

مروی نوین بر نقش تغذیه در درمان نارسایی مزمن کلیوی

سبا بنیادی دهکردی^{۱*}، ماهان یغمائی^۱، آرش حسینی^۱

۱- دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Mahanyh79@gmail.com

چکیده

نارسایی مزمن کلیه (CRF) یکی از شایع‌ترین بیماری‌ها در گربه‌های مسن است. علت دقیق آن اغلب ناشناخته است اما می‌تواند مادرزادی یا اکتسابی باشد. علائم بالینی مانند بی‌اشتهایی، کاهش وزن، استفراغ و خواب‌آلودگی اختصاصی نیستند و برای تشخیص، انجام آزمایش‌هایی مانند اندازه‌گیری سطح ازت خون و غلظت ادرار ضروری است. نقش تغذیه در کنترل این بیماری بسیار مهم است. رژیم غذایی خاص می‌تواند به کاهش علائم و افزایش طول عمر حیوان کمک کند. این مقاله مروری، بر اساس ۱۸ منبع علمی، فاکتورهای تغذیه‌ای مؤثر بر کنترل CRF را بررسی کرده است. آب‌رسانی کافی به دلیل کاهش توانایی تغلیظ ادرار بسیار مهم است. مصرف محدود و با کیفیت پروتئین می‌تواند از بروز اورمی جلوگیری کند. محدودیت فسفر به جلوگیری از هایپرفسفاتمی و آسیب بیشتر به کلیه کمک می‌کند. سدیم بالا ممکن است باعث پرفشاری خون و آسیب‌های قلبی-عروقی شود، بنابراین باید محدود شود. همچنین باید سطح پتاسیم و ویتامین‌های گروه B در حد مناسب حفظ شود تا از عوارض ناشی از کاهش اشتها و دفع زیاد ادرار جلوگیری شود. افزودن اسیدهای چرب امگا-۳ به رژیم غذایی نیز با کاهش التهاب می‌تواند به حفظ عملکرد کلیه‌ها کمک کند. در مجموع، استفاده از رژیم‌های غذایی درمانی تخصصی نقش مهمی در مدیریت و بهبود وضعیت گربه‌های مبتلا به CRF دارد.

کلمات کلیدی: نارسایی کلیوی مزمن، CRF، تغذیه، نقش تغذیه، گربه

مقدمه

بیماری کلیوی مزمن (CRF)، یک بیماری بسیار شایع در گربه‌های مسن (بیش از ۱۵ سال) است و حتی می‌تواند ۵۰٪ از آن‌ها را تحت تاثیر قرار دهد (۱). CRF به عنوان یک بیماری کلیوی تعریف می‌شود که سه ماه یا بیشتر وجود داشته باشد (۲). میزان دقیق شیوع آن مشخص نیست و مطالعاتی از ایالات متحده و بریتانیا، شیوعی بین ۱/۶ تا ۲۰ درصد را گزارش کرده‌اند (۳). اصطلاح “بیماری مزمن کلیه (CRF)” یک عنوان کلی است و دلیل آسیب کلیه یا کاهش عملکرد آن را مشخص نمی‌کند. علل این بیماری متنوع و اغلب ناشناخته هستند (۴). برخی از علل شناخته شده دسته‌بندی شده‌اند و به دو گروه مادرزادی و اکتسابی تقسیم می‌شوند (۵). بیماری کلیه پلی کیستیک (PKD) شایع‌ترین بیماری مادرزادی کلیه، به‌ویژه در گربه‌های نژاد پرشین، در گربه‌ها است (۶). عوامل متعددی به عنوان علل ایجاد CRF اکتسابی مطرح شده‌اند؛ از جمله لنفوم‌های کلیوی، عوامل عفونی، واکسیناسیون، عوامل نفروتوکسیک، سنگ‌های ادراری و اختلالات غدد درون‌ریز مانند پرکاری تیروئید (۵).

چندین علامت بالینی با بیماری مزمن کلیه (CRF) در گربه‌ها مرتبط است. علائم بالینی در CRF به طور خاص مختص آن نیستند، اما شامل بی‌اشتهایی، پلی‌اوری (ادرار زیاد)، پلی‌دیپسی (تشنگی زیاد)، کاهش وزن، خواب‌آلودگی، بوی بد دهان و استفراغ می‌باشند برای تشخیص نیازمند آزمایش‌های تشخیصی است (۵، ۷).

