

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

شیوع سرمی آنتی بادی های ضد توکسوپلاسما در زنان باردار اصفهان

با تاکید بر نقش گربه در انتقال بیماری

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، فاطمه همایون^۲، آیدا شریفیان^۲، ملینا دقیقیان^۲

۱. گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲. دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

توکسوپلاسموز یکی از بیماریهای مهمی است که ابتلا به آن خطر سقط جنین در زنان را به همراه دارد. به منظور بررسی این بیماری تعداد ۱۲۷ نمونه خون زن باردار پذیرش شده در طی ماه های تیر تا آذر ۱۳۹۰ جمع آوری شد. نمونه ها جهت جستجوی آنتی بادی های ضد توکسوپلاسما گوندی با روش ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم (IFA) در هفت رقت مختلف مورد بررسی قرار گرفتند. اطلاعات مورد نیاز سن، محل سکونت، گروه خونی و Rh، سابقه سقط جنین، دفعات حاملگی و تماس با گربه از طریق پرسشنامه جمع آوری شد. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از آزمونهای t-test و مجذور کای استفاده شد. تیتراژ آنتی بادی ضد توکسوپلاسما در ۶۷ نمونه بالاتر از ۱:۲۰ بود و ۴۷ درصد از افراد دارای آنتی بادی سرمی، سابقه تماس با گربه داشتند. بدیهی است آموزش و ارتقاء آگاهی نسبت به معیارهای پیشگیری از ابتلا به این بیماری واجد اهمیت فراوان است.

کلمات کلیدی: سرواپیدمیولوژی، توکسوپلاسموز، زنان باردار

مقدمه

نیز مطالعات فراوانی در این خصوص انجام گرفته که

حاکی از شیوع عفونت در سراسر کشور است.

توکسوپلاسموز مادرزادی در مواردی اتفاق می افتد که زن باردار در دوره حاملگی به عفونت حاد مبتلا شود. زنان با سیستم ایمنی کارآمد و سرم مثبت می توانند از سلامت جنین خود در مقابل توکسوپلاسموز مادرزادی مطمئن باشند (Jones, 2001; Weiss and Kami, 2004) میزان انتقال در دوره جنینی در سه ماهه اول دوم و سوم به ترتیب ۱۰ تا ۲۵، ۳۰ تا ۵۴ و ۶۰ تا ۶۵ درصد است (Weiss and Kami 2004) به منظور پیشگیری از بروز آلودگی ابتدا تعیین جمعیت در معرض خطر زنان باردار و یا در سن ازدواج و باروری با سرم منفی و سپس طراحی برنامه ای مناسب در راستای آموزش و ارتقاء اطلاعات جمعیت هدف به منظور رعایت دقیق معیارهای پیشگیری و کم کردن احتمال آلودگی حائز اهمیت فراوان است. لذا مطالعه حاضر با هدف تعیین شیوع توکسوپلاسموز در زنان باردار پذیرش شده در آزمایشگاه مرجع در سال ۱۳۹۰ با تأکید بر نقش گربه های خانگی در انتقال این بیماری طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش کار

۱۲۷ نفر زن باردار که طی ماه های تیر تا آذر ۱۳۹۰ برای تست سلامت بارداری پذیرش شده بودند، به صورت تصادفی انتخاب شدند. از هر یک ۳ میلی لیتر خون وریدی اخذ و تا زمان انجام آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. برای تعیین تیتراژ IgG

توکسوپلاسموز گوندی تک یاخته درون سلولی اجباری و عامل بروز توکسوپلاسموز است که به دلیل طیف وسیع و پراکندگی جهانی میزبانان اصلی و واسط از شیوع نسبتاً بالایی برخوردار است. راه های انتقال این انگل بسیار متنوع بوده و از مصرف گوشت خام یا نیم پز، تماس با گربه آلوده، تماس با خاک، تمیز کردن جای نگهداری گربه ها انتقال از مادر به جنین، مصرف شیر غیر پاستوریزه و حتی دریافت خون، پیوند عضو و انتقال از طریق مایع منی قابل انتقال است (Dubey and Jones, ۲۰۰۸). در افراد مبتلا به نقص ایمنی به خصوص در مبتلایان به HIV/HDS انگل به صورت فرصت طلب منجر به بروز بیماری می شود. ابتلاء اولیه مادر به نوع حاد عفونت در دوران بارداری می تواند سبب انتقال به جنین شود. در این صورت عفونت می تواند با دامنه وسیعی از علائم بالینی با شدت مختلف از سقط جنین، عفونت شدید دوران نوزادی تا عفونت های بدون علامت همراه باشد (Kimand Weiss, 2008; Remington et al., 2006) انسان به طور عمده از طریق خوردن گوشت آلوده، سبزیجات و میوه های واجد فرم مقاوم انگل (اوسیسیت رسیده) و همچنین از طریق جفت آلوده میشوند (Hill et al., 2005). بروز آلودگی جدید به منطقه مورد نظر و تعداد جمعیت، بستگی دارد. لذا، اطلاع دقیق از میزان شیوع توکسوپلاسموز در هر منطقه ضروری است. در ایران

سنین بین حداقل ۱۹ و حداکثر ۴۸ سال با میانگین ۲۶ سال قرار داشتند. فراوانی تیترهای مختلف آنتی بادی اختصاصی ضد توکسو پلاسما (IG) تعیین گردید. تیتر ۱:۲۰ بیشترین فراوانی ۱۹.۶۸٪ را در جمعیت بررسی شده داشت و کمترین فراوانی مربوط به تیتر ۱:۸۰۰ (۰.۷۸٪) بود (جدول ۱)

جدول ۱- توزیع فراوانی تیتر IgG اختصاصی ضد توکسو پلاسما

درصد	تعداد	تیتر IgG
۴۷.۲۴	۶۰	کمتر از ۱:۲۰
۱۹.۶۸	۲۳	۱:۲۰
۵.۵۱	۷	۱:۱۰۰
۳.۱۴	۴	۱:۲۰۰
۳.۹۳	۵	۱:۴۰۰
۰.۷۸	۱	۱:۸۰۰
۸.۷	۱۰	۱:۶۰۰
۱۱.۸۱	۱۵	۱:۳۲۰۰

فراوانی سرم مثبت در زنان ساکن شهر ۵۰ و در زنان ساکن روستا ۵۵ بود. درصد مثبت شدن سرم در افرادی که سابقه تماس با گربه داشته اند (معادل ۴۷ درصد) در مقابل زنانی که تماس با گربه را منفی ذکر کرده بودند (۵۳ درصد) بود. در موارد فوق اختلاف معنی داری بین دو گروه مشاهده نشد. نتایج این مطالعه نشان داد که بیش از نصف زنان در سن باروری از نظر حضور آنتی بادی های ضد توکسو پلاسما منفی هستند. لذا به طور بالقوه در معرض خطر ابتلاء به توکسو پلاسموز حاد در طول دوره بارداری و متعاقباً انتقال عفونت به جنین و ایجاد توکسو پلاسموز مادرزادی هستند.

اختصاصی ضد توکسو پلاسما از روش ایمونوفلئورسانس غیر مستقیم (IFAT) استفاده شد. جهت غربالگری سرمها از رقت های اولیه ۱:۲۰ و ۱:۱۰۰ مثبت استفاده شد. نمونه های منفی نیز جداسازی و کنار گذاشته شدند. تیتر نمونه های مثبت اولیه از رقت های ۱:۲۰ تا ۱:۳۲۰۰، مطابق با استاندارد انتخاب شد (Ghorbani and Assad 1978) آزمون مطابق با دستور العمل شرکت سازنده و به طور خلاصه به شرح ذیل انجام شد. ابتدا سرم با آنتی ژن به مدت ۳۰ دقیقه در اتاقک مرطوب و دمای آزمایشگاه گرم خانه گذاری شد. پس از سه مرحله شستشو با بافر فسفات سالین مجدداً انکوباسیون با افزودن سرم کونژوگ حاوی اوانس بلو ۱٪ به نمونه ها تکرار شد. پس از شستشوی نمونه ها، پاسخ با میکروسکوپ ایمونو فلورسانس قرائت شد. تیتر نهایی رقیق ترین تیتری از سرم بود که واجد تالوئ سبز درخشان در اطراف تاکی زوئیت های انگل بود. عیار مساوی یا بیشتر از ۱:۲۰ مثبت و عیار ۱:۲۰۰ و بیشتر به عنوان موارد قابل توجه و پیگیری بالینی، در صورت وجود علائم بالینی دیگر (نظیر لنفادنوپاتی) در نظر گرفته شد. ارتباط موارد سرم مثبت با متغیرهای مورد نظر از جمله ارتباط با گربه با استفاده از آزمون های t-test و مجذور کای مورد بررسی آمار قرار گرفت.

نتایج

از مجموع ۱۲۷ نفری که در این مطالعه شرکت داشتند ۷۳ نفر (۵۷.۴) ساکن شهر و بقیه روستایی بودند که در

بحث

مورد مشاهده نمی شود. (Mansouri et al., 2003;)

Moteallehi Ardakani et al., 2003) رابطه سقط جنین و تعداد دفعات آن با وضعیت آنتی بادی ضد توکسو پلاسموز نیز بررسی شد. درصد افراد با سرم مثبت و بدون سقط قبلی یک بار سقط و دو بار سقط به ترتیب ۵۵.۵ ، ۳۳.۶ و ۶۶ درصد تعیین گردید. درصد افرادی که دارای آنتی بادی ضد بیماری بودند و سابقه تماس با گربه داشتند معادل ۴۷ درصد بود که احتمال انتقال آلودگی از طریق این حیوان را نشان می دهد. در خصوص دفعات زایمان نوع گروه خونی با مثبت شدن سرم تفاوت معنی داری دیده نشد که با مطالعات دیگر همخوانی دارد.

(Arbabi et al., 1993; Chegini et al., 1999

توکسوپلاسموز در کشور با اجماع انگل شناسان و متخصصین مربوطه استانداردهایی جهت یکسان سازی آزمونهای متداول تشخیصی در کشور تدوین گردد. در این خصوص راه های انتقال بیماری به خصوص تماس با گربه باید در پیشگیری از بیماری مد نظر قرار گیرد.

مطالعه حاضر نشان داد ۴۷.۲۴ درصد زنان مورد مطالعه فاقد آنتی بادی (IgG) ضد توکسو پلاسماستند. این مقدار در مقایسه با بسیاری از استانهای دیگر کمتر است. در مطالعات اخیر این میزان برای کاشان ۴۹.۲ درصد، یزد ۶۲.۲ درصد، کرمانشاه ۶۳.۷ درصد و کرج ۵۵ درصد جمعیت مطالعه شده بوده است.

(Arbabi et al., 1993; Chegini et al., 1999 Keshvarz and Zibaei, 1998; Keshavarz and Eskandari, 2003) اختلاف معنی داری بین درصد نمونه های مثبت در جمعیت ساکن در شهر و روستا یافت نشد. در اغلب مطالعات اختلاف قابل ملاحظه ای در این ; Keshvarz and Zibaei, 1998; Keshavarz and Eskandari, 2003)

در خصوص پیشگیری از بیماری راهکارهای مختلفی وجود دارد که از بین آنها می توان به رعایت بهداشت فردی و اجتماعی استفاده از آب و غذای بهداشتی و مطمئن طبخ کامل گوشت و فرآورده های گوشتی شستشوی کامل و دقیق سبزیجات و میوه جاتی که احتمال آلودگی آن به اووسیستهای توکسوپلاسم وجود دارد و در مورد این مطالعه اجتناب از گربه و آلودگی ناشی از مدفوع گربه اشاره کرد. همچنین تعیین وضعیت سرمی بصورت ماهیانه در طی مدت بارداری با نظر پزشک می تواند به میزان زیادی از انتقال عفونت به جنین جلوگیری نماید. همچنین توصیه میشود با تشکیل کمیته ملی

References

1. Arbabi, M., Asmar, M., and Rasti, S. 1993. Seroepidemiology of Toxoplasmosis in Kashan. Feyz. 2: 29-37.
2. Chegini, S.A.M., Abadi, A.R., and Bagheri Yazdi, S.A. 1999. .Toxoplasma infection in human and domestic animals. J. Babol Uni. Med. Sci. 12: 47-52. In Farsi.
3. Dubey, J.P., and Jones, J.L. 2008. Toxoplasma gondii infection in humans and animals in the United States of America. Int. J. Parasitol. 38: 1257-1278.
4. Ghorbani, M., and Assad, N. 1978. Serological survey of toxoplasmosis in the northern part of Iran using indirect fluorescent antibody technique. Tran. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg. 72: 369-371.
5. Hill, D.E., Chirukandoth, S., and Dubey, J.P. 2005. Biology and epidemiology of Toxoplasma gondii in man and animals. Anim. Health Res. Rev. 6:41-61.
6. Keshavarz, H., and Zibaei, M. 1998. Seroepidemiologic survey of toxoplasmosis in Karaj district. Iran J. Pub. Health. 23: 73-82.
7. Keshavarz, H.N.M., and Eskandari, S.E. 2003. A seroepidemiologic survey of Toxoplasmosis in Islamshahr district of Tehran, Iran. Modarres J. Med. Sci. 2: 111-119 (In Farsi).
8. Kim. K., and Weiss, L.M. 2008. Toxoplasma: the next 100 years. Microbes Infect. 10: 978-984.
9. Mansouri, F., Mahdavian, B., and Hashemian, A.H.E. 2003. Epidemiology of Toxoplasmosis in Kermanshah Province. Behbood. 17: 12-19.
10. . Moteallehi Ardakani, A., Mohammad Zadeh, M., and Ebadi, M. 2003. A seroepidemiological survey of toxoplasmosis in Yazd City. J. Shahid Sadoughi Uni. Med. Sci. 4: 59-65 (In Farsi).
11. . Remington, J.S., Mc Leod, R., Thulliez, P., and Desmonts, G. 2006 Toxoplasmosis. In: Remington, J.S. (eds.), Infectious diseases of the fetus and newborn infant. 6th ed. W.B. Saunders, Philadelphia, pp. 947-1091.

Serological prevalence of anti-Toxoplasma antibodies in pregnant women in Isfahan with emphasis on the role of cats in disease transmission

Morteza Razzaghi manesh^{1*}, Fateme Homayoon², Aida Sharifian², Melina Daghighian²

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

2. Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Toxoplasmosis is one of the important diseases that carries the risk of miscarriage in women. In order to study this disease, 127 blood samples from pregnant women admitted during the months of July to December 2011 were collected. The samples were examined to search for antibodies against *Toxoplasma gondii* using the indirect immunofluorescence (IFA) method at seven different dilutions. The required information, age, place of residence, blood type and Rh, history of abortion, number of pregnancies and contact with cats were collected through a questionnaire. T-test and chi-square tests were used to analyze the data. Anti-Toxoplasma antibody titer was higher than 1:20 in 67 samples and 47% of people with serum antibodies had a history of contact with cats. Obviously, education and awareness raising regarding the criteria for preventing this disease are of great importance.

Keywords: Seroepidemiology, Toxoplasmosis, Pregnant Women

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره دو پاییز و زمستان ۱۴۰۱

مقایسه کیت ایمونوکروماتوگرافی تشخیص با PCR در تشخیص بیماری پاروویروس در سگ

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، رضا نقی ها نجف آبادی^۲، سینا بهاری بهبهانی^۳، شقایق قناد^۴، آیدا شریفیان^۴

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، یاسوج، ایران

۳- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۴- دانشجو دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

پاروویروس سگ‌سانان (CPV) یک بیماری ویروسی بسیار مسری است که عمدتاً باعث گاستروانتریت حاد در توله‌سگ‌ها می‌شود. بیشترین شیوع بیماری در سنین ۶ هفته تا ۶ ماه بوده و می‌تواند منجر به مرگ‌ومیر بالا شود؛ بنابراین انتخاب روش تشخیصی دقیق، در مدیریت و درمان مؤثر بیماری اهمیت دارد. این مطالعه با هدف مقایسه دقت روش ایمونوکروماتوگرافی (راپید تست) با PCR در تشخیص CPV انجام شد. تحقیق در پاییز ۱۴۰۰ در کلینیک‌های دامپزشکی شهرستان کرج صورت گرفت. نمونه‌ها از سگ‌های مشکوک دارای علائم بالینی مانند اسهال، استفراغ و بی‌حالی جمع‌آوری شد. ابتدا تست ELISA برای تشخیص CPV2a و CPV2b انجام گرفت، سپس نمونه‌های خون و مدفوع بدون توجه به نتیجه اولیه، با روش PCR بررسی شدند. در نتایج، ۲۸/۳۴ درصد موارد با راپید تست و ۸۵/۴۲ درصد با PCR مثبت بودند که حساسیت بیشتر PCR را نشان می‌دهد. دقت تشخیص واقعی مثبت در راپید تست ۶۷/۱۶ درصد بود. میزان آلودگی در سگ‌های نر ۵۷/۲۸ درصد و در ماده‌ها ۲۹/۱۴ درصد ثبت شد. همچنین آلودگی در سگ‌های نژاد بومی ۲۹/۴ و در نژاددارها ۲۸/۲۷ درصد بود. از بین سگ‌های دارای اسهال و استفراغ همزمان، ۱۴/۵۷ درصد موارد ثبت شد که ۲۹/۳۴ درصد آن‌ها با PCR مثبت گزارش شدند. بر اساس یافته‌ها، روش PCR به دلیل دقت و حساسیت بالاتر، روش مناسب‌تری برای تشخیص CPV و درمان به‌موقع بیماری محسوب می‌شود.

واژگان کلیدی: پاروویروس، الایزا، سگ، PCR

مقدمه

عفونت پاروویروس یکی از کشنده‌ترین بیماری‌های ویروسی برای سگ‌ها می‌باشد، که توله سگ‌ها و سگ‌های جوان درگیری بیشتری با این ویروس دارند. ویروس عامل بیماری پاروویروس سگ، متعلق به دون خانواده پاروویرینه جنس پاروویروس از خانواده پاروویریده می‌باشد. این بیماری که به اسهال خونی معروف است، با درگیرکردن روده‌ها و مغز استخوان باعث اسهال، استفراغ و تضعیف سیستم ایمنی میشود [1,2,3,4,5]. تاکنون دو نوع پاروویروس سگ مورد شناسایی قرار گرفته که به صورت تیپ ۱ و تیپ ۲ پاروویروس سگ (CPV-1 و CPV-2) نام‌گذاری شده اند. عفونت‌های پاروویروسی سگ در اکثر موارد ناشی از پاروویروس تیپ ۲ بوده که تفريق آن از تیپ ۱ به کمک شیوه‌های مولکولی امکان‌پذیر است [6,7]. CPV2 عامل آنتریت هموراژیک حاد و میوکاردیت در سگ‌ها است و یکی از مهم‌ترین ویروس‌های پاتوژن با واگیری بالا (۱۰۰ درصد) و مرگومیر ۱۰ درصدی در بالغین و ۹۱ درصدی در توله‌ها می‌باشد. CPV2 دلیل عمده پاندمیک جهانی در سال ۱۹۷۸ بود و سپس در سگ‌ها اندمیک شد [8].

راه‌های مختلفی برای تشخیص عامل این بیماری در آزمایشگاه‌ها در دسترس می‌باشد که شامل کشت و جداسازی، الایزا، خنثی‌سازی سرم، واکنش زنجیری پلیمرز (PCR) و آزمون‌های HA و HI می‌باشند [9]. هم‌اکنون PCR یک

تکنیک متداول و اغلب ضروری در آزمایشگاه‌های بالینی و آزمایشگاه‌های پژوهشی است و در موارد گوناگونی کاربرد دارد. این کاربردها شامل کلون‌کردن DNA برای توالی‌یابی، فیلوژنی بر پایه DNA، تحلیل کارکرد ژن‌ها، تشخیص بیماری‌های ارثی و ... می‌باشد. اساس فن PCR چرخه‌های حرارتی است. این چرخه‌ها شامل چرخه‌های گرمایی و سرمایی تکراری، ذوب DNA و تکثیر آنزیمی DNA است. محققین با بررسی مقایسه‌ای روش PCR و کیت‌های تشخیصی پاروویروس دریافته‌اند که این روش قدرت تشخیصی بالاتری نسبت به کیت‌های راپیدتست پاروویروس دارد [10,11].

سیدنژاد و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای کیت‌های ایمنوکروماتوگرافی تشخیصی و آزمایش CBC در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری اسهال پاروویروسی در سگ‌ها و همبستگی آن با شدت علائم بالینی بیان نمودند که از این میان تنها ۵۰ سگ در آزمایش کیت سریع تشخیص پاروویروس، حضور ویروس را نشان دادند. از میان ۸۰ سگ ۷۱ قلاده دچار لکوپنی کمتر از ۳/۳ شدید بودند که ۲۱ مورد آن از ۳۰ نمونه‌ای بود که کیت آن‌ها منفی شده بود [12].

سرچاهی و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه‌ای درباره شیوع گاستروانتریت پاروویروسی در سگ‌های مبتلا به اسهال، نمونه های خون و مدفوع را بررسی کردند. آزمایش‌های PCV، CBC و شمارش تفریقی سلولی انجام شد و روند درمان سگ‌ها پیگیری گردید. با استفاده از کیت WITNESS

Parvo، از ۲۸ نمونه، ۱۹ مورد مثبت شناسایی شد که ۱۱ مورد از آن‌ها (۵۵٪) لکوپنی شدید داشتند [13].

محی‌الدینی در سال ۱۳۹۱ بر سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دام‌های کوچک در تهران تحقیقاتی انجام داد و در طی آن، توانایی آزمایش سریع ایمونوکروماتوگرافی در تشخیص آلودگی با CPV با آزمایش PCR نیز مقایسه شد [14].

روش کار

نمونه‌ها از توله سگ‌های مشکوک به عفونت پاروویروس (CPV) که واکسن دریافت نکرده بودند جمع آوری شدند. توله سگ‌ها بر اساس سن به دو گروه زیر ۶ ماه و بالای ۶ ماه تقسیم و بر اساس نوع اسهال نیز به دو گروه، اسهال خونی و اسهال غیر خونی تقسیم شدند.

