoscopy. To conduct this study, the heads of 8 male sheep that were healthy in the initial clinical examination were used. Images were taken from longitudinal and transverse sections, and in most cases, the images were taken perpendicular to the palatine bone. Cheek teeth were also considered as an image position guide. This study found that in Sangesari sheep, the maxillary, palatine, frontal, and lacrimal are the sinuses around the nasal cavity. The extent of each of them has been investigated in this study. Also, the position and shape of the nasal conchae and meatuses were studied. The results of this study showed that the nasal cavity is more expansive in sheep than other ruminants. The extent and position of the paranasal sinuses follow their general shape and pattern in other ruminants and other breeds of sheep. CT scan provides a comprehensive picture of the components of the structures in the head, especially the nasal cavity and paranasal sinuses in sheep. It is a suitable method for diagnosing various types of neoplasms, trauma, infectious and non-infectious inflammatory diseases in this area.

Key words: Anatomy, CT Scan, Sheep, Nasal cavity, Sinus

---

* **Corresponding Author**: Babak Rasouli, Assistant Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran
E-mail: b.rasouli@semnan.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **Original Article**

DOI: 10.22055/IVJ.2020.244291.2292
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.11.5

Study of morphology, topography, and histopathology of abomasal lesions of cattle: The association of intrinsic and extrinsic predisposing factors with prevalence of lesions

Shahram Maleki[1*], Amir Zakian[1], Reza Darvishnia[2], Vahid Farhadi[2] and Hanieh Bakhteyari[2]

[1] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
[2] DVM Graduated, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran

Received: 22.08.2020 Accepted: 14.11.2020

Abstract

Abomasal lesions are one of the well-known factors affecting the health and production of the ruminant, most of which are sub-clinical, and generally unable to be detected. In the present study, the frequency of different types of abomasal lesions in slaughtered cattle of the Golshan industrial slaughterhouse, Khorramabad and its relationship with intrinsic and extrinsic risk factors was evaluated. Abomasum of four-hundred male and female cattle between 1 to 6 years old, were randomly examined to determine the presence of abomasal lesions, from the autumn of 2017 to the summer of 2018. After confirming the presence of the lesion, a tissue sample was obtained for histopathological evaluation. To investigate the relationship between lesions and risk factors, the Chi-square test and regression statistical model were used. The frequency of abomasal lesions was equal to 74.5% (95% CI: 79.2-31). The prevalence of lesions in male was lower than in female cows. The frequency of abomasal lesions has a direct and significant relationship with age. Moreover, the lowest and highest incidence also is related to animals younger than 2 years and older than 4 years old, respectively. There was a statistical relationship between the foreign bodies and the lesions, furthermore, in 39.25% (157 out of 400 cases) of the examined abomasum; the foreign bodies were also found. The frequency of abomasal lesions in summer, autumn, spring, and winter was equal to 87, 77, 70 and 64%, respectively; in addition, it was found that there was a statistically relationship between the occurrence of abomasal lesions and season. Histopathological findings showed that coagulative necrosis, cell infiltration and hemorrhage were directly related to the severity of the lesions and also the presence of condensed connective tissue between the abomasal lesions is an expected finding. Abomasal lesions are affected by the host and environmental risk factors, and there is a large-scale subclinical type of lesions in Lorestan province, which shows the role of the management-breeding system by increasing the incidence of lesions.