اهداف اصلی درمان CRF بهبود کیفیت زندگی گربه‌های مبتلا، به ویژه آن‌هایی که در مرحله‌های پایانی هستند، و در صورت امکان، تلاش برای به تعویق انداختن پیشرفت بیماری است (۸). برای درمان عدم تعادل در مایعات، الکترولیت‌ها، تعادل اسید-باز، غدد درون‌ریز و تغذیه، مدیریت پزشکی محافظه‌کارانه CRF از درمان حمایتی و علائم‌محور استفاده می‌کند. هدف از این درمان کاهش اثرات پاتوفیزیولوژیک و بالینی اختلال عملکرد کلیوی است (۹).

جمع‌آوری اطلاعات

این پژوهش که به صورت مروری نگارش و از ۱۰ پژوهش به‌طور منبع اصلی تشکیل شده است که از دو موتور جستجوگر مقاله، google scholar و pubmed، مورد استفاده قرار گرفته است و در جدول شماره ۱ این مقالات را مشاهده می‌کنید.

بحث

نارسایی مزمن کلیه (CRF) رایج‌ترین نمود بیماری کلیوی در سگ‌ها و گربه‌هاست و نشان‌دهنده مرحله پایانی مجموعه‌ای از بیماری‌های کلیوی می‌باشد (۱۰). این بیماری عمدتاً در حیوانات مسن مشاهده می‌شود و به‌طور بالینی مشاهده شده است که روندی پیش‌رونده دارد، به‌طوری‌که بیشتر بیماران نهایتاً به دلیل عوارض اورمیک جان خود را از دست می‌دهند (۱۰). تخمین زده می‌شود که بیش از ۳۰٪ از گربه‌های بالای ۱۰ سال به آن مبتلا باشند (۱۱). علائم بالینی در CRF اختصاصی نیست ولی همانطور که ذکر شد بی‌اشتهایی، پلی‌اوری، پلی‌دیپسی و غیره می‌باشد (۵، ۷). برای تشخیص CRF، چندین آزمایش تشخیصی برای تایید بیماری ضروری است (۵). آزوتمی کلیوی و غلظت پایین ادرار به‌طور مشترک حداقل داده‌های لازم برای تشخیص CRF را فراهم می‌کنند (۱۲). آزوتمی کلیوی با افزایش سطح اوره و کراتینین در سرم به دلیل تغییرات پاتولوژیک داخل کلیوی مشخص می‌شود (۱۳). بر اساس غلظت‌های ثابت کراتینین سرم، انجمن بین‌المللی علاقه‌مندان به بیماری‌های کلیه (IRIS) سیستمی را برای تقسیم شدت CRF به چهار مرحله توسعه داده است که بر پیشرفت آسیب کلیوی تأکید دارد (۵). مرحله ۱ از ۴ بر اساس سطح کراتینین سرم کمتر از ۱.۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر است و توصیه‌های IRIS بیان می‌کند که گربه‌هایی که در مراحل ۲، ۳ و ۴ قرار دارند، آزوتمیک هستند که به ترتیب نشان‌دهنده CRF خفیف، متوسط یا شدید می‌باشد (۱۴). چگالی خاص ادرار (USG) یا اسمولالیت به طور همزمان اندازه‌گیری می‌شود، باید در هنگام تفسیر غلظت کراتینین سرم در نظر گرفته شود. در غیاب انسداد ادراری، اگر چگالی خاص ادرار بیمار کمتر از ۱.۰۳۵ باشد و سطح کراتینین سرم بیشتر از ۱.۶ میلی‌گرم/دسی‌لیتر باشد، می‌توان نتیجه گرفت که بیماری کلیوی در حال رخ دادن است (۱۵). برای هر دو بیومارکر ضروری است که حضور داشته باشند زیرا هیچ‌کدام به تنهایی به عنوان یک آزمایش غربالگری کافی برای بیماری مزمن کلیوی ثابت نشده‌اند (۱۶). اصلاح رژیم غذایی می‌تواند تأثیر بسیاری از این نارسایی‌های عملکردی را کاهش دهد، در نتیجه کیفیت زندگی بیمار را بهبود بخشیده و احتمالاً طول عمر او را افزایش دهد. اهداف درمان تغذیه‌ای شامل کاهش علائم بالینی اورمی، به حداقل رساندن عدم تعادل‌های الکترولیتی و معدنی، بهینه‌سازی تغذیه و