در آزمون الیزا برای شناسایی CPV، از کیت تجاری با قابلیت تشخیص CPV2a و CPV2b استفاده شد. ابتدا سگ‌های دارای علائم بالینی مانند اسهال، استفراغ و بی‌حالی شناسایی شده و نمونه مدفوع با استفاده از سوآپ استریل از ناحیه رکتال جمع آوری شد. نمونه‌ها در محلول هنگس (Hanks balanced salt solution (HBBS با PH7.2) و نسبت ۱ به ۹ ذخیره شدند. سپس هر نمونه در محیط حاوی استرپتومایسین و پنی سیلین قرار داده شد. پس از فیلتراسیون، نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و بخش رویی برای ادامه آزمایش جمع آوری گردید.

آزمون الیزا در پلیت‌های ۹۶ خانه پلی استایرنی انجام شد. در هر چاهک، نمونه‌های سرمی انکوبه شدند و آنتی بادی‌های اولیه به آنتی‌ژن هدف متصل شدند. سپس چاهک‌ها با بافر شست و شو داده شده و آنتی بادی‌های ثانویه نشان‌دار با آنزیم‌هایی نظیر پراکسیداز یا آلکالین فسفاتاز اضافه گردیدند. پس از مرحله انکوباسیون، سوبستراهای مناسب افزوده شد تا واکنش آنزیمی رخ داده و رنگ ایجاد شود. شدت رنگ در طول موج مشخصی به وسیله دستگاه الیزا ریدر اندازه‌گیری شد و میزان جذب نوری به عنوان شاخصی از حضور CPV در نمونه‌ها ثبت گردید.

نمونه‌ها برای آزمون PCR در دمای منفی هشتاد درجه جمع‌آوری شدند. استخراج DNA با استفاده از کیت استخراج تجاری و مطابق دستورالعمل سازنده انجام شد. برای تکثیر ژن CPV، پرایمرهای اختصاصی از پایگاه داده NCBI و مقالات علمی طراحی و سفارش داده شد:

Forward primer:

5'-GAAGAGTGGTTGTAAATAATA-3'

Reverse primer:

5'-CCTATATCACCAAAGTTAGTAG-3'

واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ترکیبات زیر انجام شد:

۱۰ میکرولیتر مستر میکس، ۵ میکرولیتر آب مقطر، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۳ میکرولیتر DNA الگو واکنش PCR در دستگاه ترموسایکلر با شرایط دمایی و زمانی زیر انجام شد:

۹- نمونه برای آزمون ساخت cDNA در دمای ۴۰ نگهداری شد.

ب) ساخت cDNA

برای سنتز cDNA، ۵ میکرولیتر از RNA استخراج شده با ترکیبات زیر مخلوط شد:

۱ میکرولیتر ریبولوک، ۴ میکرولیتر بافر، ۱ میکرولیتر dNTP واکنش در دمای ۲۵ درجه انجام و سپس ۱ میکرولیتر آنزیم RT اضافه شد.

برنامه زمانی و دمایی زیر در دستگاه ترموسایکلر برای سنتز cDNA اجرا شد:

مدت زمان	دما
۱۰ دقیقه	۲۵ درجه
۱ ساعت	۴۲ درجه
۱۰ دقیقه	۷۰ درجه

کیفیت cDNA با استفاده از ژل آگارز ۱ درصد بررسی شد. نمونه‌های cDNA برای آزمایش‌های بعدی در دمای منفی ۲۰ درجه نگهداری شدند.

اطلاعات به‌دست‌آمده با استفاده از نرم‌افزار SPSS و روش آماری T test و محاسبه میانگین و انحراف معیار مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

نتایج

جدول شماره ۱ بیانگر آن است که با استفاده از روش راپید تست ۲۸/۳۴ درصد نمونه‌ها و با استفاده از روش PCR، ۸۵/۴۲ درصد از نمونه‌ها به ویروس پارس و ویروس مثبت بودند؛

زمان	دما		
۹۰ ثانیه	۹۴ درجه	دنا تراسیون اولیه	
۳۰ ثانیه	۹۴ درجه	دنا تراسیون	۳۰ چرخه PCR
۲ دقیقه	۵۵ درجه	اتصال پرایمرها به توالی هدف	
۲ دقیقه	۷۵ درجه	Extension	
۵ دقیقه	۷۲ درجه	گسترش نهایی	

کیفیت محصولات PCR پس از الکتروفورز روی ژل آگار ۱/۲ درصد و رنگ آمیزی safe dye توسط دستگاه Transilluminator بررسی شد.

استخراج RNA و ساخت cDNA

برای استخراج RNA کل، از کیت تجاری کیاژن استفاده شد. الف) مراحل استخراج:

۱- ۱۴۰ میکرولیتر از نمونه وارد میکروتیوب ۱/۵ میکرولیتری شد.

۲- نمونه‌ها به نسبت ۱ به ۴ با تریزول مخلوط و لیز شدند.

۳- ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم افزوده شد.

۴- ۵۰۰ میکرولیتر ایزوپروپیل الکل افزوده شد.

۵- به مدت ۵ دقیقه با دور ۱۲۰۰۰ RPM سانتریفیوژ شد.

۶- رسوب با ۱۰۰۰ میکرولیتر اتیل الکل ۱۰۰ درصد شسته شد.

۷- نمونه‌ها در محیط آزمایشگاه به مدت ۳۰ دقیقه نگهداری شد تا خشک شوند.

۸- ۲۰ میکرولیتر آب DEPS اضافه شد.

سگ‌های ماده نیز ۲۹/۱۴ درصد بود؛ بنابراین آلودگی در سگ‌های نر بسیار بیشتر از سگ‌های ماده بود.

جدول ۴- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس در دو جنس نر و ماده به روش قطعی PCR

کیس مورد بررسی	تعداد(درصد)
سگ جنس نر	۱۹ (۲۸/۵۴)
سگ جنس ماده	۱۶ (۷۱/۴۵)
نتیجه مثبت جنس نر در آزمون PCR	۱۰ (۵۷/۲۸)
نتیجه منفی جنس نر در آزمون PCR	۹ (۷۱/۲۵)
نتیجه مثبت جنس ماده در آزمون PCR	۵ (۲۹/۱۴)
نتیجه منفی جنس ماده در آزمون PCR	۱۱ (۴۳/۳۱)

جدول شماره ۵ بیانگر آن است که با استفاده از روش راپید تست آلودگی در ۸۶/۲۲ درصد سگ‌های نر مثبت شد، آلودگی در سگ‌های ماده نیز ۴۳/۳۱ درصد بود؛ بنابراین آلودگی در سگ‌های نر بیشتر از سگ‌های ماده بود. همچنین نتیجه مشکوک جنس نر با راپید تست ۷۱/۵ درصد و نتیجه مشکوک جنس ماده با راپید تست ۸۶/۲ درصد بود.

جدول ۵- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس در دو جنس نر و ماده به روش راپید تست

کیس مورد بررسی	تعداد(درصد)
نتیجه مثبت جنس نر با راپید تست	۸ (۸۶/۲۲)
نتیجه منفی جنس نر با راپید تست	۹ (۷۱/۲۵)
نتیجه مثبت جنس ماده با راپید تست	۴ (۴۳/۱۱)
نتیجه منفی جنس ماده با راپید تست	۱۱ (۴۳/۳۱)
نتیجه مشکوک جنس ماده با راپید تست	۱ (۸۶/۲)
نتیجه مشکوک جنس نر با راپید تست	۲ (۷۱/۵)

بنابراین روش PCR دقت بسیار بالاتری نسبت به روش راپید تست دارد.

جدول ۱- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده با ویروس پاروویروس به دو روش تشخیصی راپید تست و PCR

نتیجه مثبت(تعداد)	نتیجه منفی(تعداد)	
۱۲	۲۰	راپید تست
۲۸/۳۴%	۱۴/۵۷%	
۱۵	۲۰	آزمون PCR
۸۵/۴۲%	۱۴/۵۷%	

جدول شماره ۲ بیانگر آن است که ۶۷/۶۶ درصد نمونه‌ها با روش راپید تست مثبت واقعی گزارش شدند.

جدول ۲- تعداد و درصد سگ‌های مشکوک به آلودگی با ویروس به روش تشخیصی راپید تست

تعداد نتیجه مشکوک با راپید تست	مثبت واقعی	۲
۳ (۵۷/۸%)	درصد	۶۷/۶۶ درصد
	منفی واقعی	۱
	درصد	۳۳/۳۳ درصد

جدول شماره ۳ مقایسه تعداد و درصد مثبت و منفی کاذب سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس به دست آمده به روش راپید تست در قیاس با روش اصلی PCR را نشان می‌دهد.

جدول ۳- مقایسه تعداد مثبت و منفی کاذب

تعداد نتیجه مثبت کاذب	تعداد نتیجه منفی کاذب
۰ (۰%)	۱ (۸۶/۲%)

جدول شماره ۴ بیانگر آن است که با استفاده از روش PCR آلودگی در ۵۷/۲۸ درصد سگ‌های نر مثبت شد، آلودگی در

بحث

تینکی و همکاران (۲۰۱۵) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای کاربرد تست نوار ایمونوکروماتوگرافی سریع در تشخیص عفونت پاروویروس سگ در مقایسه با واکنش زنجیره‌ای پلیمرز بیان نمودند که در مجموع ۲۲ نمونه (۴۴٪) با روش PCR مثبت تشخیص داده شد. [11]

نتایج مطالعه فوق از نظر دقت تشخیص روش PCR با یافته‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد. زیرا در مطالعه حاضر نیز مشخص شد که با استفاده از روش راپید تست ۲۸/۳۴ درصد نمونه‌ها و با استفاده از روش PCR، ۴۲/۸۵ درصد از نمونه‌ها به ویروس پارو ویروس مثبت بودند؛ بنابراین روش PCR دقت بسیار بالاتری نسبت به روش رپید تست دارد.

اشمیتز و همکاران (۲۰۰۹) در مطالعه‌ای با بررسی مقایسه‌ای سه تست تجاری سریع تشخیص آنتی‌ژن پاروویروس سگ با میکروسکوپ الکترونی (راپید تست) و واکنش زنجیره‌ای پلیمرز (PCR) بیان نمودند که دقت روش PCR به صورت قابل توجهی بیشتر از تست‌های راپید تست می‌باشد [10]. که با یافته‌های به‌دست‌آمده در مطالعه حاضر از نظر دقت و اهمیت تشخیصی روش PCR کاملاً همخوانی دارد.

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که شیوع آلودگی به پاروویروس در نژاد بومی با آزمون PCR، ۳۴/۲۹ درصد و در سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR، ۲۷/۲۸ درصد

جدول شماره ۶ بیانگر آن است که نتیجه مثبت نژاد بومی با آزمون PCR ۲۹/۳۴ درصد و نتیجه مثبت سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR، ۲۸/۲۷ درصد بود.

جدول ۶- مقایسه اثر نژاد روی تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس به روش قطعی PCR

کیس مورد بررسی	تعداد(درصد)
کل سگ‌های نژاد بومی	۱۷ (۵۷/۴۸)
کل سگ‌های نژاد دار	۱۸ (۴۳/۵۱)
نتیجه مثبت نژاد بومی با آزمون PCR	۱۲ (۲۹/۳۴)
نتیجه منفی نژاد بومی با آزمون PCR	۵ (۲۹/۱۴)
نتیجه مثبت سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR	۳ (۲۸/۲۷)
نتیجه منفی سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR	۱۵ (۸۶/۴۲)

جدول شماره ۷ بیانگر آن است که تعداد کل سگ‌هایی با اسهال و استفراغ هم‌زمان ۱۴/۵۷ درصد بود. همچنین نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ ۲۹/۳۴ درصد بود.

جدول ۷- مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس پاروویروس با نشانه‌های درمانگاهی (اسهال و استفراغ) به روش قطعی PCR

کیس مورد بررسی	تعداد(درصد)
کل سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان	۲۰ (۱۴/۵۷)
کل سگ‌های بدون اسهال و استفراغ هم‌زمان	۱۵ (۸۶/۴۲)
نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان	۱۲ (۲۹/۳۴)
نتیجه منفی با آزمون PCR در سگ‌های با اسهال و استفراغ هم‌زمان	۳ (۵۷/۸)

عنوان یک روش تشخیصی دقیق برای شناسایی پارووایروس و بهبود فرآیند درمان در سگ‌های مشکوک توصیه می‌شود.

بود. سم و همکاران (۲۰۱۶) آلودگی به پارووایروس سگ‌ها در مناطق مختلف بنگلادش را در سگ‌های خانگی ۲۲ درصد و ۳۰ درصد گزارش نمودند [15]. در مطالعه دیگری ناهات و همکاران (۲۰۱۵)، ۳۲ درصد عفونت پارووایروس را در سگ‌های ولگرد در سال ۲۰۱۵ مشاهده نمودند [16]. تفاوت بین مطالعات مختلف ممکن است ناشی از تنوع جغرافیایی، میزان دسترسی به منابع، وضعیت واکسیناسیون، تفاوت در دقت روش‌های تشخیصی و سایر عوامل مرتبط با مدیریت و شرایط محیطی باشد.

نتیجه نهایی

این مطالعه نشان داد که روش PCR در مقایسه با راپیدتست، دقت بسیار بالاتری در تشخیص پارووایروس سگ‌ها دارد. بر اساس یافته‌ها، ۸۵/۴۲ درصد از نمونه‌ها با روش PCR و ۲۸/۳۴ درصد از نمونه‌ها با روش راپیدتست مثبت شدند. همچنین میزان مثبت واقعی در راپیدتست ۶۷/۶۶ درصد بود که نشان دهنده احتمال بالای نتایج کاذب در این روش است. بررسی فراوانی آلودگی در سگ‌های نر و ماده نشان داد که میزان آلودگی در سگ‌های نر بیشتر از سگ‌های ماده است. از نظر نژاد، میزان آلودگی در سگ‌های بومی اندکی بالاتر از سگ‌های نژاددار گزارش شد.

همچنین ۱۴/۵۷ درصد از سگ‌ها علائم همزمان اسهال و استفراغ داشتند که از این میان، ۳۴/۲۹ درصد، با روش PCR مثبت شدند. با توجه به این نتایج، استفاده از روش PCR به

منابع

1. Nandi, S., Kumar, M., 2010. Canine Parvovirus: Current Perspective. *Indian Journal of Virology*. 21(1), 31–44.
2. Yen Chen, A., Qiu, J., 2010. Parvovirus infection-induced cell death and cell cycle arrest. *Future Virology*. 5(6), 731-743.
3. Tabor, B., 2011. Canine parvovirus. *Veterinary Technology*. 1-1.
4. Macri A, Crane JS. Parvoviruses. [Updated 2022 May 23]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482245/>.
5. Alam S, Chowdhury QMMK, Roy S, Chowdhury MSR, Hasan M, Mamun MA, Uddin MB, Hossain MM, Rahman MM, Rahman MM. Molecular detection and phylogenetic analysis of Canine Parvovirus (CPV) in diarrhoeic pet dogs in Bangladesh. *Vet Anim Sci*. 2021 Dec 4;14:100224.
6. Al-Tayib O. (2014). Simple test kit for rapid detection of the presence of canine parvovirus antigen from dog's feces. *Sci. J. Vet. Adv*;3(4):57–64.
7. Basheer M. (2011). Detection of antigenic variants of canine parvovirus by polymerase chain reaction and sequencing. Mannuthy, Kerala: M.V.Sc. Thesis. College of Veterinary and Animal Sciences;. p. 129.
8. Huang XH, Wang P, Liu LK, Ma L, Fang XF, Zhao B, et al. Epidemiological investigation of canine parvovirus disease in Nanning City. *Guangxi J Anim Husbandry Vet Med*. (2018) 34:76–9.
9. Mehta S.A, Mavadiya S.V, Vagh A.A. (2020). Comparative Efficacy of Diagnostic Methodology for Detection of Canine Parvo Virus Faecal Antigen, *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 9 (5): 743-781.
10. Cuong, T., Catherine, B., Thomas, M., Tom, R. & Robert P. (2015). Sensitivity and Specificity of Rapide - Parvovirus Ag Test Kit. Retrieved from www.modernveterinarytherapeutics.com/cpv%20ag%20-%20report.pdf. 1-1.
11. Stann, S.E., DiGiacomo, R.F., Giddens, W.E., Evermann, J.F., 1984. Clinical and pathological features of parvoviral diarrhoea in dogs. *The Journal of America Veterinary Medicine Association*. 185, 651–654.
12. CBC سید نژاد س.ف، آل داوود ج، فتحی پور و. ۱۳۹۱. بررسی مقایسه‌ای کیت‌های ایمنوکروماتوگرافی تشخیصی و آزمایش در تشخیص و پیش‌آگهی بیماری اسهال پاروویروسی در سگ‌ها و همبستگی آن با شدت علائم بالینی، *مجله تحقیقات دامپزشکی*، ۴ (۱): ۹۶-۹۶.

13. در سگ‌های (CPV) مصلی نژاد ب، قربان‌پور نجف آبادی م، آویزه ر، رونق ع. ۱۳۸۷. بررسی میزان شیوع پاروویروس اسهالی، ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز، آرشیو رازی، ۶۳ (۲): ۴۱-۴۶.
14. محی‌الدین ش. ۱۳۹۱. بررسی علایم بالینی و آزمایشگاهی و پیش‌آگهی سگ‌های مبتلا به پاروویروس بر اساس نوع سویه‌های آلوده‌کننده در سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دام‌های کوچک، پایان‌نامه دکتری تخصصی بیماری‌های داخلی دام کوچک، دانشگاه تهران، دانشکده دامپزشکی، ۵۵۸۶۴.
15. Wan YL. Investigation of canine parvovirus infection in pet hospital of Tianjin. J Tradit Chin Vet Med. (2011) 13:48-52. 10.13823/j.cnki.jtcvm.2011.04.016.
16. Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. 1997. Biotechniques. 2013 Jun;54(6):314-20.

Comparison of immunochromatographic Kit and PCR for the Diagnosis of Canine Parvovirus

Morteza Razaghi Manesh^{1*}, Reza Naghiha Najaf Abadi², Sina Bahari Behbahani³, Shaqayeq Qannad⁴,

Aida Shaifain⁴

1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

2- Associate Professor, department of Animal Science, College of Agriculture, Yasouj University, Yasuj, Iran

3- Graduate of Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Iran

4-Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Canine parvovirus (CPV) is a highly contagious viral infection that primarily causes acute gastroenteritis in puppies, with the highest incidence observed in dogs aged 6 weeks to 6 months. Due to its high mortality rate, selecting an accurate diagnostic method is essential for effective disease management. This study aimed to compare the diagnostic accuracy of the immunochromatographic rapid test and polymerase chain reaction (PCR) for detecting CPV. The study was conducted in the fall of 2021 in veterinary clinics in Karaj, Iran. Samples were collected from suspected cases presenting with clinical signs such as diarrhea, vomiting, and lethargy. Initially, an ELISA-based rapid test was used to detect CPV2a and CPV2b. Regardless of the rapid test results, blood and fecal samples were collected and examined by PCR. Results showed that 34.28% of samples were positive using the rapid test, while 42.85% tested positive by PCR, indicating the higher sensitivity of PCR. The true positive detection rate of the rapid test was 67.16%. Infection was more prevalent in male dogs (57.28%) compared to females (29.14%). Among mixed-breed dogs, the infection rate was 29.4%, and among purebred dogs, it was 28.27%. In dogs presenting with both diarrhea and vomiting, 14.57% of cases were recorded, with 29.34% testing positive via PCR. Based on these findings, PCR is recommended as a more accurate and sensitive method for diagnosing CPV in suspected cases, enabling timely and effective treatment.

Keywords: Parvovirus, ELISA, Dog, PCR

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

مقایسه کیت ایمونوکروماتوگرافی تشخیص با PCR در تشخیص بیماری دیستمبر در سگ

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، رضا نقی ها نجف آبادی^۲، یاسمن نورزاده^۳، آیدا شریفیان^۴، زهرا صادقیان^۴

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۲- دانشیار گروه علوم دامی، دانشگاه یاسوج، دانشکده کشاورزی، یاسوج، ایران

۳- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۴- دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

بیماری ویروسی دیستمبر به صورت مسری است و دستگاه‌های مختلف بدن را تحت تاثیر قرار میدهد، عمدتاً از طریق دستگاه تنفسی وارد میشود. مقایسه کیت ایمونوکروماتوگرافی با PCR در تشخیص دیستمبر در سگ، بر اساس مراجعین کلینیک‌های دام کوچک شهرستان کرج می‌باشد. در ابتدا حیوانات دارای علائم بالینی مانند ترشحات بینی و چشم یا علائم گوارشی و عصبی شناسایی شدند و کیت تشخیصی الایزا برای آنها گذاشته شد. در مرحله بعد فارغ از نتیجه کیت نمونه‌های جمع‌آوری شده از ترشحات مخاطی توسط سوآپ استریل در درون محلول PBS استریل جهت بررسی مولکولی جمع‌آوری شدند. در نهایت با استفاده از روش راپید تست و PCR نمونه‌ها مورد ارزیابی قرار گرفتند و داده‌های به‌دست‌آمده آنالیز آماری شدند. نتایج مطالعه نشان داد روش تشخیصی (رپید تست: ۳/۳۴ و PCR: ۹/۴۲ درصد مثبت) و جنسیت سگ‌ها (در رپید تست: ۵/۷۱ درصد، ماده ۹/۸۷ درصد؛ در PCR: ۲۰ درصد و ماده ۸۵/۲۲ درصد مثبت) بر تشخیص دیستمبر تاثیرگذارند. آلودگی در سگ‌های بومی (رپید تست: ۱۴/۵۷ درصد و با روش PCR: ۴۲/۳۱ درصد مثبت) نسبت به سگ‌های نژاد دار (با رپید تست ۸۶/۴۲ درصد و با روش PCR: ۴۳/۱۱ درصد مثبت) بیشتر بود. همچنین نتایج بدست‌آمده در مطالعه حاضر حاکی از آن بود که ۱۴/۵۷ درصد از کل سگ‌ها دارای اسهال و استفراغ هم‌زمان بودند. همچنین نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ ۷/۸۵ درصد بود. با توجه به شیوع قابل توجه بیماری دیستمبر در سگ‌ها، انجام واکسیناسیون و رعایت موازین بهداشتی توصیه می‌شود.