Key words: Abomasal lesions, Cattle, Topography, Morphology, Histopathology

* **Corresponding Author**: Shahram Maleki, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Lorestan University, Khorramabad, Iran
E-mail: maleki.sh@lu.ac.ir

Vol. 18, No. 4, Winter, 2023 **_Case Report_**

DOI: 10.22055/IVJ.2021.272510.2347
DOR: 20.1001.1.17356873.1401.18.4.12.6

Report of mammary fibroepithelial hyperplasia in a DSH cat

Annahita Rezaie[1*], Soroosh Sabiza[2], Alireza Ghadiri[3], Mohammad Asadi iraee[4] and Anahita Memar[5]

[1] Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[2] Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[3] Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[4] Resident of small animal internal medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
[5] DVM Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

Received: 09.02.2021 Accepted: 09.05.2021

Abstract

Fibroepithelial hyperplasia is a physiological change in mammary glands characterized by a significant increase in the size of one or more mammary glands. The disease is commonly seen in young cats and may also be seen in older female ones. This report describes the clinical, radiographic, and histopathologic features of a cat with fibroepithelial hyperplasia. A 4-year-old female cat weighing 2.7 kg with a large mass below the abdomen was referred to the veterinary hospital of Shahid Chamran University of Ahvaz. After clinical examination and radiological evaluation, she underwent surgery and the isolated mass was sent to the pathology department. The mass was solid and was observed in several lobules at the incision with a walnut-like appearance. Under microscopic examination, proliferation of mammary duct epithelial cells and formation of new tubules were significant. Also, a large amount of connective tissue was observed around the formed tubes. Empty spaces which indicated edema were observed between the connecting strands. It should be noted that no malignant changes were observed. In general, according to clinical, radiological and microscopic characteristics, fibroepithelial hyperplasia was diagnosed. The pathophysiology of fibroepithelial hyperplasia of the mammary gland is not well understood, but most likely sexual hormone changes play roles in etiology of fibroepithelial hyperplasia.

Key words: Fibroepithelial hyperplasia, Physiological change cat, Mammary gland

* **Corresponding Author**: Annahita Rezaie, Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran
E-mail: a.rezaie@scu.ac.ir

تشکر و قدردانی

از کلیه داوران محترم که در بررسی و ارزیابی مقالات این شماره از مجله دامپزشکی ایران همکاری ارزنده و عالمانه‌ای داشته‌اند، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌گردد.

اسامی داوران به ترتیب حروف الفبا:

دکتر بیژن اسماعیل‌نژاد، دکتر علی آقائی، دکتر زهرا بصیر، دکتر جواد جمشیدیان، دکتر سیدمحمد حسینی، دکتر محمود خاکساری‌مهابادی، دکتر کاوه خزائیل، دکتر آریا رسولی، دکتر عبدالکریم زمانی‌مقدم، دکتر تقی زهرایی‌صالحی، دکتر سروش سابیزا، دکتر سارا لرکی، دکتر طیبه محمدی، دکتر مجید محمدصادق، دکتر حسن مروتی، دکتر بهمن مصلی‌نژاد، دکتر عبدالواحد معربی، دکتر میثم مکی، دکتر منصور میاحی، دکتر حسین نجف‌زاده‌ورزی، دکتر هادی نداف، دکتر سعید نظیفی، دکتر جمال نوری‌نژاد و دکتر علی‌عباس نیکوند.

IRANIAN VETERINARY JOURNAL

SCIENTIFIC – RESEARCH

Contents

Iranian Veterinary Journal

Founder
SHAHID CHAMRAN UNIVERSITY OF AHVAZ

Director in Chief
Dr. Mansoor Mayahi

Editor in Chief
Dr. Mohammad Rahim Haji Hajikolaei

Expert
Mona Abbasi

Mailing Address of the Editor

Dr. Mohammad Razi Jalali, DVM, PhD
Editor in chief of Iranian Veterinary Journal
Ahvaz, Postal Code: 61355 P.O. Box : 145, Iran
Tel / Fax : +98 61 33336312
http://ivj.ir
E-mail: ivj@scu.ac.ir

This Journal has been granted the rating of **Scientific – Research** by the Commission for Evaluation of Iranian Scientific Journals, the Ministry of Science, Research and Technology, through the letter numbered 3.2910.545 dated 30.7.2006

This journal is indexed by Iran and Islamic World Scientific Citation Center (**ISC**)

Published by

Regional Information Center for Science and Technology and Islamic World Science Citation Center