ردیف	نام نویسنده	موضوع پژوهش	سال انتشار
۱	A. Knudtsen	Evaluation of Feeding Regimes Used for Cats Suffering from Renal Failure	۲۰۲۳
۲	P. J. Markwell	Dietary management of renal failure in the dog and cat	۱۹۹۸
۳	Polzin و همکاران	Dietary management of feline chronic renal failure: where are we now? In what direction are we headed?	۲۰۰۰
۴	D. A. Elliott	Nutritional management of chronic renal disease in dogs and cats	۲۰۰۶
۵	M. Cline	Nutritional management of chronic kidney disease in cats & dogs	۲۰۱۶
۶	B. Dobenecker و همکاران	Effect of a high phosphorus diet on indicators of renal health in cats	۲۰۱۸
۷	S. J. Ross و همکاران	Clinical evaluation of dietary modification for treatment of spontaneous chronic kidney disease in cats	۲۰۰۶
۸	L. Danks	The nutritional management of feline chronic kidney disease	۲۰۱۵
۹	S. Collins	The role of nutrition in the management of cats and dogs with renal disease	۲۰۱۶
۱۰	D. Vergnano و همکاران	Effectiveness of a feed supplement in advanced stages of feline chronic kidney disease	۲۰۱۶

جدول ۱- مقاله‌های اصلی مورد استفاده در این پژوهش

معتقدند که حفظ هیدراتاسیون (که می‌تواند از جریان خون کلیوی پشتیبانی کند) و نیز استفاده از درمان مایعات می‌تواند در اصلاح اختلالات الکترولیتی و اسید-باز و همچنین در رقیق‌سازی سموم اورمیک مفید باشد. بیمارانی که با نارسایی مزمن کلیوی ناپایدار مراجعه می‌کنند ممکن است نیاز به بستری شدن برای دریافت مایعات وریدی داشته باشند تا وضعیت هیدراتاسیون مناسب و اصلاح اختلالات احتمالی الکترولیتی یا اسید-باز حاصل شود (۱۸). در بیمارانی که از طریق لوله تغذیه می‌شوند، خود رژیم غذایی دارای محتوای رطوبتی بالاست، بنابراین تا زمانی که تعادل الکترولیتی و اسید-باز بیمار پایدار است، می‌توان نیاز روزانه به آب را تنها از طریق تغذیه انترال (لوله‌ای) تأمین کرد و نیازی به درمان وریدی نخواهد بود (۱۸). تجویز آب از طریق لوله تغذیه ممکن است در بسیاری موارد نسبت به مایعات زیرجلدی ترجیح داده شود (۱۸).

پروتئین

رژیم‌های غذایی محدودشده پروتئین برای مدت طولانی برای مدیریت نارسایی کلیوی مزمن در گربه‌ها توصیه شده است، زیرا کاهش سطوح پروتئین منجر به کاهش هر دو ضایعات نیتروژنی و پروتئینوری گلوмерولی می‌شود. ضایعات نیتروژنی به بروز علائم بالینی مرتبط با آزوتیمیا و اورمیا کمک می‌کنند، بنابراین باید این مواد زائد کاهش یابند. با این حال، مطالعاتی که اخیراً انجام شده است، نشان می‌دهد که پروتئین کم در رژیم غذایی همیشه ممکن است در درمان گربه‌های مبتلا به CRF مفید نباشد (۱۹). سطوح بالای پروتئین همچنین باعث تشکیل اوره می‌شود که یک

محدود کردن پیشرفت آسیب کلیوی است (۱۷). رژیم‌های غذایی مدرن برای گربه‌های مبتلا به نارسایی کلیوی به گونه‌ای طراحی شده‌اند که اثرات اختلال در عملکردهای دفعی، تنظیمی و سنتر زیستی را که در این بیماران دیده می‌شود، به حداقل برسانند. علاوه بر محدود کردن پروتئین رژیم غذایی با هدف کاهش تجمع مواد زائد نیتروژنی حاصل از کاتابولیسم پروتئین که با علائم اورمی در ارتباط است، رژیم‌های مخصوص نارسایی کلیوی همچنین طوری تغییر یافته‌اند که عوارض اختلال در عملکرد تنظیمی کلیه‌ها (مانند احتباس فسفر، سدیم و یون‌های هیدروژن و نیز از دست دادن بیش از حد پتاسیم) را کاهش دهند (۱۷).