واژگان کلیدی: دیستمبر، سگ، ایمونوگرافی، PCR

مقدمه

ویروس دیستمپر سگ، متعلق به کلاس موربیلی ویروس و عضو خانواده Paramyxoviridae است. سگ های جوان، واکسینه نشده و سگ های پیری که ایمنی بدنشان ضعیف شده، مستعد این بیماری می باشند (۱).

ویروس دیستمپر در سراسر جهان دیده میشود (۲)؛ اغلب توله های ۳ تا ۶ ماه را مبتلا می کند و بیشترین آمار مرگ و میر متعلق به این گروه است، اما سگ های واکسینه نشده ی مسن نیز در خطر ابتلا قرار دارند. این ویروس همچنین سگ سانان و برخی حیوانات دیگر مانند راکون، پاندای قرمز، راسو، گورکن ها، گراز وحشی و حتی گربه سانان بزرگ جثه مثل شیر را آلوده میکند (۳). اما در گربه های اهلی ایجاد بیماری نمیکند (۴ و ۵). همچنین گزارش شده که این ویروس می تواند در بدن انسان بدون هیچ علامتی وجود داشته باشد.

بیماری دیستمپر بیشترین و کشنده ترین بیماری در بین سگ ها، در نیمه قرن بیستم بود. این بیماری در سگ ها یک عفونت سیستمیک است که دستگاه های مختلفی از جمله گوارشی، تنفسی، عصبی، پوست و چشم را درگیر کرده و علائم بالینی متنوعی ایجاد می نماید. انتقال ویروس عمدتاً از طریق ترشحات تنفسی، تماس با ادرار یا مدفوع و تماس مستقیم یا غیرمستقیم با وسایل حیوان آلوده صورت میگیرد. پس از ورود، ویروس ابتدا در لوزه و غده لنفاوی تکثیر یافته و سپس به سایر اندام ها گسترش میابد (هدلی و همکاران، ۲۰۱۳).

دوره نهفتگی بیماری ۷ تا ۱۴ روز است (۶ و ۷). ویروس عامل بیماری دیستمپر با حمله به گلبول های سفید و تأثیر گذاشتن بر روی سیستم لنفاوی باعث از پا افتادن حیوان می شود. این ویروس به سرعت در اثر نور آفتاب، حرارت و مواد ضدویروسی از بین می رود اما در سرما به خوبی دوام می آورد و اکثراً در فصول پاییز و زمستان پدیدار می شود.

علائم اصلی این بیماری شامل تب شدید، ترشحات بینی و چشم، التهاب چشم، بی حالی و درگیری احتمالی چندین ارگان، به ویژه دستگاه عصبی، است که میتواند دوره بیماری را طولانی کند (۸). ویروس دیستمپر به سرعت از طریق ذرات دفع شده در عطسه و سرفه منتقل شده و طی ۲ تا ۵ روز کل بدن را درگیر میسازد. پس از تأثیر اولیه بر غدد لنفاوی، ویروس در روز ۶ تا ۹ در خون قابل شناسایی است و به ترتیب سیستم های تنفسی، گوارشی و عصبی را آلوده میکند. بیماری عمدتاً در توله سگ ها با پایان یافتن ایمنی پادتن مادری مشاهده میشود. ویروس همه سیستم بدن را درگیر می کند. علائم اولیه شامل تب، افسردگی شدید و ریزش موی گسترده از هفته اول بروز میابد و ویروس در محیط بیرونی ناپایدار بوده و طی چند روز از بین می رود.

این ویروس بیرون از بدن میزبان در محیط به سرعت از بین می رود. در صورت بقا تا حدود ۲ هفته، احتمال تشکیل آنتی بادی و بهبود افزایش میابد (۸ و ۹). از علائم شاخص بیماری دیستمپر میتوان به ترشحات چرکی اطراف چشم، بی اشتها و پوسته پوسته شدن کف پاها اشاره کرد. شدت

متأسفانه درمان اختصاصی ضد ویروسی برای بیماری دیستمپر وجود ندارد و درمان‌ها عمدتاً حمایتی‌اند، شامل؛ کنترل اسهال، جبران کم‌آبی با سرم وریدی، تقویت تغذیه با سرم‌های غذایی و ویتامین‌های تزریقی و استفاده از آنتی بیوتیک برای پیشگیری از عفونت ثانویه. در صورت بروز تشنج، داروهایی مانند فنوباربیتال‌ها و پتاسیم برومید تجویز می‌شوند.

موثرترین راه مقابله با دیستمپر پیشگیری از طریق واکسیناسیون است. واکسن‌های کنونی از ویروس زنده ضعیف شده ساخته می‌شوند و ایمنی طولانی مدت ایجاد می‌کنند. واکسیناسیون توله‌ها معمولاً بین ۶ تا ۱۰ هفتگی، پس از کاهش ایمنی ناشی از آغوز، انجام می‌شود. این ویروس هم خانواده ویروسی است که در انسان موجب بیماری سرخک می‌شود (۱۳ و ۱۴).

تشخیص سریع و دقیق دیستمپر از اهمیت بالایی برخوردار است، چرا که علاوه بر کمک به درمان، از گسترش بیماری و تشخیص نادرست جلوگیری می‌کند. روش‌های مختلفی برای شناسایی این بیماری از جمله جداسازی ویروس، ایمونوفلورسانس، RT-PCR و PCR وجود دارد که PCR به عنوان یکی از دقیق‌ترین روش‌ها شناخته می‌شود (۱۵). بر این اساس مطالعه حاضر با هدف مقایسه کارایی کیت ایمونوکروماتوگرافی و روش PCR در تشخیص دیستمپر سگ‌ها انجام شد.

و تظاهر علائم در هر سگ متفاوت است و در مواردی، به ویژه در سگ‌های مسن ممکن است علائم خفیف یا نامشخص باشد. درگیری سیستم عصبی اغلب عامل اصلی مرگ و میر بوده و ممکن است منجر به نابینایی یا اختلال در حرکت شود. پس از روز دهم در سگ‌های مقاوم، پاسخ ایمنی آغاز شده و با تولید آنتی‌بادی، حیوان نسبت به بیماری ایمن می‌گردد (۱۰).

تشخیص دیستمپر از طریق کاهش لنفوسیت‌ها در آزمایش‌های بیوشیمیایی و آنالیز ادرار صورت می‌گیرد. تست‌های سرولوژی، شناسایی آنتی‌ژن‌های ویروسی در ترشحات و تصویربرداری‌هایی چون؛ رادیوگرافی (فقط برای تشخیص محل عفونت)، سی‌تی‌اسکن و MRI به منظور ارزیابی ضایعات عصبی نیز کاربرد دارند. موی روی پوست، موکوس بینی و اپیتلیوم کف پا نیز می‌تواند برای آنتی‌بادی مورد آزمایش قرار بگیرد (۱۱ و ۱۲).

در مراحل پیشرفته بیماری، کنترل التهاب ریوی و پیشگیری از دهیرانه شدن حیوان در اثر اسهال الزامی است.

همچنین پایش مداوم سیستم عصبی مرکزی به منظور شناسایی تشنج و سایر اختلالات اهمیت دارد. شانس زنده ماندن یک سگ بیمار به گونه ویروس و قدرت سیستم ایمنی بدن سگ، بستگی دارد.

بهبود کامل امکان‌پذیر است؛ اگرچه تشنج و دیگر اختلالات وارده بر CNS ممکن است دو تا سه ماه پس از بهبود نیز رخ دهد. سگ‌هایی که به طور کامل بهبود یافته‌اند دیگر حامل ویروس نیستند و آن را گسترش نمی‌دهند (۳).

مواد و روش کار

روش کار: در ابتدا حیوانات دارای علائم بالینی مانند ترشحات بینی و چشم یا علائم گوارشی و عصبی شناسایی شدند و کیت تشخیصی الایزا برای آنها گذاشته شد. در مرحله بعد فارغ از نتیجه کیت نمونه های جمع آوری شده از ترشحات مخاطی (چشم، بینی و دهان) توسط سوآپ استریل در درون محلول PBS استریل جهت بررسی مولکولی جمع آوری شدند.

روش نمونه گیری: این مطالعه به صورت مواردی از سگ های مشکوک به دیستمپر که طی اسفند ۱۴۰۰ تا چهار ماه پس از آن به کلینیک مراجعه کردند، انجام شد. جامعه آماری سگ های مشکوک به دیستمپر بود که واکسن دریافت نکرده بودند. توله سگ ها بر اساس سن به دو گروه زیر شش ماه و بالای شش ماه تقسیم شدند و همچنین علائم بالینی آنها به سه دسته عصبی، تنفسی و گوارشی طبقه بندی گردید.

روش الایزا: در این مطالعه از تست الایزا برای شناسایی آنتی ژن ویروس دیستمپر استفاده شد. اساس کار الایزا بر پایه اتصال اختصاصی بین آنتی ژن و آنتی بادی است که در بستر جامد (پلیت های پلی استیرنی) تثبیت میشوند و استفاده از سیستم آنزیم - سوبسترا حساسیت و اختصاصیت آن افزایش می یابد. در ابتدا سگ های دارای علائم بالینی نظیر ترشحات بینی و چشم یا علائم گوارشی و عصبی شناسایی و با کیت تجاری الایزا مورد آزمایش قرار گرفتند. سپس، صرف نظر از نتیجه تست، نمونه های خون و سوآب حلقی،

بینی و چشمی و نمونه ادرار جمع آوری شد. نمونه های سوآب در محلول HBSS حاوی استرپتومایسین و پنسیلین قرار گرفتند، فیلتر شده و پس از سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه با دور ۱۲۰۰۰ RPM فاز رویی آن جدا گردید. در نهایت، نمونه ها در دمای منفی ۸۰ درجه سانتیگراد نگهداری و جهت انجام آزمایش PCR آماده شدند.

ترشحات به لوله هر نمونه سوآپ آغشته به: PCR آزمون انتقال و در شرایط PBS حاوی بافر های آزمایش استریل سرمایی به آزمایشگاه مرجع منتقل گردید. لوله ها در آزمایشگاه تا شروع آزمایش در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگه داری شدند.

PCR شامل: استخراج RNA، ساخت cDNA، واکنش زنجیره ای پلیمرز، الکتروفورز در ژل آگاروز. روش آنالیز آماری: اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و روش آماری T-TEST و محاسبه میانگین و انحراف معیار مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

نتایج

نتایج جدول ۱ بیانگر آن است که با استفاده از روش رپید تست ۳۴/۳ درصد نمونه ها مثبت و با استفاده از روش PCR 9/42 درصد نمونه ها به ویروس دیستمپر مثبت بودند؛ بنابراین روش PCR دقت بسیار قابل توجهی در تشخیص ویروس دیستمپر دارد.

جدول ۱: مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده با ویروس

دیستمبر به دو روش تشخیصی رپید تست و PCR

تعداد نتیجه مثبت با رپید تست (درصد)	۱۲ (۳۴/۳)
تعداد نتیجه منفی با رپید تست (درصد)	۱۶ (۴۵/۷۶)
تعداد نتیجه مثبت با آزمون PCR (درصد)	۱۵ (۴۲/۹)
تعداد نتیجه منفی با آزمون PCR (درصد)	۲۰ (۵۷/۱)

نتایج جدول ۲ بیانگر آن است که با استفاده از روش رپید تست ۵۷/۱۴ درصد نمونه‌ها مثبت واقعی بودند.

جدول ۲: تعداد و درصد سگ‌های مشکوک به آلودگی با

ویروس دیستمبر به روش تشخیصی رپید تست

تعداد نتیجه مشکوک با رپید تست (درصد)	۷ (۲۰)	مثبت واقعی (درصد)	۴ (۵۷/۱۴)
		منفی واقعی (درصد)	۳ (۴۲/۸۶)

نتایج جدول ۳ بیانگر آن است که با استفاده از روش PCR

۵۸/۷ درصد نمونه‌ها مثبت کاذب بودند.

جدول ۳: مقایسه تعداد و درصد مثبت و منفی کاذب سگ

های آلوده به ویروس دیستمبر به دست آمده به روش رپید

تست در قیاس با روش اصلی PCR

تعداد نتیجه مثبت کاذب (درصد)	تعداد نتیجه منفی کاذب (درصد)
۳ (۸/۵۷)	۲ (۵/۷۱)

جدول ۴ بیانگر آن است که با استفاده از روش PCR

مشخص شد که ۲۰/۰۰ درصد از سگ‌های نر و ۲۲/۸۵ درصد

از سگ‌های ماده به ویروس دیستمبر مثبت بودند.

جدول ۴: مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس

دیستمبر در دو جنس نر و ماده به روش قطعی PCR

تعداد سگ جنس نر (درصد)	۱۹ (۵۴/۲۸)
تعداد سگ جنس ماده (درصد)	۱۶ (۴۵/۷۱)
تعداد نتیجه مثبت جنس نر در آزمون PCR (درصد)	۷ (۲۰/۰۰)
تعداد نتیجه منفی جنس نر در آزمون PCR (درصد)	۱۱ (۳۱/۴۲)
تعداد نتیجه مثبت جنس ماده در آزمون PCR (درصد)	۸ (۲۲/۸۵)
تعداد نتیجه منفی جنس ماده در آزمون PCR (درصد)	۹ (۲۵/۷۱)

جدول ۵ بیانگر آن است که با استفاده از روش رپید تست

مشخص شد که ۲۵/۷۱ درصد از سگ‌های نر و ۷/۸۹ درصد

از سگ‌های ماده به ویروس دیستمبر مثبت بودند. همچنین

درصد نتیجه مشکوک جنس ماده با رپید تست ۱۴/۲۸

درصد و درصد نتیجه مشکوک جنس نر با رپید تست ۵/۷۱

درصد بود.

جدول ۵: مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس

دیستمبر در دو جنس نر و ماده به روش رپید تست

تعداد نتیجه مثبت جنس نر با رپید تست (درصد)	۹ (۲۵/۷۱)
تعداد نتیجه منفی جنس نر با رپید تست (درصد)	۷ (۲۰/۰۰)
تعداد نتیجه مثبت جنس ماده با رپید تست (درصد)	۳ (۷/۸۹)
تعداد نتیجه منفی جنس ماده با رپید تست (درصد)	۹ (۲۵/۷۱)
تعداد نتیجه مشکوک جنس ماده با رپید تست (درصد)	۵ (۱۴/۲۸)
تعداد نتیجه مشکوک جنس نر با رپید تست (درصد)	۲ (۵/۷۱)

۲۰ (۵۷/۱۴)	تعداد کل سگ‌هایی با اسهال و استفراغ هم‌زمان (درصد)
۱۵ (۴۲/۸۶)	تعداد کل سگ‌هایی بدون اسهال و استفراغ هم‌زمان (درصد)
۳ (۸/۵۷)	تعداد نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ (درصد)
۱۲ (۳۴/۲۹)	تعداد نتیجه منفی با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ (درصد)

جدول ۶ بیانگر آن است که ۵۷/۱۴ درصد از سگ‌های بومی و ۴۲/۸۶ درصد از سگ‌های نژاد دار به ویروس دیستمپر آلوده بودند. با استفاده از روش قطعی PCR، ۳۱/۴۲ درصد از سگ‌های بومی و ۱۱/۴۳ درصد سگ‌های نژاد به ویروس دیستمپر آلوده بودند.

جدول ۶: مقایسه اثر نژاد روی تعداد و درصد سگ‌های

آلوده به ویروس دیستمپر به روش قطعی PCR.

بحث:

ویروس دیستمپر سگ‌ها و ویروسی از جنس موربیلی ویروس و خانواده پارامیکسوویریده با ژنوم RNA تک‌رشته‌ای است (۱۹). این ویروس به صورت آندمیک در سراسر جهان وجود دارد و عمدتاً از طریق قطرات تنفسی حیوانات آلوده صورت می‌گیرد (۲۰). شدت تظاهرات بالینی بیماری به عواملی نظیر سویه ویروس، شرایط محیطی، سن و وضعیت ایمنی حیوان بستگی داشته و با نرخ مرگ و میر حدوداً ۵۰ درصد همراه است (۲۱).

تشخیص بیماری بر اساس علائم بالینی و عدم سابقه واکسیناسیون انجام می‌گیرد اما به دلیل غیر اختصاصی بودن علائم اولیه، نیاز به روش‌های تشخیصی سریع و دقیق وجود دارد (۲۲). مطالعات نشان می‌دهد که روش PCR از حساسیت و دقت بالایی برخوردار است؛ به طوری که در مطالعه حاضر، ۳۴/۳ درصد موارد با رپید تست و ۴۲/۹ درصد با PCR مثبت تشخیص داده شدند. بنابراین، استفاده از PCR نقش موثری در شناسایی دقیق و کنترل بیماری دیستمپر دارد (۲۳، ۲۴ و ۲۵).

۲۰ (۵۷/۱۴)	تعداد کل سگ‌های نژاد بومی (درصد)
۱۵ (۴۲/۸۶)	تعداد کل سگ‌های نژاد دار (درصد)
۱۱ (۳۱/۴۲)	تعداد نتیجه مثبت نژاد بومی با آزمون PCR (درصد)
۱۰ (۳۵/۰۰)	تعداد نتیجه منفی نژاد بومی با آزمون PCR (درصد)
۴ (۱۱/۴۳)	تعداد نتیجه مثبت سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR (درصد)
۱۰ (۳۵/۰۰)	تعداد نتیجه منفی سگ‌های نژاد دار با آزمون PCR (درصد)

جدول ۷ بیانگر آن است که ۵۷/۱۴ درصد از کل سگ دارای اسهال و استفراغ هم‌زمان بودند. همچنین نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ ۸/۵۷ درصد بود.

جدول ۷: مقایسه تعداد و درصد سگ‌های آلوده به ویروس

دیستمپر با نشانه‌های درمانگاهی (اسهال و استفراغ) به روش

قطعی PCR

مشکوک ارائه شده اند . در مطالعه ای توسط محمد و همکاران (۲۰۲۲) در عراق، شیوع دیستمبر با روش الایزا و PCR بررسی شد ؛ نتایج نشان داد که به ترتیب ۶/۹۶٪ و ۱۹/۶۲٪ از سگ‌ها به صورت حاد و مزمن سرم مثبت بودند. همچنین میزان شیوع با روش الایزا و RT-PCR برابر با ۸/۸۶٪ گزارش شد .

حساسیت و ویژگی کیت ELISA IgM نسبت به RT-PCR به ترتیب ۷۵٪ و ۹۸/۶۳٪ بود و مقادیر پیش بینی مثبت و منفی آن نیز به ترتیب ۸۱/۸۲٪ و ۹۷/۹۶٪ برآورد شد (۱۹).

آن و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه ای با مقایسه روش ایمونوکروماتوگرافی و روش PCR برای تشخیص دیستمبر در سگ‌ها نشان دادند ؛ که هریک از این روش‌ها مزایای خاص خود را دارند ؛ اگرچه دقت PCR بالاتر است ، اما ایمونوکروماتوگرافی به دلیل سادگی و عدم نیاز به تجهیزات تخصصی ، برای استفاده صاحبان سگ مناسبتر است . همچنین ، تشخیص زودهنگام از طریق PCR میتواند با تسهیل درمان و قرنطینه سریع در کاهش عوارض و مرگومیر بیماری موثر باشد.

در مطالعه ای دیگر، دونگ و همکاران (۲۰۱۵) در چین با به کار گیری روش RT-PCR داپلکس برای تمایز سویه های وحشی و واکسن دیستمبر ، ۶۷ نمونه مشکوک را بررسی کردند که نتایج حاکی از آلودگی ۵۰ درصدی (۳۳ نمونه) به ویروس دیستمبر بود (۱۵).

مطالعات محدودی تاکنون به بررسی شیوع ویروس دیستمبر در ایران پرداخته‌اند. گنج خانلو و همکاران (۱۳۹۶) در مطالعه ای روی ۱۴۸ قلاده سگ ولگرد در تبریز شیوع ۴/۰۵ درصد را گزارش کردند (۱۷).

نقیبی و همکاران (۱۳۹۱) نیز در بررسی سگ های خانگی ارجاعی به بیمارستان دامپزشکی اهواز ، میزان شیوع را ۲/۸۲ درصد اعلام نمودند و فرم های تنفسی (۳۲/۶) درصد و گوارش (۲۹/۵) درصد را شایع تر دانستند (۱۶).

همچنین مصلی نژاد و همکاران (۱۳۸۸) با استفاده از روش ایمونوکروماتوگرافی ، شیوع ۸/۹۷ درصد را در سگ های اسهالی اهواز گزارش کردند که ۷ مورد از ۷۸ کیس مورد مطالعه نتیجه تستشان مثبت بود.

توکلی زانیانی و همکاران (۲۰۲۱) نیز در مطالعه ای ژنومی و ایمونولوژیک ، ۳۷ نمونه مثبت دیستمبر را با روش RT-PCR در بین سگ های مشکوک شناسایی کردند.

مطالعات متعددی در سطح جهان به بررسی شیوع ویروس دیستمبر سگ ها پرداخته اند . میزان شیوع سرمی آنتی‌بادی‌های دیستمبر در کشور های مختلف متفاوت گزارش شده است به طور مثال ؛ در نیجریه ۷/۵٪ ، در هند بین ۹ تا ۷۲٪ ، در ترکیه ۹/۰۳٪ ، در برزیل ۱۵٪ (د آلمیدا و همکاران، ۲۰۱۶)، در ایران ۱۷/۵۲٪ و در اسپانیا ۱۸/۷٪ گزارش شده است (۲۶،۲۷،۲۸ و ۲۹).

بالین‌حال، اطلاعات دقیق درباره تشخیص و شیوع این بیماری محدود بوده و اغلب براساس علائم بالینی سگ های

نتایج این مطالعه نشان داد که روش RT-PCR دو رشته‌ای دارای ویژگی و حساسیت بالایی است و قادر به شناسایی و تمایز مؤثر بین سویه های واکسن و نوع وحشی ویروس دیستمپر می باشد. این امر کاربرد بالینی و اپیدمیولوژیکی این روش را تایید می کند (۳۰). سایر مطالعات نیز بر دقت بالای روش PCR در تشخیص دیستمپر تأکید داشته اند؛ به گونه‌ای که میزان آلودگی به ویروس دیستمپر با استفاده از PCR در ایران ۱۵٪ (۲)، در هند ۲۱٪ (۳۱)، در چین ۲۴/۸۸٪ (۳۲)، در مجارستان ۳۰/۶۶٪ (دمیتر و همکاران، ۲۰۰۷) و در آرژانتین ۷۳/۷۴٪ (۳۳) گزارش شده است. علاوه بر این، مطالعات متعددی حساسیت اختصاصیت بالای RT-PCR را در شناسایی ویروس در نمونه‌های مختلف بالینی مانند سرم، ادرار و سواب ملتحمة و همچنین در مراحل تحت حاد و مزمن بیماری تأیید کرده‌اند. این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر که دقت بالای PCR را نشان داد، همخوانی دارد.

نتایج مطالعه حال حاضر نشان داد که میزان آلودگی به ویروس دیستمپر براساس جنسیت سگ‌ها متفاوت بوده است؛ به طوری که با استفاده از رپید تست، ۲۵/۷۱ درصد از سگ‌های نر و ۷/۸۹ درصد از سگ‌های ماده مثبت بودند، در حالی که با روش PCR این میزان به ترتیب ۲۰٪ در نرها و ۲۲/۵۸٪ در ماده ها گزارش شد (۳۴، ۳۱، ۳۵).

مطالعات پیشین نیز نتایج مشابهی ارائه داده اند. گنج خانلو و همکاران (۱۳۹۶) نیز طبق مطالعات خود گزارش نمودند

که از لحاظ جنس تفاوت معنی داری در شیوع و بروز بیماری مشخص نگردید (۱۷). نقیبی و همکاران (۱۳۹۱) با بررسی اثر جنس بر شیوع بیماری دیستمپر سگ‌ها گزارش نمودند که موارد بیماری در سگ‌های نر به صورت غیر معنی داری بیشتر از سگ‌های ماده بود و شانس ابتلای سگ‌های نر ۱۰۴ برابر سگ های ماده بود (۱۶). در مطالعه ای در کشور هندوستان شیوع در جنس نر و ماده به ترتیب ۶۰ و ۴۰ درصد گزارش شد (۳۶). در ایالات متحده آمریکا شیوع در جنس نر و ماده به ترتیب ۴۵ و ۵۵ درصد گزارش گردیده است (۳۷). مطالعات انجام شده روی سایر حیوانات نیز نشان داد، اختلاف معنی داری بین دو جنس از نظر شیوع وجود ندارد (۳۸) که با یافته های بدست آمده در مطالعه حاضر همخوانی دارد.

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که آلودگی در سگ های بومی (که اغلب به صورت ولگرد زندگی می کنند) بیشتر از سگ های نژاد دار (سگ هایی که اغلب دارای صاحب می باشند و در محیط محصور زندگی می کنند) بود؛ به نحوی که ۵۷/۱۴ درصد از سگ های بومی و ۴۲/۸۶ درصد از سگ های نژاد دار به ویروس دیستمپر آلوده بودند. با استفاده از روش قطعی PCR، ۳۱/۴۲ درصد از سگ‌های بومی و ۱۱/۴۳ درصد سگ‌های نژاد به ویروس دیستمپر آلوده بودند. در یک مطالعه که بر روی سگ‌های پارک وحش تانزانیا انجام گرفت، وجود سگ‌های اهلی در یک جمعیت با تراکم بالا در ناحیه غرب آن منطقه را منشاء بیماری سگ‌ها قلمداد نمودند. در حالی که در قسمت جنوب و شرق پارک مزبور که جمعیت سگ‌ها از تراکم پایین

نتیجه‌گیری نهایی:

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر مشخص نمود که نوع روش اندازه‌گیری تأثیر قابل‌توجهی بر شناسایی و تعیین میزان شیوع بیماری دارد به‌نحوی که مشخص شد که با استفاده از روش رپید تست ۳۴/۳ درصد نمونه‌ها مثبت و با استفاده از روش PCR 9/42 درصد نمونه‌ها به ویروس دیستمپر مثبت بودند؛ بنابراین روش PCR دقت بسیار قابل‌توجهی در تشخیص ویروس دیستمپر دارد. باتوجه‌به شیوع قابل‌توجه بیماری دیستمپر در سگ‌ها، انجام واکسیناسیون و رعایت موازین بهداشتی توصیه می‌شود.

برخوردار بوده، هیچ گونه توله سگ مثبت از نظر تیتراژ آنتی بادی یافت نشد (۳۹). در بررسی آویزه و صیفی (۱۳۸۴) که نمونه‌های سرمی به طور تصادفی از ۶ روستای اطراف شهر اهواز جمع‌آوری شده بود، شیوع آنتی بادی علیه ویروس دیستمپر، اختلاف معنی‌داری در بین مناطق مختلف نداشته است (۴۰). به طور کلی در مناطقی می‌بایست انتظار شیوع بیشتری داشت که سگ‌ها امکان تماس با حیوانات وحشی و یا مبتلا را داشته باشند و چنانچه که در مطالعه حاضر نیز مشاهده شد؛ آلودگی در سگ‌های بدون نژاد و ولگرد که دارای تماس بیشتری با محیط اطراف و حیوانات ولگرد دارند، بیشتر از سگ‌های نژاد دار و خانگی بود.

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر حاکی از آن بود که که ۵۷/۱۴ درصد از کل سگ دارای اسهال و استفراغ همزمان بودند. همچنین نتیجه مثبت با آزمون PCR در سگ‌هایی با اسهال و استفراغ ۸/۵۷ درصد بود. گنج‌خانلو و همکاران (۱۳۹۶) با بررسی علائم سگ‌های مبتلا به دیستمپر بیان نمودند که سگ‌هایی که دچار اسهال شده بودند، به دو گروه اسهال خونی و اسهال معمولی تقسیم‌بندی شدند و مشاهده شد که ۴ مورد (۶۶/۶۶ درصد) از موارد مثبت دچار اسهال خونی بوده‌اند و ۲ مورد (۳۴/۳۳ درصد) دچار اسهال غیر خونی بوده‌اند (۳۹). مصلی نژاد و همکاران (۱۳۸۸) در مطالعه‌ای با بررسی میزان شیوع دیستمپر در سگ‌های اسهالی شهرستان اهواز بیان نمودند که عفونت به طور قابل‌توجهی در سگ‌های دارای اسهال هموراژیک بیشتر بود ۷/۲۰ درصد؛ ۶ مورد از ۲۹ مورد (۱۸).

1. Isfahani MS, Rostami A, Bahonar A, Barin A, Memarian I. (2017). Serologic survey for canine distemper virus in free-ranging wild canids in the northeast of Iran. *Revue De Medecine Veterinaire*. 168(10-12):247-51.
2. Dong X.Y, Li W.H, Zhu J.L. (2015). Detection and differentiation of wild-type and vaccine strains of canine distemper virus by a duplex reverse transcription, *Iranian Journal of Veterinary Research*, Shiraz University, 16 (2): 172-175.
3. Lavan R & Knesl O. (2015). Prevalence of canine infectious respiratory pathogens in asymptomatic dogs presented at US animal shelters. *Journal of Small Animal Practice*, 56: 572-576.
4. Schulz BS, Kurz S, Weber K, Balzer HJ, Hartmann K. (2014). Detection of respiratory viruses and Bordetella bronchiseptica in dogs with acute respiratory tract infections. *Veterinary Journal*, 201: 365-369.
5. Namroudi S, Rostami A, Barin A, Ardebili KM. (2013). Antibody monitoring to canine distemper virus in unvaccinated rural dogs in the southern coastal region of Caspian sea. *Journal of Veterinary Research*. 68(3):209-15.
6. Dahiya S. S., Saini M., Kumar P., Gupta P. K. (2012). Immunogenicity of a DNA-Launched Replicon-Based Canine Parvovirus DNA Vaccine Expressing VP2 Antigen in Dogs. *Res. Vet Sci*. 93 (2), 1089–1097.
7. Beineke A., Puff C., Seehusen F. and Baumgartner W. (2009). Pathogenesis and immunopathology of systemic and nervous canine distemper. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 127: 1-18.
8. Mochizuki M, Yachi A, Ohshima T, Ohuchi A, Ishida T. (2008). Etiologic study of upper respiratory infections of household dogs. *Journal of Veterinary Medical Science*, 70(6): 563-569.
9. Avizeh R, Shapouri MR, Akhlaghi N. (2007). Antibody titers against canine distemper virus in unvaccinated rural dogs from Ahvaz, Iran. *Pak J Biol Sci*. 1;10(21):3970-2.
10. Greene C.E. and Appel M.J. (2006). Canine distemper. In: Greene, C.E. (Ed). *Infectious diseases of the dog and cat*. 3th ed. Saunders Elsevier Inc, pp: 25-41.
11. Ezeibe M.C. (2005). Canine distemper in local dogs in Nsukka, Nigeria. *Veterinary Record*, 156: 840-842.
12. Vandeveld M & Zurbriggen A. (2005). Demyelination in canine distemper virus infection: a review. *Acta Neuropathologica*. 109(1): 56-68.
13. Cattet M.R., Duignan P.J., House C.A. and Aubin D.J. (2004). Antibodies to canine distemper and phocine distemper viruses in polar bears from the Canadian arctic. *Journal of Wildlife Disease*, 40: 338-342.
14. *Journal of Wildlife Disease*, 40: 338-342.

15. Buchholz U. J., Finke S., Conzelmann K. K. (1999). Generation of Bovine Respiratory Syncytial Virus (BRSV) From cDNA: BRSV NS2 is Not Essential for Virus Replication in Tissue Culture, and the Human RSV Leader Region Acts as a Functional BRSV Genome Promoter. *J. Virol.* 73 (1), 251–259. doi: 10.1128/JVI.73.1.251-259.1999
۱۶. زیاو ی، ون هو ل، جون لینگ ژ. (۱۳۹۴). شناسایی و تفریق سویه‌های وحشی و واکسن ویروس دیستمپر سگ‌سانان، مجله تحقیقات دامپزشکی ایران، ۱۶ (۵۱): ۱۷۲–۱۷۵.
۱۷. گنج خانلو ا، آذری کی ی، طایفه شکر س، وقاری عتیق، ا. (۱۳۹۶). بررسی میزان شیوع بیماری دیستمپر در بین ۱۴۸ قلاده سگ ولگرد شهرستان تبریز، یازدهمین کنگره دانشجویان دامپزشکی ایران، بابل، ۱–۱.
۱۸. مصلی‌نژاد ب، آویزه ر، قربان‌پور نجف‌آبادی م، پورمهدی م. (۱۳۸۸). بررسی میزان شیوع دیستمپر در سگ‌های اسهالی شهرستان اهواز، نشریه علوم درمانگاهی دامپزشکی ایران، ۳ (۲): ۶۳.
19. Gou W., Evermann J.F., Foreyt W.J., Knowlton F.F. and Windberg L.A. (1986). Distemper virus in coyotes: a serological survey. *American Journal of Veterinary Research*, 189: 1099-1100.
20. Halecker S, Bock S, Beer M, Hoffmann B. A New Molecular Detection System for Canine Distemper Virus Based on a Double-Check Strategy. *Viruses*. 2021 Aug 18;13(8):1632.
21. Headley SA, Alfieri AA, Fritzen JT, Garcia JL, Weissenböck H, da Silva AP, Bodnar L, Okano W, Alfieri AF. (2013). Concomitant canine distemper, infectious canine hepatitis, canine parvoviral enteritis, canine infectious tracheobronchitis, and toxoplasmosis in a puppy. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 25: 129-135.
22. Headley S, Bodnar L, Silva A, Alfieri A, Gomes L, Okano W, et al. Canine distemper virus with concomitant infections due to canine herpesvirus-1, canine parvovirus, and canine adenovirus in puppies from Southern Brazil. *J Microbiol Pathol*. 2115;14115.
23. Headley SA, Bodnar L, Silva AP, Alfieri AF, Gomes LA, Okano W, Alfieri AA. (2015). Canine Distemper Virus with Concomitant Infections Due to Canine Herpesvirus-1, Canine Parvovirus, and Canine Adenovirus in Puppies from Southern Brazil. *Jacobs Journal of Microbiology and Pathology*, 1(2): 015.
24. Kennedy S, Kuiken T, Jepson PD, Deaville R, Forsyth M, Barrett T, et al. Mass die-Off of Caspian seals caused by canine distemper virus. *Emerging infectious diseases*. 2000; 6(6):637.
25. Li C, Guo D, Wu R, Kong F, Zhai J, Yuan D, Sun D. Molecular surveillance of canine distemper virus in diarrhoeic puppies in northeast China from May 2014 to April 2015. *J. Vet. Med. Sci*. 2018; 17:5–19.
26. Liu Y, Liu C, Ding H, Cao Y, Sun Z, Wu H, Wang L, He W, Huang B, Xi X, Tian K. A highly virulent canine distemper virus strain isolated from vaccinated mink in China. *Virus Genes*. 2021 Jun;57(3):266-275.

27. Mohammad HA, Ajaj EA, Gharban HAJ. The first study on confirmation and risk factors of acute and chronic canine distemper in stray dogs in Wasit Province, Iraq, using enzyme-linked immunosorbent assay and reverse transcription-polymerase chain reaction. *Vet World*. 2022 Apr;15(4):968-974.
28. Nezaratizade S, nasiri N, nasiri N, momtaz H. A CASE REPORT OF HUMAN DISTEMPER VIRUS AND SCIENTIFIC RESEARCH STUDY ABOUT IT. *Studies in Medical Sciences* 2020; 31 (9) :643-649
29. Oleaga Á, Vázquez CB, Royo LJ, Barral TD, Bonnaire D, Armenteros JÁ, Rabanal B, Gortázar C, Balseiro A. Canine distemper virus in wildlife in south-western Europe. *Transbound Emerg Dis*. 2022 Jul;69(4):e473-e485.
30. Plattet P., Zweifel C., Wiederkehr C., Belloy L., Cherpillod P., Zurbriggen A., et al.. (2004). Recovery of a Persistent Canine Distemper Virus Expressing the Enhanced Green Fluorescent Protein From Cloned cDNA. *Virus Res*. 101 (2), 147–153.
31. Sarchahi AA, Arbabi M, Mohebalian H. Detection of canine distemper virus in cerebrospinal fluid, whole blood and mucosal specimens of dogs with distemper using RT-PCR and immunochromatographic assays. *Vet Med Sci*. 2022 Jul;8(4):1390-1399.
32. Shi N, Zhang L, Yu X, Zhu X, Zhang S, Zhang D, Duan M. Insight Into an Outbreak of Canine Distemper Virus Infection in Masked Palm Civets in China. *Front Vet Sci*. 2021 Nov 3;8:728238.
33. Sobrino R, Arnal M.C, Luco D.F, Gortázar C. Prevalence of antibodies against canine distemper virus and canine parvovirus among foxes and wolves from Spain. *Vet. Microbiol*. 2008;126(1-3):251–256.
34. Teixeira Ribeiro AI, da Cruz Burema M, de Souza Borges AP, de Melo Bruno VC, Brandini Néspoli PE. (2020). Pyogranulomatous pleuropneumonia caused by *Nocardia asiatica* in a dog coinfecting with canine morbillivirus (canine distemper virus). *Veterinary medicine and science*. 6(1):25-31.
35. Tipold A, Vandeveld M, Wittek R, Moore P, Summerfield A, Zurbriggen A. Partial protection and intrathecal invasion of CD2+ T cells in acute canine distemper virus infection. *Veterinary microbiology*. 2111;23(3):123-213.
36. Tozato C.D.C, Zadra V.F, Basso C.R, Araújo J.P. Canine distemper virus detection by different methods of One-Step RT-qPCR. *Ciê. Rural*. 2016;46(9):1601–1606.
37. Vila Nova B., Cunha E., Sepúlveda N., Oliveira M., São Braz B., Tavares L., et al.. (2018). Evaluation of the Humoral Immune Response Induced by Vaccination for Canine Distemper and Parvovirus: A Pilot Study. *BMC Vet Res*. 14 (1), 348.
38. Wang J, Wang J, Li R, Liu L, Yuan W. Rapid and sensitive detection of canine distemper virus by real-time reverse transcription recombinase polymerase amplification. *BMC Vet. Res*. 2017;13(1):1–7.

39. Wang R, Wang X, Zhai J, Zhang P, Irwin DM, Shen X, Chen W, Shen Y. A new canine distemper virus lineage identified from red pandas in China. *Transbound Emerg Dis*. 2022 Jul;69(4):e944-e952.
40. Wu Z.M, Yu Z.J, Cui Z.Q, Peng L.Y, Li H.R, Zhang C.L, Fu B.D. In vitro antiviral efficacy of caffeic acid against canine distemper virus. *Microb. Pathog*. 2017; 110:240–244.

Comparison of Immunochromatography Kit with PCR in the Diagnosis of Distemper Disease in Dogs

Morteza Razaghimanesh ^{1*}, Reza Naghihanajafabadi ², Yasaman Norzade ³, Ayda Sharifiyan ⁴,
Zahra Sadeghiyan⁴

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Khuzestan, Iran

2. Associate Professor, Department of Animal Science, College of Agriculture, Yasuj University, yasuj, Iran.

3. Doctor of Veterinary Medicine (DVM) Graduate, Islamic Azad University Shushtar Branch, Iran.

4. Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Canine distemper virus (CDV) is a highly contagious viral disease affecting multiple organ systems, primarily transmitted through the respiratory tract.

To compare the diagnostic accuracy of immunochromatographic (rapid) kits with polymerase chain reaction (PCR) for detecting CDV in dogs, based on cases referred to small animal clinics in Karaj County, Iran.

Dogs exhibiting clinical signs such as nasal/ocular discharge, gastrointestinal symptoms, or neurological manifestations were initially identified. Diagnostic ELISA kits were administered, followed by sterile swab collection of mucosal secretions.

into phosphate-buffered saline (PBS) solution for molecular analysis, irrespective of ELISA results. Specimens were evaluated using rapid tests and PCR, with subsequent statistical analysis of the data.

The study revealed significant diagnostic variation between methods (rapid test: 34.3% positive; PCR: 42.9% positive) and gender-based differences in detection rates (rapid test: males 71.25%, females 89.7%; PCR: males 20%, females 85.22%). Native dogs exhibited higher infection rates (rapid test: 57.14%; PCR: 31.42%) compared to pedigree dogs (rapid test: 42.86%; PCR: 11.43%). Concurrent diarrhea and vomiting were observed in 57.14% of infected dogs, with PCR positivity in 57.8% of these cases.

The substantial prevalence of CDV underscores the critical need for routine vaccination and stringent hygiene protocols to mitigate transmission.

Keywords: Canine Distemper, Dog, Immunochromatography, PCR

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

بررسی فراوانی کرم های روده ای در سگ ها با روش EPG

بهنام پدram^{۱*}، لیلا درخشان^۲، علی الماسیان^۳، آیدا شریفیان^۴، زهرا صادقیان^۴

۱- گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۲- گروه انگل شناسی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۳- دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

۴- دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: B1pedram@gmail.com

چکیده

در استان لرستان به ویژه در مناطق کم برخوردار، عفونت های انگلی روده ای از اهمیت بالایی برخوردارند. پژوهش حاضر با هدف بررسی فراوانی کرم های روده ای در سگ های ولگرد و خانگی شهرستان درود انجام شد. در این مطالعه، طی اردیبهشت تا مرداد ۱۴۰۱، ۴۸ نمونه مدفوع از سگ های خانگی مراجع به کلینیک های این شهرستان به همراه پرسشنامه صاحبان آنها تهیه شد. همچنین با کمک شهرداری و روش تله گیری از ۷۳ سگ ولگرد نمونه مدفوع تازه جمع آوری شد. داده ها پس از جمع آوری وارد نرم افزار SPSS شد و به منظور تعیین رابطه بین دو متغیر از آزمون آماری مربع کای (χ^2) استفاده شد. با سطح اطمینان ۹۵ درصد و دقت مساوی یا کمتر از ۰/۰۵. نتایج نشان داد که میزان شیوع انگل های روده ای در سگ های خانگی (۴/۱۶٪) و سگ های ولگرد (۹۱/۷۸٪) اختلاف معنی داری دارد ($P < ۰/۰۵$). تحلیل آماری نشان داد که میزان آلودگی به تخم تنیا در ۴۵ نمونه سگ ولگرد با میزان فراوانی نسبی ۶۷/۱۶ درصد بیشترین نوع انگل است که اختلاف معنی داری با بقیه انگل ها دارد و بعد از آن به ترتیب توکسوکارا کنیس، دیپیلیدیوم، ژیا ردیا و تریشیوریس، ۳۱/۳۴، ۲۹/۸۵، ۱۶/۴۱ و ۸/۹۵ درصد فراوانی کمتر را نشان می دهند ($P < ۰/۰۵$). شیوع انگل های کرمی بخصوص انگل های زئونوز در سگ های ولگرد دورود و حومه نسبت به سگ های خانگی بسیار بالاتر است که علت آن این است در سگ های خانگی در شرایط بهداشتی مناسبی نگهداری می شوند.

واژگان کلیدی: عفونت های انگلی، سگ های ولگرد، سگ های خانگی

مقدمه

هیداتیک که لارو اکینوкокوس می باشد. این کرم پهن بطور معمول در روده کوچک سگ، روباه، گرگ و سایر سگ سانان به عنوان میزبان نهایی آن، زندگی می کند و مرحله نوزادی این انگل بنام کیست هیداتیک، می تواند در ارگان های داخلی انسان و یا بسیاری از حیوانات دیگر، زندگی می کند (۱).