آب

آب اغلب در هنگام بحث در مورد تغذیه ذکر نمی‌شود، چون به طور جداگانه از غذا در اختیار حیوان قرار می‌گیرد. با این حال، هیدراتاسیون در بیماران کلیوی بسیار مهم است، چراکه آن‌ها توانایی کاهش‌یافته‌ای در تغلیظ ادرار دارند و در ترکیب با کاهش دریافت آب به دلیل بی‌اشتهایی، این موضوع آن‌ها را بیشتر مستعد کم‌آبی می‌سازد. بیماران مبتلا به بیماری کلیوی باید به نوشیدن آب بیشتر تشویق شوند، چه از طریق افزایش میل طبیعی به نوشیدن آب، چه از طریق افزودن آن به رژیم غذایی (۱۸). اگرچه تاکنون هیچ مطالعه‌ای به طور قطعی مزایای حفظ هیدراتاسیون در بیماران مبتلا به نارسایی مزمن کلیوی (CRF) را تأیید نکرده، انجمن جهانی پزشکی گربه‌ها (ISFM) آن را بخش حیاتی از مدیریت بیماری می‌داند (اسپارکز و همکاران، ۲۰۱۶). آن‌ها

کافی است. با این حال، توانایی کلیه در سازگاری با تغییرات مصرف سدیم به تدریج محدود می‌شود (۲۲). فشار خون بالا، جایی که رخ می‌دهد، ممکن است به دو دلیل مهم باشد (۱۰): الف) می‌تواند منجر به عواقب پاتوفیزیولوژیک متنوعی از جمله هایپرتروفی بطن چپ، اختلالات عصبی و ضایعات چشمی شود. ب) می‌تواند به پیشرفت آسیب کلیوی کمک کند. کاهش فشار خون در بیمارانی که فشار خون بالا دارند، بنابراین هدف درمانی مطلوبی است (۱۰). گزارش شده است که گسترش حجم مایع خارج سلولی، فشار خون بالا و ادم ممکن است در سگ‌های اورمیک که دریافت سدیم نرمال یا بالا دارند، رخ دهد (۱۰). این یافته‌ها نشان می‌دهند که توصیه سنتی به مکمل‌سازی با سدیم برای بیشتر موارد CRF مناسب نیست (۱۰). از طرف دیگر، باید از محدودیت شدید سدیم نیز اجتناب کرد. این امر می‌تواند در برخی سگ‌ها با CRF که قادر به سازگاری با تغییرات مصرف سدیم نیستند، باعث کاهش حجم و کم‌آبی شود. این ممکن است به کاهش ظرفیت جذب بی‌کربنات منجر شود و به اسیدوز متابولیک کمک کند. با این حال، این اثر در زمان تغذیه رژیم‌های غذایی با سدیم ۰/۲۵٪ ماده خشک مشاهده نشد (۲۲، ۲۳).

پتاسیم

هیپوکالمی علت نارسایی مزمن کلیه (CRF) در گربه‌هاست، نتیجه‌ای از آن است، یا هر دو. در یک مطالعه، اختلال عملکرد کلیه در سه مورد از نه گربه مشاهده شد و نفریت بینابینی لنفوپلاسموسیتی و فیبروز بینابینی در پنج گربه از نه گربه‌ای که با رژیم غذایی محدود از نظر پتاسیم و اسیدی‌کننده تغذیه شده بودند، دیده شد (۱۷). شواهد بیشتری برای پشتیبانی از این فرضیه وجود دارد که نارسایی مزمن کلیه می‌تواند گربه‌ها را مستعد هیپوکالمی کند (۱۷). به عنوان مثال، در مطالعه‌ای در مرکز ما، چهار مورد از هفت گربه‌ای که دچار نارسایی کلیوی القایی بودند و رژیم ۰/۳٪ پتاسیم دریافت می‌کردند، به هیپوکالمی دچار شدند، در حالی که چهار گربه با عملکرد طبیعی کلیه که همان رژیم را مصرف می‌کردند، دچار هیپوکالمی نشدند (۲۴). کاهش پتاسیم و هیپوکالمی در گربه‌های مبتلا به CRF ممکن است به دلیل مصرف ناکافی پتاسیم، عوامل رژیمی، دفع بیش از حد از کلیه‌ها، یا ترکیبی از این عوامل باشد (۱۷). مصرف ناکافی پتاسیم می‌تواند نتیجه کاهش اشتها یا محتوای پایین پتاسیم در رژیم غذایی باشد (۱۷). همچنین رژیم‌هایی که اسیدی‌کننده هستند، محدود از نظر