از آنجا که این سستود گونه های متنوعی دارد، شناخت آنها برای مبارزه با آن و پیشگیری از آلودگی انسان و دام های اهلی به این انگل بسیار ضروری است. مطالعات نشان می دهد که آلودگی به کیست هیداتیک در جامعه انسانی در بسیاری از کشورهای آسیا و افریقا و همینطور آمریکای جنوبی، در سطح بالایی قرار دارد که ناشی از عدم آگاهی و شناخت ناکافی این انگل در چنین مناطقی می باشد. هیداتیدوز یکی از مشکلات بهداشت عمومی در بسیاری از کشورها به ویژه کشورهای درحال توسعه است که خسارات اقتصادی و بهداشتی فراوانی ایجاد میکند (۲). عدم ضبط قسمت های آلوده در دام های کشتاری و معدوم نکردن صحیح آنها باعث دسترسی گوشتخواران به ضایعات کشتارگاهی شده و باعث ادامه چرخه انگل و در نتیجه افزایش فراوانی آن می شود (۳).

مواد و روش کار

برای بررسی انگل های روده ای از مدفوع ۴۸ سگ خانگی با استفاده از سوآپ مقعدی مستقیماً از رکتوم سگ حدود ۵ گرم نمونه گرفته می شد. همچنین جهت بررسی انگل های روده ای سگ های ولگرد با استفاده از تله سگ گیر تعداد

انگل های روده ای که باعث بیماری و مرگ و میر قابل توجهی در سگ ها می شوند، شامل گونه های نماتودها، سستودها، ترماتودها و تک یاخته ها هستند. بنابراین شناسایی عفونت های انگلی به خصوص عفونت های انگلی روده ای مشترک بین انسان و حیوان از منظر اقتصادی، پزشکی و دامپزشکی و به ویژه زئونوز از اهمیت ویژه ای برخوردار است (۱۲).

در استان لرستان و بخصوص در مناطق کم برخورد دار باتوجه به شرایط خاص اکولوژیکی و آب و هوایی نواحی مختلف استان و فراهم بودن شرایط زیستی، حیوانات، به خصوص سگ و شغال به عنوان مخازن بعضی از بیماری های انگلی محسوب می شوند. لذا شناخت انواع انگل های مناطق مختلف استان به ویژه در حیوانات به عنوان مخازن و میزبانان اصلی این عوامل، و مطالعه طبقه بندی و اپیدمیولوژی آنها در مطالعات انگل شناسی پزشکی، ضروری است. قابلیت انتقال بعضی از انگل های کرمی از گوشت خواران (سگ و شغال) به انسان و دام ها موجب بروز مشکلات عدیده بهداشتی و اقتصادی در جوامع انسانی می گردد که شناخت دقیق این عوامل اولین مرحله در مبارزه با بیماری های انگلی شایع در مناطق مختلف استان است. باتوجه به خصوصیات اکولوژیکی، اقتصادی و اجتماعی شهرستان های مختلف استان لرستان، انتشار عفونت های انگلی در مخازن از جمله گوشت خواران و بیماری های انگلی مانند لاروهای مهاجر احشایی، کیست

۷۳ نمونه مدفوع تازه جمع آوری شد به این صورت که هر سگ جدا گانه در یک تله مقداری غذا خورده و سپس از نمونه مدفوع آن حدود ۲۰ گرم گرفته می شد. نمونه ها همراه با دستکش یکبار مصرف پلاستیکی جمع آوری و به هر نمونه فرمالین ۱۰ درصد اضافه کرده و بصورت مجزا درون ظروف پلاستیکی به آزمایشگاه انگل شناسی بخش خصوصی منتقل گردید. در مشاهده ماکروسکوپی هر نمونه پس از اخذ از لحاظ قوام رنگ و وجود یا عدم وجود خون و از نظر وجود بند بارور سستودها یا هر گونه کرم بررسی می شد. (وجود خون سیاه نشانه کرم قلابدار می تواند باشد).

اسمیر مستقیم برای شناسایی تروفوزوئیت های تک یاخته ای (ژیاردیا، تریکومونادها، آمیب ها و غیره) استفاده می شود. یا سازه های دیگر که به طور ضعیف شناور هستند یا به راحتی توسط محلول های فلوتاسیون تغییر شکل می دهند. چون خیلی کم از مواد مدفوع استفاده می شود، حساسیت این آزمایش کم است. مقدار بسیار کمی از مدفوع حدود ۲ میلی گرم را با یک قطره سرم نمکی فیزیولوژیک بر روی لام میکروسکوپ مخلوط کرده و یک گسترش بسیار نازک از آن تهیه میکنیم. با تهیه گسترش و پس از گذاشتن لامل روی آن، به بررسی میکروسکوپی با عدسی 10x و 40x بمدت حدود ۱۰-۵ دقیقه برای هریک از گسترش ها پرداختیم و نتایج را ثبت نمودیم. تمام نمونه ها قبل از شناورسازی بررسی مستقیم شد. (۴) با استفاده از روش فلوتاسیون ۳ تا ۵ گرم مدفوع را با مقدار کمی محلول فلوتاسیون در یک بوته چینی مخلوط می کنیم. مخلوط مدفوع و محلول فلوتاسیون (یا مدفوع و آب در صورت

شستشو با آب) را صاف می کنیم. از طریق یک یا دو لایه پارچه پنبه یا گاز یا می توان از صافی چای نیز استفاده کرد. مخلوط را در یک لوله سانتریفیوژ ۱۰ میلی لیتری ریخته و درب آن را می بندیم. اگر سانتریفیوژ روتور زاویه دار دارد، لوله را تا حد امکان پر کنید و برای حدود ۵ دقیقه در دور ۲۵۰۰ در سانتریفیوژ قرار می دهیم. اجازه دهید سانتریفیوژ بدون استفاده از ترمز متوقف شود. مایع رویی را دور ریخته و رسوب را در ۱ تا ۲ میلی لیتر سولفات روی به حالت سوسپانسیون درآورده و سپس تا ۳ میلی لیتری لبه لوله را با محلول سولفات روی پر میکنیم. (تکان های خفیف ناشی از استفاده از ترمز ممکن است انگل ها را از لایه سطحی جدا کند). پس از سانتریفیوژ، راه های مختلفی برای برداشت لایه سطحی سیال حاوی تخم انگل وجود دارد. پس از چرخش لوله را از سانتریفیوژ خارج کرده و در قفسه لوله آزمایش قرار دهید. لوله را پر کنید با محلول شناور اضافی و یک لامل روی لوله قرار دهید و قبل از برداشتن پوشش و قرار دادن آن، اجازه دهید ۵ تا ۱۰ دقیقه دیگر بماند. بعد لامل را به آرامی برداشته و روی لام می گذاریم و با میکروسکوپ آن را بررسی می کنیم. اگر سه گرم محلول مدفوع باشد تعداد تخم های شمرده شده تقسیم بر ۳ می شود تا EPG (تعداد تخم در یک گرم مدفوع) به دست آید. (۴)

نتایج

جدول ۲- میزان فراوانی آلودگی انگلی در مدفوع سگ‌های

ولگرد برحسب جنس و سن

متغیر جنس و سن	تعداد نمونه آزمایش شده	تعداد آلودگی انگلی	درصد فراوانی مطلق
نر زیر یکسال	۱۷	۱۴	۱۹/۱۷
نر بالای یکسال	۲۲	۲۱	۲۸/۷۶
ماده زیر یکسال	۱۱	۱۰	۱۳/۶۹
ماده بالای یکسال	۲۳	۲۲	۳۰/۱۳
جمع کل	۷۳	۶۷	۹۱/۷۸

در مطالعه حاضر جمعا ۱۲۱ نمونه مدفوع سگ شامل: ۷۳ نمونه سگ ولگرد (۳۹ نر و ۳۴ ماده) و ۴۸ نمونه سگ های خانگی (۲۷ نر و ۲۱ ماده) شناسنامه دار جمع آوری شد. از مجموع سگ‌های خانگی ۱۰ مورد فاقد هر گونه سابقه مصرف داروهای ضد انگلی و ۳۸ مورد سابقه مصرف داروی ضد انگلی حداقل ۲ ماه قبل از نمونه گیری را داشتند.

جدول ۳- فراوانی آلودگی انگلی بر اساس نوع انگل

مشاهده شده در نمونه های مورد بررسی

نام انگل	تعداد (سگ های خانگی)	درصد فراوانی (سگ های خانگی)	تعداد (سگ های ولگرد)	درصد فراوانی (سگ های ولگرد)
تخم تیاها	۰	۰	۲۰	۸۵/۲۹
تخم توکسوکارا کنیس	۰	۰	۱۱	۴۱/۱۶
تخم دیپیلیدیوم کنینوم	۱	۲/۰۸	۸	۹۴/۱۱
تريشوريس و تنيا	۱	۲/۰۸	۶	۹۵/۸
تنيا و ژيارديا	۰	۰	۳	۴۷/۴
تخم تنيا و توکسوکارا	۰	۰	۷	۴۴/۱۰
تخم تنيا و ديپيليدیوم و ژيارديا	۰	۰	۹	۴۳/۱۳
توکسوکارا و ديپيليدیوم	۰	۰	۳	۴۷/۴

بر اساس نتایج حاصل از این تحقیق بطور کلی تعداد ۶۹ نمونه، شامل ۲ نمونه سگ خانگی و ۶۷ نمونه سگ ولگرد از نظر آلودگی انگلی مثبت بودند (جدول ۱). نتایج حاصل از بررسی صورت گرفته؛ میزان شیوع انگل‌های روده ای در سگ های خانگی ۴۰/۱۶ درصد و در سگ های ولگرد ۹۱/۷۸ درصد گزارش گردید. تحلیل آماری با روش مربع کای با دقت ($P < 0/05$) و سطح اطمینان ۹۵ درصد نشان داد که میزان آلودگی در سگ‌های ولگرد بسیار بیشتر و اختلاف معنا داری با سگ‌های خانگی دارد.

جدول ۱- فراوانی آلودگی انگلی در نمونه مدفوع بر اساس

سگ های خانگی و ولگرد شهرستان نهاوند

نوع سگ	سگ خانگی	سگ ولگرد	مجموع
تعداد نمونه	۴۸	۷۳	۱۲۱
درصد و تعداد آلوده	(۲)۴/۱۶	(۶۷) ۹۱/۷۸	(۶۹)۵۷/۲
درصد و تعداد غیر آلوده	(۴۶)۹۵/۸۳	(۶)۸/۲۱	(۵۲)۴۲/۹۷

جدول ۴- فراوانی آلودگی انگلی بر اساس سن و جنس

سگ‌های ولگرد در نمونه های مورد بررسی

نام انگل	تعداد و درصد فراوانی نسبی در توله زیر یکسال (نر)	تعداد و درصد فراوانی نسبی در توله زیر یکسال (مسن)	تعداد و درصد فراوانی نسبی در سگ مسن (ماده)
تخم تنیها	۲ (۱۰٪)	۸ (۴۰٪)	۷ (۳۵٪)
تخم توکسوکارا کنیس	۳ (۲۷/۲۷٪)	۰	۴ (۳۶/۳۶٪)
تخم دیپیلیدیوم کنینوم	۰	۵ (۶۲/۵٪)	۳ (۳۷/۵٪)
تريشوريس و تنيا	۰	۳ (۵۰٪)	۳ (۵۰٪)
تنيا و ژيارديا	۲ (۶۶/۶۶٪)	۰	۱ (۳۳/۳۳٪)
تخم تنيا و توکسوکارا	۳ (۴۲/۸۵٪)	۰	۲ (۲۸/۵۷٪)
تخم تنيا و دیپیلیدیوم و ژيارديا	۱ (۱۱/۱۱٪)	۵ (۵۵/۵۵٪)	۳ (۳۳/۳۳٪)
توکسوکارا و دیپیلیدیوم	۳ (۱۰۰٪)	۰	۰

بحث و نتیجه گیری

مطالعه حاضر نشان می‌دهد درصد بالایی از سگ‌های ولگرد شهر دورود به انگل‌های روده‌ای مشترک بین انسان و حیوان آلوده هستند و آلودگی به کرم‌های انگلی در مقایسه با انگل‌های تک یاخته ای شیوع بسیار بالاتری را نشان می‌دهد. بیشترین فراوانی انگلی متعلق به تخم تنیها بود. همینطور آلودگی کرمی در سگ‌های ولگرد نسبت به سگ‌های خانگی تفاوت فاحشی را نشان داد که این نشانه زنگ خطری برای آلودگی انسان به این انگل‌های مشترک خصوصا کیست هیداتیک که لارو اکینوکوکوس است می باشد.

مطالعه حاضر نشان داد که ۹۱/۷۸ درصد سگ‌های ولگرد؛ و ۴/۱۶ درصد سگ‌های خانگی در شهرستان دورود با انگل‌های زئونوز آلوده هستند که بیانگر اهمیت مقابله با آن‌ها برای سلامت جامعه را نشان می‌دهد. که علاوه بر مطالعه حاضر شیوع آلودگی انگلی سگ‌های ولگرد در سایر مناطق کشور از جمله: همدان ۷۱/۸ درصد، گرمسار ۸۰ درصد، خراسان رضوی ۸۴ درصد، ایلام ۸۳ درصد، تبریز ۸۵ درصد، اصفهان ۶۴/۷ درصد، یاسوج ۹۲ درصد گزارش گردیده است که بیانگر بالا بودن شیوع انگل‌های روده ای در سگ‌های ولگرد در مناطق مختلف ایران می باشد. (7).

و همچنین میزان آلودگی سگ های خانگی تهران به توکسوکارا ۲/۱ درصد گزارش شده. میزان بالای شیوع این انگل و به تبع آن تعداد زیاد تخم اش در خاک (تا ۲۰۰۰۰۰ عدد روزانه) و گرد و غبار ناشی از رفت و آمد این سگ ها، خطر زیاد برای انسان به ویژه کودکان در محیط ایجاد می کن، لذا در اکثر مناطق درایران باید اقدامات کنترل این آلودگی را انجام داد(۸).

در این پروژه میزان شیوع توکسوکارا نسبتا قابل توجه بود (بیش از ۳۱ درصد) و این خطر بیماری های لارو مهاجر احشایی و چشمی را برای جامعه انسانی خصوصا کودکان در مناطق شهری و روستایی شهرستان دورود بالا می برد. در مطالعه حاضر آلودگی به ژيارديا در سگ‌های ولگرد نیز مشاهده گردید که با عنایت به زئونوز بودن این تک یاخته و انتشار کیست های آن در محیط نیز قابل توجه می‌باشد.

دورود و حومه آن نسبت به سگ‌های خانگی بسیار بالاتر است که علت آن این است در سگ‌های خانگی در شرایط بهداشتی مناسبی نگهداری می شوند.

دیپیلیدیوم کنینوم به ندرت باعث عفونت در انسان می شود اما جزو زئونوزها دسته بندی شده است و این انگل با شیوع ۴۸/۳۴ درصد در سگ‌های ولگرد و ۳۲/۲ درصد در سگ‌های خانگی شیوع بالایی را نشان داد.

در مطالعه ای که توسط Satya و همکاران در نپال انجام شد آلودگی سگ‌های ولگرد با دیپیلیدیوم کنینوم ۹/۲ درصد، در مطالعه ی سگ‌های ولگرد چیتاگون بنگلادش توسط Das و همکاران شیوع این انگل ۱۵ درصد، در مطالعه انجام شده در گرمسار توسط اسلامی و همکاران شیوع این انگل ۴ درصد، در مطالعه عبیدی و همکاران در ایلام شیوع این انگل در سگ‌های ولگرد ۱۸/۵ درصد، در مطالعه قره داغی و همکاران در تبریز ۱۷/۵ درصد و در مطالعه امام پور و همکاران در مشهد شیوع دیپیلیدیوم کنینوم ۳۸ درصد گزارش گردید (۹،۱۰،۱۱).

نتیجه گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که میزان شیوع انگل‌های روده ای در سگ‌های خانگی (۴.۱۶ درصد) و در سگ‌های ولگرد (۹۱.۷۸ درصد)؛ اختلاف معنا داری دارد ($P < 0.05$). تحلیل آماری نشان داد که میزان آلودگی به تخم تنیا در ۴۵ نمونه سگ ولگرد با میزان فراوانی نسبی ۶۷/۱۶ درصد بیشترین نوع انگل است که اختلاف معنا داری با بقیه انگل‌ها دارد و بعد از آن به ترتیب توکسوکارا کنیس، دیپیلیدیوم، ژیا ردیا و تریشیوریس، ۳۱/۳۴، ۲۹/۸۵، ۱۶/۴۱ و ۸/۹۵ درصد فراوانی کمتر را نشان می دهند ($P < 0.05$). شیوع انگل های کرمی بخصوص انگل‌های زئونوز در سگ‌های ولگرد

منابع

- 1- Islami, Ali. (1377). Veterinary Entomology, second volume (Sestadah), Tehran University Publications, 118-156
- 2- Zoghi, A. (1368). Zoonoses. Translation. Jihad Academic Publications, Tehran, 722-822
- 3- Meimandi Nejad, M. H. (1344). Epidemiology of hydatid cyst in the world and Iran, Tehran University Press
- 4- Zajac , A. M. , Conboy,G. A. (2012). Veterinary Clinica parasitology,8edith, John Wiley,USA,pp:4-20
- 5- Tavakoli, H. R. , Bahonar, A. , Joneydi, N. (2008). Epidemiology of hydatidosis during2002-2006. Iran J infec dis , 13(42):67-71.
- 6-Eslami, A. (1997). Worms of Veterinary Medicine: Nematode and Acanthocephala, Institute of Tehran University Publications and Printing, 307-356, 394-415, 830-8403.
- 7- Eslami A, Ranjbar-Bahadori Sh,Meshgi B, Dehghan M, Bokaie S. "Helminth infections of stray dogs from Garmsar, Semnan province, Central Iran. " Iran J Parasitol. 2010;5(4): 37-41
- 8-Mirzayans, A. , Eslami, A. , Anwar, M. , Sanjar, M. 1972. Gastrointestinal parasites of dogs in Iran. Tropical Animal Health and Production. 4, 58-60.
- 9- Abdi, J. , Asadolahi, K. , Maleki, M. H. , Ashrafi Hafez ,A. ,(2013). "Prevalence of helminthes infection of stray dogs in Ilam province. " JPS , 4(2):47-50.
- 10-Das S, Gupta A, Alim A, Sikder S, Masduzzaman M. Prevalence and Worm Load of Enteric Helminthiasis in Stray Dogs of Chittagong Metropolitan, Bangladesh. YYU Vet Fak Derg. 2012;23(3):141 - 145
- 11-Garedaghi Y, Shabestari Asl A, Ahmadi S. Prevalence of Gastrointestinal Helminthes in Stray Dogs of Tabriz City, Iran. Greener Journal of Biological Sciences. 2014;4(5): 135-138
- 12- Dora Romero-Salas , Mariel Aguilar-Domínguez , Anabel Cruz-Romero , Nelly Ibarra-Priego , Adalberto Ángel Pérez-de-León” Epidemiological assessment of intestinal parasitic infections in dogs at animal shelter in Veracruz, Mexico” 2015

Prevalence of intestinal worms in dogs using the EPG method

Behnam Pedram^{1*}, Leila Derakhshan², Ali Almasiyan³, Aida Sharifiyan⁴, Zahra Sadeghian⁴

1-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, , Islamic Azad University, Shushtar,Iran

2- Department of Parasitology, Faculty of Veterinary medicine, , Islamic Azad University, Shushtar,Iran

3- Graduate of Doctor of Veterinary Medicine, Shushtar Islamic Azad University, Shushtar, Iran.

4- Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shushtar Azad University, Shushtar Iran

*Corresponding author: B1pedram@gmail.com

Abstract

In Lorestan Province, particularly in underprivileged areas, intestinal parasitic infections are of considerable public health importance. The present study was conducted to determine the prevalence of intestinal helminths in both stray and domestic dogs in Dorud County. From May to August 2022, a total of 48 fecal samples were collected from domestic dogs presented to veterinary clinics in the county, accompanied by owner-completed questionnaires. Additionally, with the cooperation of the municipal authorities and by employing trapping methods, fresh fecal samples were obtained from 73 stray dogs. All collected data were analyzed using SPSS software. The Chi-square (χ^2) statistical test was applied to assess the association between categorical variables, with a confidence level of 95% and a significance threshold set at $p \leq 0.05$. The findings revealed a statistically significant difference in the prevalence of intestinal parasites between domestic dogs (16.4%) and stray dogs (78.91%) ($P < 0.05$). Among the helminths identified, *Taenia* spp. exhibited the highest relative frequency (67.16%) in 45 samples from stray dogs, showing a significant difference compared to other parasites ($P < 0.05$). Other parasites detected included *Toxocara canis* (31.34%), *Dipylidium caninum* (29.85%), *Giardia* spp. (16.41%), and *Trichuris* spp. (8.95%), each presenting with lower prevalence rates. The markedly higher prevalence of helminthic, especially zoonotic, infections among stray dogs in Dorud and its surrounding areas compared to domestic dogs is likely attributable to the improved hygienic conditions under which domestic dogs are typically kept.

Keywords: Parasitic Infection, Stray Dogs , Domestic Dog

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

مقایسه ی تأثیرات درمانی نانواسانس کندر با کرم تربینافین ۱٪ در درمان درماتوفیتوز تجربی خوکچه های هندی

ناشی از میکروسپوروم کنیس

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، بهادربردشیری^۱، شادی لوینه نسب^۲، آیدا شریفیان^۳، شقایق قناد^۳

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده کشاورزی و دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۲- دانش آموخته دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحدشوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

۳- دانشجوی دکتری حرفه ای دامپزشکی، واحدشوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، خوزستان، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

امروزه به دلیل خواص ضد میکروبی، آنتی اکسیدانی و عوارض کمتر، اسانس های گیاهی کاربرد گسترده ای یافته اند. فناوری نانو با تبدیل این ترکیبات با ریزذرات، ویژگی های جدیدی به آنها می بخشد. در این مطالعه اثر بخشی نانواسانس گیاه کندر و کرم تربینافین ۱٪ در درمان درماتوفیتوز تجربی ناشی از میکروسپوروم کنیس در خوکچه هندی با روش های *In vivo* و *In vitro* ارزیابی شد. برای یافتن حداقل غلظت مهارکنندگی (MIC) از روش Broth Microdilution مطابق با پروتکل (CLSI) M38-A استفاده گردید و مقدار MIC نانواسانس کندر برابر ۲۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر به دست آمد. در این مطالعه ۱۸ خوکچه هندی به شکل تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی تقسیم شدن و درمان از روز پنجم پس از آلودگی، هر ۱۲ ساعت یک بار تا ۴۰ روز ادامه یافت. سپس داده ها توسط آزمون Kruskal- Wallis Test و نرم افزار SPSS آنالیز شدند. تحلیل های آماری نشان داد که بین گروه های درمانی تربینافین و کنترل منفی در طول دوره درمان اختلاف معنا داری وجود داشت. در گروه نانواسانس، میزان آلودگی اولیه بالاتر از گروه تربینافین بود. مقایسه نانواسانس با کنترل منفی نیز به جز در روز ۴۰، اختلاف معنادار آماری را نشان داد ($p < 0.05$). همچنین بین گروه های نانواسانس و تربینافین در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلودگی تفاوت آماری قابل توجهی مشاهده شد. ($p < 0.05$). این نتایج موید اثر بخشی نانواسانس گیاه «کندر» در درمان درماتوفیتوز تجربی ناشی از میکروسپوروم کنیس بوده و حاکی از برتری آن نسبت به درمان موضعی با تربینافین است.

واژگان کلیدی: نانواسانس، کندر، تربینافین، درماتوفیتوز، میکروسپوروم کنیس

مقدمه

تشکیل می‌دهد. بیش از ۸۵ هزار گونه گیاهی به‌عنوان داروی تأییدشده وجود دارد و ۶۵ درصد از جمعیت جهان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، به دلیل ایمنی و بی‌خطر بودن، از این محصولات استفاده می‌کنند (ناودیبانسال و همکاران ۲۰۱۳).

کندر یک صمغ رزین طبیعی است که از درخت‌های جنس بوسولیا از خانواده بورسراسه به دست می‌آید. ترکیب‌های اصلی آن شامل روغن‌های فرار، صمغ و رزین می‌باشد. محتوای این ترکیب‌ها به گونه، فصل و زمان جمع‌آوری محصول بستگی دارد (جلیلی و همکاران، ۲۰۱۴). بوسولیک اسیدها ۳۰ درصد بخش اسیدی صمغ رزینی کندر را تشکیل می‌دهند و قسمت عمده اثرهای درمانی ثابت شده کندر به آنها نسبت داده می‌شود (فیکسن و همکاران، ۲۰۰۵). پوست درخت کندر و رزین مترشحه از آن دارای کاربردهای پزشکی می‌باشد و برای آسم، اسهال خونی، بواسیر، زخم معده و بیماری‌های پوستی مفید می‌باشند. همچنین دارای فعالیت‌های ضدالتهابی، ضد درد مفاصل، خلط‌آور، ادرارآور، معرق، اشتها آور، ضدآرتروز و دارای خواص ضدسرطانی می‌باشند (سدیکوی، ۲۰۱۱).

یکی دیگر از داروهای مورد استفاده در درمان درماتوفیتوز، تربینافین داروی ضدقارچ از مشتقات صنعتی آل‌آمین‌ها می‌باشد. در مطالعات بسیاری اثربخشی تربینافین خوراکی و موضعی بر روی عفونت‌های قارچی تأیید شده است. از جمله در مطالعه بودی مولجا و همکاران (۲۰۰۱) مشخص گردید که تربینافین موضعی ۱٪ در درمان کچلی بدن و

امروزه نگهداری از سگ‌ها و گربه‌ها در بسیاری از کشورها از جمله ایران، رایج است. تنوع نژادی و اهداف مختلف نگهداری این حیوانات، موجب تعامل نزدیک آن‌ها با انسان شده است. در نتیجه، افراد در تماس با این حیوانات در معرض ابتلا به بیماری‌های مشترک میان انسان و حیوان قرار دارند (کونین و همکاران، ۱۹۹۴).

درماتوفیتوز یک بیماری قارچی پوست و مو با اهمیت زئونوتیک بالا است که حیوانات، به‌ویژه سگ و گربه، منبع اصلی آلودگی به رینگ ورم محسوب می‌شوند. این بیماری ظاهری ناخوشایند در مبتلایان ایجاد کرده و علائم بالینی آن ناشی از فرآورده‌های متابولیکی قارچ یا واکنش سیستم ایمنی بدن است. عامل بیماری، قارچ میکروسپوروم کنیس، انتشار جهانی داشته و عمدتاً سگ، گربه و انسان را درگیر می‌کند. این قارچ بسیار مسری بوده و به‌راحتی بین حیوانات و انسان منتقل می‌شود (مولر و همکاران، ۱۳۷۶ - شادزی، ۱۳۹۳ - ریبرگ، ۱۹۹۹).

درمان درماتوفیتوز شامل کنترل عوامل مستعدکننده و بیماری‌های زمینه‌ای، همراه با استفاده از داروهای موضعی، سیستمیک یا ترکیبی است. برای اثربخشی بیشتر، کوتاه کردن موهای ناحیه آلوده یا حتی کل بدن توصیه می‌شود (چرمت و همکاران، ۲۰۰۸؛ مانشیانتي و همکاران، ۱۹۹۸؛ بیرچارد و شیدینگ، ۲۰۰۶).

درمان با محصولات طبیعی و گیاهان دارویی نیز سابقه‌ای طولانی دارد و همچنان بخش مهمی از طب سنتی را

کشاله ران به طور قابل توجهی مؤثر است. در مطالعه دیگر نیز اثربخشی تربینافین موضعی در درمانیت سبورئیک بررسی شد و بهبودی ۶۱ درصد بعد از ۴ هفته گزارش گردید (فایرگمن و همکاران، ۱۹۹۶). همچنین در مطالعه چوپرا و جین (۲۰۰۰) اثر تربینافین موضعی ۱٪ در تینه آ ورسیکالر بررسی شد. بهبود بالینی در گروه درمانی ۱۰۰ درصد بود و نتایج نهایی در انتهای درمان، بهبود قارچی و بالینی را ۹۶ درصد در گروه تربینافین نشان داد. لذا با توجه به شیوع بالای عفونت های درماتوفیتی در دهه های اخیر و هزینه هایی که دولت ها در سطح کلان برای درمان این عفونت ها باید پرداخت کنند، در پژوهش حاضر مقایسه‌ی تأثیرات درمانی نانو اسانس گیاه کندر با کرم تربینافین ۱٪ در درمان خوکچه های هندی مبتلا به درماتوفیتوز تجربی ناشی از میکروسپوروم کنیس مورد بررسی قرار میگیرد.

مواد و روش تحقیق:

پژوهش حاضر با توجه به هدف آن یک تحقیق کاربردی و بر حسب ابزار و نحوه گردآوری داده ها، یک تحقیق کمی آزمایشگاهی می باشد.

در این تحقیق برای گردآوری اطلاعات مربوط به ادبیات موضوع و پیشینه پژوهش از روش کتابخانه ای و جهت جمع آوری اطلاعات برای تأیید یا رد فرضیه های پژوهش از روش میدانی استفاده شد .

اطلاعات مورد نیاز در این پژوهش از طریق به کارگیری ابزارهایی چون مشاهده، مواد و تجهیزات آزمایشگاهی جمع آوری شد .

مواد آزمایشگاهی؛ اسانس کندر و روش های استخراج آن : تقطیر، SDE ، فشار و تیغ زدن ، استفاده از حلال ها ، تقطیر تجزیه ای ، استخراج اسانس های فرار به وسیله آنزیم های هیدرولیزکننده و استخراج اسانس با سیال فوق بحرانی .

تقطیر با آب : در روش تقطیر با آب نمونه خشک شده ی گیاه یا بذر ، برای افزایش سطح تماس با آب مقطر ، پیش از فرایند استخراج آسیاب می شود . سپس ، پودر حاصل در بالون ژوژه قرار گرفته و با آب مقطر تا دو سوم حجم آن پر می گردد تا از تاثیر ناخالصی ها بر اسانس جلوگیری شود. مجموعه ی تقطیر شامل بالون ژوژه، کلونجر، و مبرد بوده که برای افزایش کارایی، مبرد دو جداره با طراحی منحنی دار جهت تسریع در خنک سازی بخار آب تعبیه شده است. لوله ی کلونجر برای جلوگیری از هدر رفت حرارتی عایق بندی می شود و مسیر جریان آب خنک کننده در مبرد نیز تنظیم می گردد. فشار داخلی سیستم با یک لوله ی کوتاه تنظیم می شود .

در آغاز فرآیند، منبع حرارتی روشن شده و زمان های جوشیدن و خروج اولین قطره ی اسانس ثبت می گردد . اسانس معمولاً به دلیل چگالی کمتر، روی آب قرار می گیرد و در طی چهار ساعت تقطیر، بیشترین میزان آن در ساعت اول جمع آوری می شود. پس از پایان کار، اسانس

در ظرف مخصوص توزین شده و میزان آن با تفریق وزن ظرف خالی محاسبه می‌شود. برای حذف آب همراه اسانس، از سولفات سدیم استفاده شده که با جذب رطوبت به پودر سفیدرنگی در ته ظرف تبدیل می‌شود. در نهایت، بازده استخراج اسانس از نسبت وزن اسانس به وزن ماده‌ی خشک‌شده‌ی گیاه تعیین و اسانس در بطری‌های تیره در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شود.

نانو ذرات و دارورسانی از طریق پوست : فناوری نانو در بهبود انتقال داروهای کم‌محلول و افزایش دسترسی زیستی آن‌ها نقش مهمی دارد. یکی از روش‌های مؤثر در این زمینه، استفاده از نانوذرات در دارورسانی پوستی است که به نفوذ ترکیبات به لایه‌های عمیق‌تر کمک می‌کند. مطالعات نشان داده‌اند که ترکیباتی مانند بوسولیک اسیدها جذب روده‌ای پایینی دارند، اما فناوری نانو باعث بهبود انتقال آن‌ها شده است.

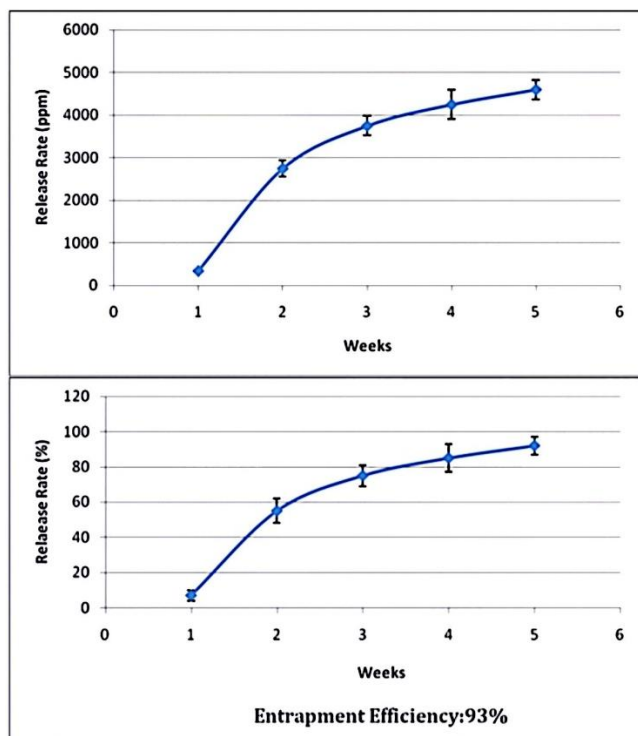
پوست به‌عنوان یک مسیر غیرتهاجمی، امکان استفاده موضعی از داروها را فراهم کرده و مزایایی مانند کاهش عوارض جانبی، ماندگاری طولانی‌تر دارو و کاهش دفعات مصرف دارد. با این حال، نفوذپذیری محدود پوست چالشی اساسی است که با استفاده از روش‌های مختلف، از جمله نانوذرات لیپیدی و پلیمری همراه با سورفاکتانت‌ها، بهینه‌سازی شده است. بعضی از این روش‌های مختلف شامل؛ فیزیکی، شیمیایی و سیستم‌های داروسازی نوین هستند.

کیتوسان: توسعه داروهای جدید فرآیندی پیچیده، زمان‌بر و پرهزینه است که اغلب با چالش‌هایی مانند تخریب دارو در بافت‌های طبیعی و بروز عوارض جانبی همراه است. برای رفع این مشکلات، سیستم‌های دارورسانی هدفمند توسعه یافته‌اند که دارو را مستقیماً به ناحیه موردنظر منتقل می‌کنند. این سیستم‌ها شامل عامل درمانی، جزء هدف‌دار و سیستم حامل هستند.

یکی از حامل‌های مهم در دارورسانی، کیتوسان است؛ یک پلیمر طبیعی مشتق‌شده از کیتین که در منابعی مانند میگو و قارچ یافت می‌شود. کیتوسان به دلیل انحلال‌پذیری مناسب و قابلیت اصلاح شیمیایی، در بهبود سیستم‌های دارورسانی نقش مهمی دارد. مشتقات مختلف آن، مانند کیتوسان گوگرددار، چسبندگی مخاطی و توانایی کپسوله‌سازی دارو را افزایش می‌دهند. در دهه‌های اخیر، تکنیک‌های مختلفی برای تولید نانوذرات کیتوسان جهت ارتقای اثربخشی دارورسانی توسعه یافته‌اند. امروزه چهار روش اصلی برای تولید کیتوسان وجود دارد: ۱. ژلاتیناسیون اینوتروپیک ۲. میکروامولسیون ۳. انتشار حلال امولسیون ۴. کمپلکس پلی الکترولیت.

تعیین MIC: آنتی‌بیوتیک‌ها ترکیباتی هستند که در دوزهای پایین باعث توقف رشد یا از بین بردن باکتری‌ها می‌شوند، اما بر ویروس‌ها و سایر میکروارگانیسم‌ها تأثیری ندارند. برای تعیین اثربخشی آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی میکروب‌های خاص، از تست آنتی‌بیوگرام استفاده می‌شود که به‌طور روتین در آزمایشگاه‌های میکروبیولوژی انجام می‌گیرد.

کربناته نگهداری شدند. اسانس آماده شده از کارخانه باریج اسانس کاشان، خریداری و برای تولید نانو دارو از همکاری شرکت زیست شیمی آزما رشد بهره گرفته شد. بعد از آماده سازی نانو دارو، عملیات FTIR، SEM و میزان رهایش نانواسانس در سطح In Vitro با استفاده از UV بر روی آن انجام و بدین ترتیب تولید دارو از اسانس مورد تأیید قرار گرفت. کرم تربینافین ۱٪ استفاده شده در تحقیق نیز از شرکت تهران شیمی می باشد .



نمودار ۱- میزان رهاکنش نانواسانس کندر در In vitro

در این مطالعه MIC (حداقل غلظت مهاری) برای نانواسانس گیاه کندر با استفاده از روش Broth Microdilution و بر اساس پروتکل CLSI M38-A تعیین شد. آزمایش در محیط کشت RPMI 1640 با pH تنظیم شده و فاقد بی کربنات سدیم انجام گردید

این تست بر اساس دو شاخص انجام می شود:

MIC (حداقل غلظت مهاری) : کمترین مقدار

آنتی بیوتیک که قادر به متوقف کردن رشد باکتری است.

MBC (حداقل غلظت کشنده) : کمترین مقدار

آنتی بیوتیک که می تواند باکتری را از بین ببرد.

برای انجام تست آنتی بیوگرام، از محیط کشت RPMI

1640 استفاده می شود که با تنظیم pH و فیلتراسیون

استریل شده و در دمای ۴ درجه سانتی گراد تا یک ماه

قابل نگهداری است.

روش و ابزار تجزیه و تحلیل اطلاعات: داده ها به روش مشاهده ای فعال جمع آوری و در پرسشنامه ثبت گردید. پس از وارد کردن داده ها به نرم افزار آماری SPSS ابتدا اثر بخشی هریک از داروها با تعیین نسبت بهبودی در هر گروه تیماری به دست آمد و سپس بر اساس آزمون مربع کای و مقایسه بین گروه ها توسط آزمون student-T و در صورت نیاز با استفاده از آزمون دقیق فیشر اقدام به تجزیه و تحلیل داده ها شد و مقایسه نتایج بهبودی در گروه های تیماری در سطح معنی داری ($P > 0.05$) انجام گرفت.

روش اجرای تحقیق: در این مطالعه تعداد ۱۸ عدد خوکچه هندی نر با طیف وزنی یکسان (۳۵۰ تا ۴۵۰ گرم) به مدت یک هفته برای آدپتاسیون در شرایط اوپتیمم (۱۲ ساعت تاریکی در رطوبت $50 \pm 3\%$ و درجه حرارت $24 \pm 1^\circ C$) و با جیره پایه، تغذیه و نگهداری شدند. سپس به شکل تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی شامل یک گروه درمان با کرم تربینافین ۱٪، یک گروه تیمار با نانواسانس گیاه کندر و یک گروه کنترل منفی تقسیم و تا پایان مطالعه در قفس های پلی

مراحل آزمایش:

- تهیه سوسپانسیون قارچی از ایزوله استاندارد PTCC 5054 و ۴ ایزوله بیمارستانی.
 - کشت قارچ میکروسپوروم کنیس در محیط Potato Dextrose Agar در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ روز.
 - تنظیم غلظت قارچی برای انکوباسیون در حضور رقت‌های مختلف نانواسانس.
 - انکوباسیون محلول نهایی به مدت یک هفته در ۲۸ درجه سانتی‌گراد و بررسی رشد قارچ‌ها.
 - تعیین MIC که برابر 210 µg/ml ارزیابی شد.
- در بخش آزمایش روی حیوانات، محل تست در پشت بدن حیوانات تراشیده و خراش سطحی ایجاد شد. سپس، قارچ با غلظت 10^6 اسپور در هر میلی‌لیتر در ناحیه قرار گرفت و با وازلین R به مدت ۲۴ ساعت پانسمان شد.
- مراحل درمان و ارزیابی:

- آغاز درمان: روز پنجم پس از مشاهده اولین علائم بیماری.

- نمونه‌برداری قارچی: در روز پنجم، تمام گروه‌ها (به جز گروه کنترل منفی) از نظر قارچ‌شناسی مثبت بودند.

روش درمان:

نانواسانس هر ۱۲ ساعت روی ناحیه آلوده و حاشیه سالم اطراف اسپری شد.

در گروه کنترل منفی، سالین (placebo) استفاده شد. کرم تربینافین ۱٪ روی ضایعه و ۲ سانتی‌متر حاشیه آن اعمال شد.

ارزیابی اثربخشی درمان:

کشت قارچی در مراحل پایانی برای تأیید درمان انجام شد.

تصویربرداری هفتگی برای بررسی روند بهبود و درجه‌بندی ضایعات با Clinical Lesion Scoring System طبق معیار زیر:

۰: بهبودی کامل، رشد کامل موها.

۱: پوست سالم، رشد نصفه‌ی موها، بدون شوره.

۲: رشد کم مو، کمی شوره.

۳: بدون قرمزی، مقداری شوره، رشد جزئی مو، نواحی کم‌موی کوچک.

۴: کمی قرمزی، بدون مو، شوره‌دار.

۵: ضایعات شدید، قرمزی، پوسته‌ریزی، زخم، بدون رشد مو.

تحلیل آماری:

آزمون آماری Kruskal-Wallis Test:

نرم‌افزار تحلیل SPSS: این نتایج کمک می‌کند تا تأثیر نانواسانس‌کننده در مقایسه با سایر روش‌های درمانی ارزیابی شود.

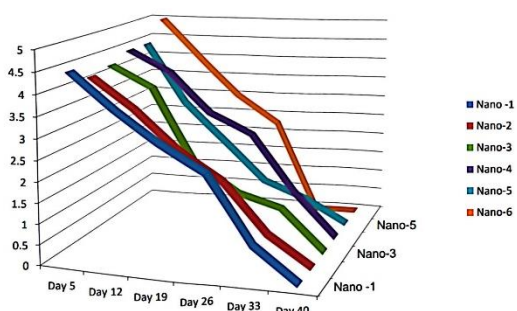
نتایج:

بررسی‌های مرفولوژیک که هر ۷ روز به وسیله تصویربرداری انجام گرفته است، این تغییرات را به خوبی نشان می‌دهند. در طول مدت درمان با تربینافین، ۱٪ غلظت نانواسانس‌کننده بهبودی قابل ملاحظه‌ای اتفاق افتاد.

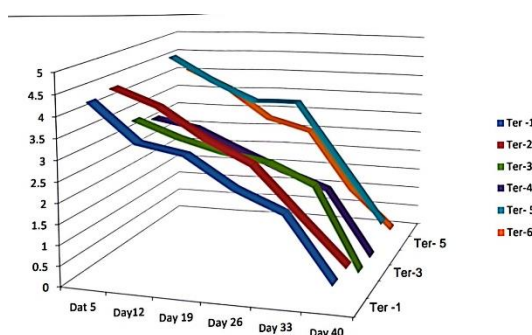
جدول ۱ - مقایسه میانگین درجه ضایعه بالینی در طول

مدت درمان

روز	گروه	تربینافین	نانواسانس ۲	کنترل منفی
۵	۴	۴/۵	۰	
۱۲	۳/۵	۳/۶۶	۰	
۱۹	۳	۲/۶	۰	
۲۶	۲/۶۲	۱/۹	۰	
۳۳	۱/۷	۰/۷	۰	
۴۰	۰/۷	۰	۰	



نمودار ۲- میزان درجه ضایعه بالینی گروه نانو اسانس



نمودار ۳- میزان درجه ضایعه بالینی در گروه تربینافین

ارزیابی نمونه برداری قارچی در روزهای ۳۳، ۴۰ و ۵۰ پس از آلوده سازی انجام شد که نشان دهنده وجود درماتوفیت در گروه های مختلف است. در روز ۳۳ نتایج منفی ارزیابی

مقایسه بین گروه های مختلف، هم به صورت متوسط SCORE و هم به صورت مجزا انجام گرفت. ضمن اینکه نمونه برداری قارچی هم بر تغییرات محسوس SCORE تأکید و بهبود را تأیید کرده است. بر اساس روش مطالعه، آغاز درمان دارویی روز پنجم بعد از عفونت میباشد. همچنین میانگین درجات ضایعه در روز آغازین در تمامی گروه ها به جز گروه کنترل منفی، تقریباً یکسان بوده است. روند منطقی کاهش میانگین درجه ضایعات در گروه های درمانی، طی مدت درمان ادامه یافت. میانگین درجات ضایعه در روز چهارم در گروه نانو و کنترل منفی، عدد صفر و گروه تربینافین به ترتیب گروه ۰/۷۰ ارزیابی شد.