محصول فرعی از تجزیه پروتئین است (۵). به دلیل محدودیت کلیه‌ها در دفع اوره، اوره در خون انباشته می‌شود که فشار متابولیک بیشتری بر روی کلیه‌ها وارد می‌کند و علائم بالینی مانند استفراغ، اسهال، بی‌حالی، بی‌اشتهایی، پلی‌اور و پلی‌دیپسی به همراه پروتئینوری ایجاد می‌کند (۵). با این حال، باید اطمینان حاصل کرد که منابع پروتئینی مورد استفاده در تغذیه گربه‌های مبتلا به CRF از کیفیت بالایی برخوردار باشد. منابع پروتئینی با کیفیت پایین معمولاً حاوی آمینواسیدهای غیر ضروری هستند که می‌توانند به اوره تبدیل شوند و ممکن است به علائم بالینی در بیماران مبتلا به نارسایی کلیوی مزمن پیشرفته کمک کنند (۵).

فسفر

احتباس فسفات و هایپرفسفاتمی از مراحل اولیه بیماری کلیوی هستند و نقش اصلی در ایجاد و پیشرفت هایپرپاراتیروئیدیسم ثانویه کلیوی، استئودیسτροφی کلیوی، کمبود نسبی یا مطلق ویتامین D فعال (1,25-دی‌هیدروکسی ویتامین D)، و کلسیفیکاسیون بافت نرم دارند. با به حداقل رساندن هایپرفسفاتمی، می‌توان از هایپرپاراتیروئیدیسم ثانویه و پیامدهای آن جلوگیری کرد. علاوه بر این، محدودیت فسفر رژیم نشان داده که می‌تواند پیشرفت نارسایی کلیه را در سگ‌ها و گربه‌ها کند (۲۰). در یک مطالعه روی سگ‌هایی با عملکرد کلیوی کاهش یافته (به صورت جراحی القا شده)، آن‌هایی که رژیم غذایی با فسفر پایین (۰/۴۴٪ ماده خشک) دریافت کردند، نرخ بقا ۷۵٪ داشتند، در حالی که سگ‌هایی که رژیم غذایی با فسفر بالا (۱/۴۴٪ ماده خشک) دریافت کرده بودند، فقط ۳۳٪ زنده ماندند (۲۱). با این حال، وقتی نارسایی کلیه پیشرفت می‌کند، ممکن است نگه داشتن سطح فسفر در محدوده توصیه‌شده IRIS با استفاده از رژیم غذایی تنها دشوار شود (۵). در صورتی که سطح فسفر سرم همچنان بالا باشد و چهار هفته پس از انتقال به رژیم غذایی کلیوی درمانی ادامه یابد، باید به استفاده از یک بایندر فسفات فکر کرد (۵).

سدیم

هومئوستازی سدیم عمدتاً توسط کلیه‌ها حفظ می‌شود. با کاهش GFR در وضعیت بیماری، نفرون‌های باقی‌مانده افزایش دفع نسبی سدیم را به منظور مقابله با بار افزایش‌یافته‌ای که به هر کدام وارد می‌شود، انجام می‌دهند (۱۰). به طور کلی، این پاسخ برای حفظ تعادل سدیم تا زمانی که وضعیت بیماری بسیار پیشرفته نشود،

ویتامین‌های گروه B احتمالاً مفید خواهد بود و حداقل دو برابر سطح نگهداری توصیه می‌شود (۱۰).

اسیدهای چرب امگا-۳

اشکال فعال اسیدهای چرب امگا-۳ پلی‌غیراشباع، اسید ایکوزاپنتانوئیک و اسید دکوزاهگزانوئیک، با اسیدهای چرب امگا-۶ برای جلوگیری از تولید لوکوترین‌ها و پروستاگلاندین‌های پیش‌التهابی رقابت می‌کنند (۵). مصرف بالای اسیدهای چرب امگا-۳ در رژیم غذایی نشان داده است که می‌تواند پیشرفت بیماری کلیوی را کند کرده و فشار کپسول گلومرولی، پروتئینوری و کاهش نرخ فیلتر گلومرولی را کاهش دهد (۵، ۲۶).

نتیجه‌گیری

نارسایی مزمن کلیه (CRF) یکی از شایع‌ترین بیماری‌های کلیوی در سگ‌ها و گربه‌هاست که به‌ویژه در حیوانات مسن مشاهده می‌شود و روندی پیش‌رونده دارد. تشخیص دقیق نیازمند ترکیب چندین شاخص بیوشیمیایی مانند کراتینین سرم و چگالی ادرار است. درمان تغذیه‌ای نقش مهمی در کنترل بیماری، بهبود کیفیت زندگی و افزایش بقاء دارد. رژیم‌های غذایی خاص باید محدود از نظر پروتئین، فسفر و سدیم بوده و در عین حال غنی از پتاسیم، ویتامین‌های گروه B و اسیدهای چرب امگا-۳ باشند. همچنین حفظ وضعیت هیدراتاسیون به‌عنوان بخشی حیاتی از درمان توصیه می‌شود.