در ارزیابی آماری بین گروه های درمانی تربینافین و کنترل منفی، وجود اختلاف آماری معنی دار در کل مدت درمان تأیید شد. بررسی آماری اعداد در گروه نانو اسانس نشان دهنده عدد ۴/۵ در هنگام آغاز مطالعه بود که بیشتر از میانگین گروه تربینافین در زمان مشابه است. بررسی های آماری بین گروه نانو و کنترل منفی، اختلاف آماری معنی داری را در همه روزها به جز روز ۴۰ نشان دادند ($p < 0.05$). در ادامه آنالیز بین گروه های نانو اسانس و تربینافین نتایج حاکی از وجود اختلاف آماری معنا دار در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ پس از آلوده سازی بود ($p < 0.05$).

کشت قارچی در گروه های کنترل منفی و نانواسانس مشاهده شد. البته در زمان مشابه، دو نمونه از گروه های درمانی تربینافین از نظر مایکولوژیک مثبت بودند. بدیهی است که قطع درمان زمانی انجام گرفت که حداقل دو کشت قارچ متوالی در کلیه حیوانات موجود در گروه های درمانی منفی شد.

جدول : نتایج کشت قارچ در گروه های مختلف مورد مطالعه در سه دوره متوالی

روز گروه	۳۳	۴۰	۵۰
کنترل منفی	۰ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶
نانو اسانس ۲	۰ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶
تربینافین	۲ از ۶	۰ از ۶	۰ از ۶

بحث و نتیجه گیری

تا کنون داروهای مختلفی برای درمان درماتوفیتوز آزموده شده اند. از بین داروهای عمومی و موضعی آزموده شده، داروهای موضعی به علت جلوگیری از آلوده شدن محیط، اهمیت ویژه ای دارند و اساس درمان این بیماری به شمار میروند. داروی تربینافین نیز یکی از این داروها است که هم به صورت موضعی و هم به شکل قرص موجود است. اثرات این دارو علیه انواع عوامل درماتوفیتوز تایید شده است (میلر و همکاران، ۲۰۱۲). همچنین گیاهان دارویی مختلفی برای بررسی اثر درمانی بر درماتوفیتوز مورد مطالعه قرار گرفته اند که یکی از آنها گیاه کندر است که در ایران

به وفور یافت میشود و بیشتر اثرات ضد قارچی آن به اثبات رسیده است. محمدی و همکاران در سال ۱۳۸۵ فعالیت ضد قارچی اسانس کندر (*serrata Boswelli*) بر علیه ایزوله های بالینی مقاوم و حساس کاندیدا آلبیکنس به فلوکونازول را بررسی کردند که نتیجه آن با توجه به این که اسانس کندر بر روی همه ایزوله های به کار رفته در این تحقیق اثر مهاری داشته، میتوان آن را اسانسی مؤثر بر روی قارچ کاندیدا آلبیکنس در شرایط آزمایشگاهی معرفی و بررسی های بالینی اثرات ضد قارچی آن را توصیه نمود. تا کنون هیچگونه مطالعه مدونی برای بررسی نحوه تأثیر نانواسانس کندر بر روی مدل حیوانی انجام نگرفته است. لذا تحقیق حاضر برای مقایسه اثرات نانواسانس گیاه کندر با کرم تربینافین ۱٪ بر روی خوکچه هندی انجام گرفته است. در مرحله اول، با روش *In vitro*، متوسط غلظت مهارکننده یا MIC دارو مشخص گردید که در این مطالعه مقدار MIC به دست آمده نانواسانس کندر ۲۱۰ میکروگرم بر میلی لیتر بود.

سپس همان طوری که در مطالعات قبلی انجام شده است (شیمامورا و همکاران، ۲۰۱۲)، مدل *In vivo*، ایجاد گردید. ۵ روز پس از آلودگی علائم بیماری ظاهر و درمان آغاز شد و تا روز ۴۰ ادامه یافت. روند کاهشی تغییرات *average score lesion Clinical*، به طور منطقی در تمامی گروه درمانی رخ داده است. اما در مورد گروه نانواسانس به ویژه بین روزهای ۱۲ تا ۳۳ در محدوده *Score*، روند کاهشی کمتری نسبت به گروه درمانی با تربینافین مشاهده شد. به طوری که اختلاف میانگین در

گروه نانواسانس (غلظت MIC) در روزهای ۱۲ تا ۳۳ عدد ۶۸/۵ درصد را نشان داد، اما در گروه درمانی تربینافین معادل ۴۹/۲ درصد بود. به علاوه، پس از روز ۱۲ میزان کاهش Score در گروه نانواسانس شیب تندی گرفت و تا روز ۴۰ تفاوت محسوسی با گروه درمانی تربینافین داشت که بر اساس تحلیل آماری، گروه نانواسانس و گروه درمانی تربینافین در روزهای ۱۹، ۲۶، ۳۳ و ۴۰ واجد اختلاف آماری معنی دار بودند ($p < 0.05$).

به نظر میرسد که اختلاف کم بین میانگین Score در گروه نانواسانس و تربینافین تا روز ۱۲ پس از آلوده سازی، حاصل نزدیکی مقادیر Score آنها در نقطه آغازین است. اما آن چه که موجب برتری گروه درمانی نانواسانس نسبت به گروه درمانی تربینافین شده است، روند بهبودی پس از روز ۱۲ میباشد. زیرا میانگین Score پس از روز ۱۲ در گروه نانواسانس کاهش چشمگیری دارد و تا روز ۴۰ پس از آلوده سازی متوسط Score کمتر از گروه درمانی تربینافین بوده است. بنابراین میتوان بر نتایج حاصل در این تحقیق تأکید داشت و در نتیجه عنوان کرد که اثر درمانی داروی نانواسانس کندر نه تنها با کرم تربیتافین برابری میکند، بلکه در مواردی (که بحث شد) بهتر از آن نیز عمل مینماید. با توجه به این که داروی مذکور عارضه جانبی ندارد و کاربرد و تهیه آن نیز آسان و بسیار مقرون به صرفه است، به راحتی میتوان آن را در درمان بیماری درماتوفیتوز به کار برد. آشکار است که استفاده از نانو اسانس گیاه کندر برای درمان این نوع بیماری در انسان، نیازمند تکمیل تحقیقات بر روی مدل های حیوانی است.

امروزه پیشرفت های چشمگیری در زمینه یافتن روش های درمانی و داروهای ارزان تر و مطمئن تر انجام میگردد. به علاوه، به روز شدن این روش ها سبب افزایش تأثیر و سرعت بهبودی و متعاقباً رضایت دامپزشک و صاحب دام، کاهش هزینه های تولید دارو و خودکفایی در صنعت تولید دارو شده است.

نتیجه نهایی:

در تحقیق پیش رو، سعی بر این بود که با استفاده از نانو دارو به اهداف فوق الذکر در درمان درماتوفیتوز دست پیدا کنیم. با اینکه در مطالعات گذشته اثر ضد قارچی گیاه کندر به اثبات رسیده بود، اما تحقیق جامعی برای اثبات اثر نانواسانس این گیاه انجام نگرفته بود. الزام به یادآوری است که تولید و یا واردات داروی تربینافین هزینه زیادی دارد، به طوری که هر تیوپ از کرم تربینافین ۱٪ در بازار آزاد و بدون احتساب یارانه، ۳۰ تا ۱۱۸ دلار است، در حالی که کل نانواسانس استفاده شده در این تحقیق هزینه ای کمتر از ۵۰۰۰۰ ریال (با احتساب تمامی هزینه ها) در شرایط آزمایشگاهی دارد. به عبارت دیگر هزینه این دارو ۲۰ تا ۸۰ برابر کمتر از تربینافین است. مورد دیگر، نوع روند بهبودی مدل ها در گروه های تیماری با نانو اسانس کندر است. در گروه های تیماری با نانواسانس کندر تموج چندانی در شکل ضایعات، همان طوری که در گروه تیماری تربینافین وجود دارد، دیده نشد. این تغییر شدید در شکل ضایعات، علاوه بر اینکه یک چالش درمانی (تغییر شکل ظاهری و شکایات صاحب دام) محسوب

می‌شود، همچنین ممکن است خطر انتشار آلودگی را بالا
ببرد. مشکل مقاومت دارویی در مورد گیاه کندر هنوز
مطرح نیست، هرچند تحقیقات بیشتری برای اثبات این
ادعا باید انجام گیرد. عوارض جانبی تربینافین موضعی در
انسان قبلاً مشخص شده است که شامل قرمزی و تاول
می‌باشد (رسولی، ۱۳۹۰)، اما تا کنون عارضه جانبی
خاصی در حیوانات گزارش نشده است.

منابع:

۱. آیت اللهی موسوی، س.ا. رضایی فر، ر.، زارع شاهی، ر. (۱۳۸۵). بررسی اثرات ضد درماتوفیتی بر روی خوکچه هندی. مجله ی دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان.
۲. اسفندیاری، ع. (۱۳۶۴). قارچ شناسی پزشکی و روش های تشخیص آزمایشگاهی. تهران: انتشارات دفتر مرکزی جهاد دانشگاهی
۳. بهنام رسولی، م.، حسین زاده، ح.، غفاری مقدم، غ. (۱۳۸۰). عصاره کندر و تقویت حافظه بررسی اثرات مصرف عصاره آبی کندر در طی دوران حاملگی و شیر دادن به نوزادان بر روند یادگیری و تقویت حافظه زاده ها در رت. (نشریه علوم) دانشگاه خوارزمی
۴. پیرنیا، م.، طباطبائی یزدی، ف.، مرتضوی، ع.، محبی، م. (۱۳۹۹) مقایسه و بررسی ترکیب شیمیایی و اثر ضد میکروبی اسانس زوفا (*carteri Boswellia*) و اسانس کندر (*officinalis Hyssopus*) علیه تعدادی از میکروارگانیزم های شاخص عفونت و مسمومیت غذایی در شرایط آزمایشگاهی. انجمن علوم و صنایع غذایی ایران
۵. حسینی پناه، م. و مشتاقیان، ج. (۱۳۹۷) بررسی اثر مخلوط اسطوخودوس و کندر و عسل بر تقویت حافظه موش سوری نر. همایش ملی فرآورده های زنبور عسل از منظر زیست شناسی، سلامت و اقتصاد، اصفهان
۶. حسینی شریف آباد، محمد.، اسفندیاری، ابراهیم (۱۳۹۰). اثر تجویز صمغ گیاه کندر (*Planch & Triana serrata Boswellia*) در دوره شیردهی بر مورفولوژی نوروں های هیپوکامپی موالید موش صحرایی
۷. رستمی مقدم اردبیل، م.، دیدهور، ر.، نسیمی، (۱۳۸۹). مقایسه اثر تربینافین و کتوکونازول موضعی در درمان تینه آ ورسیکالر. مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی گرگان
۸. رسولی، م. (۱۳۹۰). داروهای ژنریک ایران. تهران: اندیشه رفیع
۹. زلفخانی، ز.، رهنما، م. (۱۳۹۵). بررسی اثر عصاره آبی کندر بر حجم آسیب بافتی و نقص های نورولوژیک در مدل سکتة مغزی موش صحرایی. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی شهید صدوقی یزد،
۱۰. زینی، ف.، سیدعلی مهبد، ا.، امامی، م. (۱۳۷۷). قارچ شناسی پزشکی جامع. تهران: موسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران.

2. Ahmadpour, F., Namjoyan, F., Azemi, M., Khodayar, M., Padok, A.D., Panahi, M. (2012). Antioxidant capacity and antidiabetic effect of *Boswellia serrata* aqueous extract in female diabetic rats and the possible histological changes in the liver and kidney. *Res Pharm Sci*
3. Ainsworth, P.K.C. and Austwick, G.C. (1959). *Fungal Diseases of Animals*
3. Ainsworth, P.K.C. and Austwick, G.C. (1959). *Fungal Diseases of Animals (Review)*. England: Commonwealth Agricultural Bureaux, 148 pages
4. Alam, M., Khan, H., Samiullah, L., Siddique, K. (2012). A review on Phytochemical and Pharmacological studies of Kundur (*Boswellia serrata* Roxb ex Colebr.)-A Unani drug. *J Appl Pharm Sci*
5. Al-Harrasi, A., Al-Saidi, S. (2008). Phytochemical analysis of the essential oil from botanically certified oleogum resin of *Boswelliasacra* (Omani Luban).
6. Al-Yasiry, A.R.M., Kiczorowska, B. (2016). Frankincense-therapeutic properties. *Advances in Hygiene & Experimental Medicine/ Postepy Hig Med Dosw*, 70.
7. Ammon H. (2006). Boswellic acids in chronic inflammatory diseases. *Planta Med*
8. Ammon, H. (2016). Boswellic acids and their role in chronic inflammatory diseases. *Anti-inflammatory Nutraceuticals and Chronic Diseases*
9. Başer, K.H.C., Demirci, B., Dagne, E., Dekebo, A. (2003). Essential oils of some *Boswellia* spp., myrrh and opopanax. *Flavour Fragr J*; 18(2): 153-156.
10. Benita, S. (2006). *Microencapsulation Methods and Industrial Applications*. 2nd Edition. USA: CRC Press.
11. Bennett, M.L., Fleischer, A.B., Loveless J.W., Feldman, S.R. (2000) Oral griseofulvin remains the treatment of choice for tinea capitis in children. *Pediatr Dermatol*
12. Birkner, K.M. (2006). *Boswellia, the Pain Herb*. Pain and Stress Publications, 1(1):60-1.
13. Bone, K. (2011). *Boswellia and brain inflammation*. MediHerb, e-Monitor, 39.
14. Burt, S. (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223–253.
15. Budimulja, U., Bramono, K., Urip, K.S., Basuki, S., Widodo, G., Rapatz, G. and et al. (2001). Once daily treatment with terbinafine 1% cream (Lamisil) for one week is effective in the treatment of tinea corporis and cruris. A placebo-controlled study, *Mycoses*, 44(7-8): 300-6.

16. Cevc, G., Vierl, U. (2010). Nanotechnology and the Transdermal Route, A State of the Art Review and Critical Appraisal. *Journal of Controlled Release*, 141: 277-299
17. Chopra, V., Jain, V.K. (2000). Comparative study of topical terbinafine and topical ketoconazole in pityriasis versicolor. *Indian J Dermatol Venereol Leprol*, 66(6): 299-300.
18. Dashti, G., Esfandiari, E., Nematbagksh, M., Sanei, M., Afsharipoor, S., Farzan, A. and et al. (2004). The effect of frankincense extract on accumulation of fatty streaks in coronary arteries of high-cholesterol fed male rabbits. *Armaghane danesh*, 8(4): 9-17.
19. Du, Z., Liu, Z., Ning, Z., Liu, Y., Song, Z., Wang, C. and et al. (2015). Prospects of boswellic acids as potential pharmaceuticals . *Planta Medica*, 81(04): 259-71.
20. Evans, W. (2009). *Trease and Evans' Pharmacognosy*. 16th Edition, London: Saunders Ltd
21. Faergemann, J. (2001). Treatment of seborrhoeic dermatitis with oral terbinafine? *Lancet*, 358:170.
22. Faergemann, J., Jones, T.C., Hettler, O. (1996). *Pityrosporum ovale* as the causative agent of seborrhoeic dermatitis: new treatment option. *British Journal of Dermatology*,
23. Fixsen, D., Naom, S., Blase, K., Friedman, R., Wallace, F. (2005). *Implementation Research: A Synthesis of the Literature*. Tamps, FL: University of South Florida, Louis de la Parte Florida Mental Health Institute, National Implementation Research Network.
24. Fisher, F. and Cook, N.B. (1998). *Fundamentals of Diagnostic Mycology*. W.B.Saunders, 372 pp
25. Friedlander, S.F. (1999). The evolving role of itraconazole, fluconazole and terbinafine in the treatment of tinea capitis. *Pediatr Infect Dis J*, 18(2): 205-10.
26. Ghannoum, M., Isham, N., Hajjeh, R., Cano, M., Al-Hasawi, F., Yearick, D. and et al.(2003). Tinea capitis in Cleveland:survey of elementary school students. *J Am Acad*

Comparison of the Therapeutic Effects of Nano-Essence of Boswellia with the Cream of Terbinafine %1 in Guinea Pig Experimentally Infected by *Microsporium Canis*

Morteza Razaghimanesh^{1*}, Bahador Bardshiri¹, Shadi Loovineh Nasab², Aida SHarifiyan³,
Shaghayegh Ganad³

- 1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Khuzestan, Iran
- 2- Graduate of Doctor of Veterinary Medicine, Islamic Azad University Shushtar Branch, Iran
- 3- Doctor of Veterinary Medicine Student, Islamic Azad University Shushtar Branch, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Nowadays, due to their antimicrobial and antioxidant properties and lower side effects, plant essential oils have gained widespread application. Nanotechnology, by converting these compounds into nanoparticles, imparts new characteristics to them. This study evaluated the efficacy of a frankincense nanoemulsion and 1% terbinafine cream in treating experimental dermatophytosis caused by *Microsporium canis* in guinea pigs through in vitro and in vivo methods.

The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was determined using the Broth Microdilution method following the CLSI M38-A protocol, and the MIC of the frankincense nanoemulsion was found to be 210 µg/mL. Eighteen guinea pigs were randomly divided into three groups of six, and treatment began five days post-infection, administered every 12 hours for 40 days. Data analysis was performed using the Kruskal-Wallis test and SPSS software.

Statistical analysis revealed significant differences between the terbinafine and negative control groups throughout the treatment period. Initially, the infection level in the nanoemulsion group was higher than in the terbinafine group. Comparison between the nanoemulsion and negative control groups demonstrated significant differences on all days except day 40 ($p < 0.05$). Additionally, significant differences between the nanoemulsion and terbinafine groups were observed on days 19, 26, 33, and 40 post-infection ($p < 0.05$).

These results confirm the antifungal efficacy of frankincense nanoemulsion against *Microsporium canis* and suggest its superiority over topical terbinafine treatment.

Keywords: Nano Essence, Boswellia, Terbinafine, Dermatophytosis, *Microsporom Canis*

دو فصلنامه هیستوبیولوژی دامپزشکی

دوره دهم شماره یک بهار و تابستان ۱۴۰۱

گزارش یک مورد انباشت لیپیدی در معده خرگوش

علیرضا جهاننیده^۱، محمدرضا فروغی گیلوئی^{۲*}، محمدرضا رودکی سرونهانی^۳، حسین ایرانی نژاد^۴

۱- گروه جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۲- دانشجوی دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

۳- دانشجوی دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، واحد بابل، دانشگاه آزاد اسلامی، مازندران، ایران

۴- دانشجوی دستیاری تخصصی جراحی دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: emad.foroughi95@gmail.com

چکیده

بزوار یک توده داخل لومن دستگاه گوارش است که در اثر تجمع مواد هضم نشده ایجاد می‌گردد. تریکوبزوار به تجمع مو و خز گفته می‌شود که از مری عبور کرده و تبدیل به یک جسم خارجی در معده یا روده می‌شود. ناحیه پیلور، محل متداول انسداد بوده و موجب انسداد خروجی معده می‌گردد. اهمیت جیره غذایی در خرگوش بسیار بالا است به گونه‌ای که تغذیه نامناسب با فیبر پایین، پروتئین، کربوهیدرات و چربی بالا می‌تواند از عوامل بروز نفخ و انباشت باشد. در حیوان مورد بررسی علایم بالینی، گراف و آزمایشات خونی حاکی از تجمع گاز در معده و روده و انباشت جسم خارجی بود که جراحی به روش لاپاراتومی اکتشافی برای تصحیح عارضه تکنیک مورد تایید بود. پس از القای بیهوشی، برش ناحیه و خارج سازی توده‌ای مویی شکل و لیپیدی ناحیه مورد برش بخیه گردید. حیوان با تصحیح رژیم غذایی، بعد از ۱۴ روز شروع به وزن گیری نمود و زندگی خود ادامه داد. توصیه بر آن است که در تهیه غذای استارتر به دلیل ظرفیت کم در هیدرولیز ترکیبات در سنین پایین خرگوش‌ها باید از مقادیر بالای مواد غذایی قابل هضم و غنی از چربی و پروتئین و فیبر پایین استفاده شود تا از بروز مواردی نظیر نفخ و انباشت جلوگیری حاصل گردد.

کلمات کلیدی: خرگوش، معده، جراحی، لیپید

مقدمه

به دو بخش تقسیم شده که همزمان در دو جهت مخالف حرکت می‌کند. ذرات بزرگ مواد غذایی چوبی از طریق کولون به صورت مدفوع سخت دفع می‌شوند و ذرات کوچک‌تر به سمت سکوم آمده و توسط باکتری‌ها تخمیر می‌شوند. این ذرات کوچک از کربوهیدرات‌های پیچیده هضم نشده تشکیل شده‌اند. کربوهیدرات‌های ساده و قندها در معده و روده کوچک هضم و جذب می‌شوند. در این حیوانات، کاهش وزن و بی‌اشتهایی می‌تواند توسط عوامل بسیاری مانند: بیماری‌های دندانی، اختلال در دستگاه گوارش، رژیم غذایی نامناسب، آنتی بیوتیک، وجود درد، استرس، استاز دستگاه گوارش، انسداد و وولولوس ایجاد شود که کاهش اشتها در این حیوانات یک وضعیت اضطراری است زیرا منجر به عدم تعادل الکترولیت‌ها و مایعات و لیپیدوز کبدی می‌شود (۶).

در خرگوش مبتلا به انسداد معده ممکن است علامتی مشاهده نشود و یا در شروع علائم بالینی با بی‌اشتهایی همراه باشد و در نهایت با فاصله زمانی ۲۴ تا ۴۸ ساعت به بروز علائم حاد شکمی منتج شود. عدم دفع ناگهانی مدفوع، بزرگ شدن شکم یا درد شکمی می‌تواند پس از بروز نشانه‌های اولیه ایجاد شود که به دنبال آن هیپوولمی و شوک به همراه تاکی‌کاردی، تاکی‌پنه، رنگ پریده شدن غشای مخاطی، افت CRT، ضعیف شدن پالس محیطی و هیپوترمی مشخص می‌شود. لیپیدوز کبدی یک ضایعه شایع همراه در انسداد معده است (۷). مرگ اغلب در طی ۲۴ تا ۴۸ ساعت اتفاق می‌افتد. در صورت رخداد چنین مسئله‌ای، درمان تهاجمی ضروری خواهد بود. تثبیت

خرگوش پستانداری است علف‌خوار، از تیره خرگوشان (Leporidae) و دارای اندامی شبیه به گربه و گوش‌های دراز و لب‌های شکاف‌دار، که از پوشش گیاهی سبز تغذیه می‌کند. اندازه کوچک این گیاه خوار باعث سرعت بالای متابولیسم می‌گردد. برای کنار آمدن با این مشکل، خرگوش یک دستگاه هضم کاملاً متفاوت و تکامل یافته نسبت به گیاه‌خواران شناخته شده‌تر مانند اسب (هضم در روده بزرگ) و نشخوارکنندگان (هضم در معده) دارد (۱).

معده خرگوش اندامی با دیواره‌ای نازک و کیسه‌ای شکل است که ۱۵٪ از حجم دستگاه گوارش را شکل می‌دهد (۲). وجود یک اسفنکتر بسیار پیشرفته در قسمت کاردیا از بروز استفراغ واقعی جلوگیری می‌کند (۳). قسمت کاردیا معده دیواره‌ای نازک، غیر غده‌ای و بدون حرکت دارد (۲). به طور معمول معده هرگز خالی نبوده و در حقیقت، پس از ۲۴ ساعت غذا نخوردن، معده خرگوش بالغ، هنوز ۵۰ درصد پر بوده که معمولاً همراه با توده‌ای از مواد غذایی و موئی که توسط مایع احاطه شده است می‌باشد (۴). در خرگوش بالغ، مقادیر زیادی آب و اسید در لومن فوندوس ترشح می‌گردد. pH معده خرگوش بالغ در حین هضم مواد غذایی بین ۱ تا ۲ می‌باشد که بیشتر ارگانیسم‌های میکروبی از بین می‌برد و معده و روده کوچک را تقریباً استریل نگه می‌دارد (۵).

خرگوش‌ها هضم را در روده خلفی انجام می‌دهند و دستگاه گوارش پیچیده و حساسی دارند. در روده خلفی، ماده غذایی

علائم حیاتی خرگوش به منظور جراحی موفقیت آمیز، قبل از گاستروتومی الزامی است. پروکینتیک‌ها در شرایط انسدادی قبل از جراحی منع مصرف دارند، اما بعد از عمل برای تحریک تحرک دستگاه گوارش مفید هستند. پیش آگهی در چنین بیماری به دلیل آن که اکثر خرگوش‌ها مبتلا به لیپیدوز کبدی شدید، اسیدوز، کتوز، و زخم شدید معده هستند، ضعیف گزارش شده است. در صورت عدم جراحی به موقع، زخم شدید معده می‌تواند به سوراخ تبدیل و به دنبال آن پریتونیت اتفاق بیوفتد. درمان تهاجمی و سریع می‌تواند باعث افزایش احتمال بهبودی شود (۸).

بزوار یک توده داخل لومن دستگاه گوارش است و در اثر تجمع مواد هضم نشده ایجاد می‌شود. تریکوبزوار به تجمع مو و خز گفته می‌شود که از مری عبور کرده و تبدیل به یک جسم خارجی در معده یا روده می‌گردد. ناحیه پیلور، محل متداول انسداد بوده و موجب انسداد خروجی معده می‌گردد. تریکوبزوار (گلوله‌ی مو)، در ابتدا تصور می‌شد که به دلیل بلعیدن خز است، اما اکنون به نظر می‌آید در نتیجه کاهش حرکت معده می‌باشد، که اغلب به دلیل عدم فعالیت بدنی خرگوش یا کاهش تحرک روده است (۶).

با توجه به اهمیت جیره غذایی در گونه‌هایی نظیر خرگوش، ذکر این نکته که بیشتر مشکلات گوارش در خرگوش‌های خانگی ناشی از تغذیه نامناسب با فیبر پایین، پروتئین، کربوهیدرات و چربی بالا می‌باشد خالی از لطف نیست. در

واقع تغذیه از میوه‌ها، دانه‌ها و کربوهیدرات‌ها یا مواد با بیس چربی در این حیوانات ممنوع می‌باشد. از طرفی، کاهش جزئی مقادیر چربی جیره، در صورتی که چربی باقیمانده در جیره دارای قابلیت هضم بالا و غنی از اسیدهای چرب ضروری^۱ (EFAs) باشد، ممکن است به نفع سگ‌ها و گربه‌های مسن باشد (۹).

مواد و روش

به دنبال ارجاع یک سر خرگوش دو ساله نر با وزن تقریبی یک کیلوگرم با نمره بدنی 2 (۱۰) به بیمارستان دامپزشکی درین واقع در شهر تهران با علائم اتساع شدید شکم، عدم دفع مدفوع، درد فراوان، از دست دادن وزن طی چند روز گذشته و وجود مشکلات تنفسی، پس از معاینات اولیه، تهیه گراف رادیولوژی و آزمایشات خونی و بیوشیمیایی، تشخیص وجود جسم خارجی در معده داده شد و برای اصلاح شرایط، درمان با جراحی اتخاذ گردید. حیوان درون خانه نگهداری می‌شد و با غذاهای خانگی چرب و روغنی به همراه میزان بالایی فیبر مانند میوه و سبزیجات تغذیه شده بود. وضعیت بدنی حیوان نامناسب بود ولی در قسمت دهانی وجود ترشحات و مشکلات دندان‌های گزارش نشد. در معاینات بالینی وجود تاکی کاردی، تاکی پنه و اتساع شدید شکم به همراه درد تایید شد. در گراف، تجمع گاز در قسمت معده و روده‌ها قابل مشاهده بود. پس از کسب رضایت صاحب حیوان و پایدار شدن شرایط، با

¹. Essential fatty acids

توجه به یافته‌های به دست آمده، جراحی به روش لاپاراتومی اکتشافی انتخاب گردید. عدم مصرف آنتی بیوتیک یا دارویی دیگر قبل از جراحی در طی چند روز قبل توسط صاحب حیوان اعلام شده بود. القا توسط داروهای کتامین هیدروکلراید با دوز ۳۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت وریدی (Ketamin 10% - Bremer Pharma GmbH) و زایلازین با دوز ۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت وریدی Xylazine 2% Alfasan صورت گرفت. ادامه بیهوشی توسط داروی ایزوفلوران (Terrell 100ml, liquid, USA) ۵٪ به صورت استنشاقی و با اکسیژن ۱۰۰٪، ۱ لیتر بر دقیقه به کمک ماسک استاندارد، با تزریق داخل وریدی سرم رینگر با آنژیوکت شماره ۲۶ از ورید حاشیه‌ای گوش با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم بر ساعت انجام شد. برای دسترسی هر چه بهتر به اندام هدف، برش از رهیافت ونترال میدلاین صورت گرفت و در ادامه لاپاراتومی اکتشافی شکم، انسداد در قسمت پیلور معده در اثر تجمع مو (تریکوبزوار) و تجمع زیاد گاز در روده‌ها دیده شد. پس از برداشت تریکوبزوار، معده به کمک نخ ۳-۰ پلی گلاکتین (Vicryl, supabon, iran) بخیه گردید. در ادامه، شکم نیز به کمک نخ ۳-۰ پلی گلاکتین (Vicryl, supabon, iran) به صورت داخل پوستی و سپس توسط نخ ۳-۰ مونوفیلament پلی‌آمید (Nylon, SUPALON, Iran) بخیه گردید. جراحی در حدود ۸۰ دقیقه به طول انجامید و ریکاوری بدون هیچ مشکلی اتفاق افتاد. بعد از اتمام جراحی، از ملوکسیکام (Meloxicvet 2%, Razak, iran) به دوز ۰.۵

میلی گرم به صورت زیر جلدی هر ۱۲ ساعت به مدت ۷ روز استفاده گردید. آنتی بیوتیک درمانی به منظور جلوگیری از عفونت ثانویه با استفاده از انروفلوکساسین با دوز ۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت زیر جلدی (Hipralona, Hipra, Spain) هر ۱۲ ساعت به مدت ۷ روز، مترونیدازول با دوز ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی هر ۲۴ ساعت به مدت ۷ روز، متوکلوپرامید با دوز ۰.۵ میلی گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی هر ۱۲ ساعت به مدت ۷ روز انجام گرفت (۱۱). بهبود وضعیت حیوان پس از گذشت ۱۴ از جراحی گزارش شد (۱۲).

نتایج

حیوان پس از مدت ۱۴ روز و با تصحیح رژیم غذایی شروع به وزن گیری نمود و هوشیارانه به زندگی خود ادامه داد. این در حالی است که پس از ۲۴ ساعت حیوان توسط غذای مرطوب تغذیه شد. اشتها در حیوان طبیعی گزارش شد و مدفوع نیز طبیعی اعلام گردید. در معاینات بعدی، هیچ گونه علائمی دال بر وجود بیماری رویت نشد. بعد از گذشت هفت روز، معاینات بالینی بر ناحیه برش حاکی از درد ملایم بر روی خط برش، ادم پوستی نسبی و شکل گیری بافت گرانوله داشت و تجمع از مایع در ناحیه مشاهده نشد. ناحیه مورد برش طبق دستور جراح به صورت روزانه با مواد ضد عفونی شستشو داده شد و پانسمان هر سه روز تعویض گردید.

جدول ۱: بررسی تابلوی خونی و بیوشیمیایی خرگوش دارای

انباشتگی با رنج نرمال (۱۳)

فاکتورها	بیمار	میزان طبیعی
RBC	$3.71 \times 10^6/\mu\text{L}$	4-8
HCT	24.9%	30-50
HGB	8.1 g/dL	8-17.5
MCV	$67.1 \mu\text{m}^3$	58-75
MCH	21.8 pg	17.5-23.5
MCHC	32.5 g/dL	29-37
WBC	$8.1 \times 10^3/\mu\text{L}$	5-12
Lym	27%	25-60
Mon	7%	2-10
Neut	66%	17.2-59.3
PLT	$236 \times 10^3/\mu\text{L}$	290-650
ALB	3.75 g/dL	2.5-5
ALP	14 U/L	4-70
P	5.08 mg/dL	2.3-6.9
Urea	35 mg/dL	20-45
Scr	0.73 mg/dL	0.5-2.5
TP	4.82 g/dL	5.4-7.5



تصویر ۱: نمای پشتی شکمی شکمی خرگوش

بحث

بزورها مجموعه‌ای از مواد غیر قابل هضم هستند که معمولاً در معده جمع می‌شوند و می‌توانند تا روده کوچک گسترش یابند. انواع مختلف بزورها عبارتند از: فیتوبزوار (منشا گیاهی)، تریکوبزوار (که عمدتاً از مو تشکیل می‌شود)، لاکتوبزوار (با منشا شیر غلیظ)، فارماکوبزوار (بزوار داروهای مختلف) و بزوار غذایی (۱۴). مو به دلیل نرمی در برابر هضم و حرکات پرستالیتیک مقاوم است. بلع مداوم مو، در طی یک دوره زمانی می‌تواند منجر به انباشت آن‌ها همراه با مخاط و مواد غذایی در معده شود. در برخی موارد، تریکوبزوار از طریق پیلوروس به ژژنوم، ایلئوم یا حتی روده بزرگ منتقل می‌شود. این وضعیت، به نام سندرم راپونزل، اولین بار توسط Vaughan



تصویر ۲: توده خارج شده پس از جراحی

و همکاران، در سال ۱۹۶۸ توصیف شد (۱۵). بزورها ممکن است همراه با درد شکم، حالت تهوع، استفراغ، سیری زودرس، کاهش وزن، انسداد روده، زخم منجر به خونریزی و یا سوراخ شدن باشند. به ندرت توهم رفتگی روده‌ها می‌تواند اتفاق بیفتد (۱۶). در حیوان بیمار مذکور، پس از بررسی لاپاراسکوپسی، انباشتگی ناحیه پیلور توسط تریکوبزوار منجر به تجمع گاز در قسمت‌های مختلف روده گردید که موجب اتساع شکم شده بود.

با توجه به مطالعات به عمل آمده توصیه بر آن است که در تهیه غذای استارتر به دلیل ظرفیت کم در هیدرولیز ترکیبات در سنین پایین خرگوش‌ها باید از مقادیر بالای مواد غذایی قابل هضم و غنی از چربی و پروتئین و فیبر پایین استفاده شود تا از بروز مواردی نظیر نفخ جلوگیری حاصل گردد. در بیمار تحت جراحی احتمال می‌رود که به دلیل عدم رعایت رژیم غذایی صحیح و نبود نظارت کافی، عدم مشاوره گیری از دامپزشک مجرب در زمینه حیوانات اگزوتیک، عدم توجه به لزوم ورزش در حیوانات و غیر طبیعی بودن سطوح انرژی، پروتئین، چربی و فیبر در بازه زمانی یک ساله و به مرور باعث گردیده است که بیمار از وضعیت استاندارد طبیعی بدن خارج گردد و به طبع، تغییرات سیستماتیک حاصله، منجر به بروز این عارضه گردیده است.

در گربه‌ها و خرگوش‌ها، تریکوبزوار معمولاً توسط رادیوگرافی تشخیص داده می‌شود (۱۷)، اما در کره اسب به اندوسکوپ برای تشخیص نیاز است. در انسان، به دلیل غیر اختصاصی

بودن علائم (استفراغ، کاهش وزن، درد مزمن شکم و ...) و وجود آلویسی، این بیماری معمولاً با تأخیر تشخیص داده می‌شود و عوارض شدیدی دارد (۱۸). تریکوبزوار در کره اسب معمولاً در کولون عرضی و روده کوچک رخ می‌دهد (۱۹، ۲۰). برخی از انسدادها در دوازدهه گزارش می‌شوند (۲۱). با این حال، تریکوبزوار انسان معمولاً در معده زنان جوان که اختلالات روانپزشکی دارند مشاهده شده است (۲۲). در گوساله‌ها، انسداد مجرا توسط تریکوبزوار معمولاً در شیردان و روده کوچک اتفاق می‌افتد (۲۳). در گربه‌ها، تریکوبزوارها معمولاً در معده قرار دارند اما معمولاً با استفراغ بدون ایجاد انسداد از بین می‌روند (۱۷). تریکوبزوار در خرگوش نیز بیشتر در معده در ناحیه پیلور رخ می‌دهد. در این بررسی، حیوان مورد نظر پس از انجام آزمایشات خونی، تهیه رادیوگراف (تصویر ۱) و عدم مشاهده مشکل حاد و پیچیده (جدول ۱)، تکنیک لاپاراتومی اکتشافی با اجرای بیهوشی مناسب و دقیق و همچنین رعایت کلی موارد اصول آسپتیک به اجرا در آمد. با بررسی ارگان‌های مختلف، درگیری قسمت پیلور مشاهده شد که در ادامه گاستروتومی، برداشت توده مویی شکل و مواد غذایی بسیار چرب انجام پذیرفت (تصویر ۲). معده توسط سرم رینگر گرم لاواژ داده شد و در انتها آسپیریشن به منظور کاهش بار میکروبی صورت پذیرفت. در نهایت ناحیه برش به صورت دو لایه، لایه اول ساده سرتاسری و لایه دوم کوشینگ بسته شد. دوباره ناحیه شکمی توسط رینگر گرم لاواژ داده شد و ناحیه شکمی بسته شد.

بررسی تابلوی خونی بیمار با رنج نرمال (۱۳) آنمی برگشت پذیر و لوکوگرام استرس را گزارش می دهد که می تواند در اثر این ضایعه باشد. همچنین بررسی تابلوی بیوشیمیایی حاکی از عدم وجود درگیری خاصی بود (جدول ۱).

راه های مدیریت این مسئله شامل برداشتن توسط آندوسکوپی، لاپاراسکوپی یا از طریق لاپاراتومی است. گورتر و

همکاران، در یک بررسی گذشته نگر از ۱۰۸ مورد تریکوبزوار، روش های متفاوت را در این موارد ارزیابی کردند. مشخص شد که آندوسکوپی در ۵ درصد موارد و لاپاراسکوپی در ۷۵ درصد موارد موفقیت آمیز بود. در حالی که، لاپاراتومی و به دنبال آن گاستروتومی ۹۹٪ موفقیت آمیز بود، بنابراین به عنوان مدیریت انتخابی مورد قبول قرار گرفت (۲۴).

1. Davies RR, Davies JA. Rabbit gastrointestinal physiology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2003;6(1):139-53.
2. Manning PJ, Ringler DH, Newcomer CE. *The biology of the laboratory rabbit.* San Diego: Academic Press; 1994.
3. Botha GS. Histological observations on the gastro-esophageal junction in the rabbit. *J Anat.* 1958;92(3):441-6.
4. Griffiths M, Davies D. The role of the soft pellets in the production of lactic acid in the rabbit stomach. *J Nutr.* 1963;80(2):171-80.
5. Fekete S. Recent findings and future perspectives of digestive physiology in rabbits: a review. *Acta Vet Hung.* 1989;37(3):265-79.
6. Harcourt-Brown F. Anorexia in rabbits. 1 Causes and effects. 2002;24(7):358-67.
7. Gillett NA, Brooks DL, Tillman PC. Medical and surgical management of gastric obstruction from a hairball in the rabbit. *J Am Vet Med Assoc.* 1983;183(11):1176-8.
8. Reusch B. Rabbit gastroenterology. *Vet Clin North Am Exot Anim Pract.* 2005;8(2):351-75.
9. Carabaño R, Badiola I, Chamorro S, Garcia J, Garcia Ruiz A, Garcia Rebollar P, et al. New trends in rabbit feeding: Influence of nutrition on intestinal health. *SPANISH JOURNAL OF AGRICULTURAL RESEARCH.* 2008;6:15-25.
10. Reusch, B., 2010. Why do I need to body condition score my rabbit. .pdf>.
11. Plumb DC. *Plumb's veterinary drug handbook.* Stockholm, Wis.; Iowa: PharmaVet Inc. ; Wiley-Blackwell; 2011.
12. Maksimovj A, Spahija N, amo D, Lutvikadi I. A unique case of spontaneous intestinal volvulus in a pet rabbit. *Veterinaria.* 2020;69:65-8.
13. *Veterinary Anatomy of Domestic Mammals: Textbook and Colour Atlas.* The Canadian Veterinary Journal. 2006;47(10):991-.
14. Williams RS. The fascinating history of bezoars. *Medical Journal of Australia.* 1986;145(11-12):613-4.
15. Naik S, Gupta V, Naik S, Rangole A, Chaudhary AK, Jain P, et al. Rapunzel Syndrome Reviewed and Redefined. *Digestive Surgery.* 2007;24(3):157-61.
16. Wadlington WB, Rose M, Holcomb GW, Jr. Complications of trichobezoars: a 30-year experience. *South Med J.* 1992;85(10):1020-2.
17. Barrs VR, Beatty JA, Tisdall PL, Hunt GB, Gunew M, Nicoll RG, et al. Intestinal obstruction by trichobezoars in five cats. *J Feline Med Surg.* 1999;1(4):199-207.

18. Gorter RR, Kneepkens CM, Mattens EC, Aronson DC, Heij HA. Management of trichobezoar: case report and literature review. *Pediatr Surg Int.* 2010;26(5):457-63.
19. Johnston JK, Freeman DE. Diseases and surgery of the large colon. *Vet Clin North Am Equine Pract.* 1997;13(2):317-40.
20. Manneveau GB, Robert MP, Tessier C, Bizon-Mercier C. Surgical removal of a gastric trichophytobezoar in a foal. *Can Vet J.* 2017;58(9):926-30.
21. Gillen AM, Cattley RC, Munsterman AS. Proximal Duodenal Obstruction Caused by a Trichophytobezoar in a Horse. *Journal of Equine Veterinary Science.* 2015;35(9):768-72.
22. Bouwer C, Stein DJ. Trichobezoars in trichotillomania: case report and literature overview. *Psychosom Med.* 1998;60(5):658-60.
23. Abutarbush SM, Naylor JM. Obstruction of the small intestine by a trichobezoar in cattle: 15 cases (1992-2002). *J Am Vet Med Assoc.* 2006;229(10):1627-30.
24. Coulter R, Antony MT, Bhuta P, Memon MA. Large gastric trichobezoar in a normal healthy woman: case report and review of pertinent literature. *South Med J.* 2005;98(10):1042-4.

A case of greasy impaction in rabbit stomach

Ali Reza Jahandide¹, Mohammad Reza Foroghi Gilvae^{2*}, Mohammad Reza Rudaki Sarvandani³,
Hosein Irani Nejad⁴

1— Department of Veterinary Surgery, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

2- DVM Student, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

3- DVM Student, Islamic Azad University, Babol Branch, Mazandaran, Iran

4- Veterinary Surgery Residency Student, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran

Corresponding author: *emad.foroughi95@gmail.com

Abstract

Bezoar is an intraluminal mass in the gastrointestinal tract that is formed by the accumulation of indigestible materials. Trichobezoar is the accumulation of hair and fur that passes through the esophagus and becomes a foreign body in the stomach or intestines. The pyloric region is a frequent site of obstruction which can block the gastric outlet. The notability of diet in rabbits is so high that poor nutrition with low fiber, protein, carbohydrates and high fat result in bloating and accumulation. In the studied animal, clinical signs, graphs and blood analysis revealed an accumulation of gas in the stomach and intestines and an aggregation of foreign body. The Exploratory laparotomy technique was approved to correct the complication. After induction of anesthesia and a ventral midline incision, the furry and greasy masses were removed and the incision area was sutured. The animal began to gain weight after 14 days by correcting the diet and kept on living. It is recommended that to preparing starter feed due to a limited capacity for hydrolysis of several components at early ages, high amounts of digestible foods which are rich in fat and protein, with low fiber should be used to prevent disorders such as bloating and obstruction.

Keywords: Rabbit, Stomach, Surgical treatment, Greasy