منیزیم، و/یا دارای پروتئین بالا هستند، به نظر می‌رسد خطر ابتلا به هیپوکالمی را افزایش می‌دهند (۱۷). کاهش عملکرد کلیه و بی‌اشتهایی از جمله تظاهرات شایع هیپوکالمی در گربه‌های مبتلا به CRF هستند (۱۷). در بسیاری از گربه‌های مبتلا به CRF و هیپوکالمی، عملکرد کلیه همزمان با بازگشت پتاسیم خون به سطح نرمال، بهبود می‌یابد؛ این مشاهده نشان می‌دهد که هیپوکالمی ممکن است باعث کاهش برگشت‌پذیر در نرخ فیلتراسیون گلومرولی (GFR) شود (۱۷). تغذیه با رژیم‌های اسیدی‌کننده یا تجویز خوراکی مکمل‌های اسیدی به گربه‌های مبتلا به CRF ممکن است کاهش پتاسیم را تشدید کند (۱۷). اگر رژیم‌هایی که برای گربه‌های مبتلا به CRF طراحی شده‌اند نتوانند تعادل طبیعی پتاسیم را حفظ کنند، منطقی است که با پتاسیم مکمل شوند تا خطر هیپوکالمی به حداقل برسد (۱۷).

ویتامین‌های گروه B

تمایل به بروز کمبود ویتامین‌های محلول در آب در بیماران اورمیک انسانی مشاهده شده است، به‌ویژه در کسانی که مصرف رژیم غذایی ضعیفی دارند (۲۵). سگ‌ها و گربه‌ها با CRF نیز ممکن است از طریق کاهش مصرف به دلیل بی‌اشتهایی و افزایش دفع ادراری در موارد پلی‌اوری در معرض خطر کمبود ویتامین‌های محلول در آب باشند (۱۰). در صورت وجود، کمبود ویتامین‌های محلول در آب ممکن است به بی‌اشتهایی کمک کند (۱۰). بنابراین، مکمل‌سازی با

منابع

1. Ferlizza E, Campos A, Neagu A, Cuoghi A, Bellei E, Monari E, et al. The effect of chronic kidney disease on the urine proteome in the domestic cat (*Felis catus*). *The Veterinary Journal*. 2015;204(1):73-81.
2. Polzin DJ. Chronic kidney disease in small animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*. 2011;41(1):15-30.
3. Chen H, Dunaevich A, Apfelbaum N, Kuzi S, Mazaki - Tovi M, Aroch I, et al. Acute on chronic kidney disease in cats: Etiology, clinical and clinicopathologic findings, prognostic markers, and outcome. *Journal of veterinary internal medicine*. 2020;34(4):1496-506.
4. Reynolds BS, Lefebvre HP. Feline CKD: pathophysiology and risk factors—what do we know? *Journal of feline medicine and surgery*. 2013;15(1_suppl):3-14.
5. Knudtsen A. Evaluation of Feeding Regimes Used for Cats Suffering from Renal Failure 2023.
6. Schirrer L, Marín-García PJ, Llobat L. Feline polycystic kidney disease: an update. *Veterinary Sciences*. 2021;8(11):269.
7. Elliott J, Barber P. Feline chronic renal failure: clinical findings in 80 cases diagnosed between 1992 and 1995. *Journal of Small Animal Practice*. 1998;39(2):78-85.
8. Sparkes AH, Caney S, Chalhoub S, Elliott J, Finch N, Gajanayake I, et al. ISFM consensus guidelines on the diagnosis and management of feline chronic kidney disease. *Journal of feline medicine and surgery*. 2016;18(3):219-39.
9. Roudebush P, Polzin DJ, Ross SJ, Towell TL, Adams LG, Forrester SD. Therapies for feline chronic kidney disease: What is the evidence? 2009.
10. Markwell PJ. Dietary management of renal failure in the dog and cat. *FOCUS*. 1998;8(2).
11. Lulich J, Osborne C, O'Brien T, Polzin D. Feline renal failure: questions, answers, questions. 1994.
12. Paepe D, Daminet S. Feline CKD: diagnosis, staging and screening—what is recommended? *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2013;15(1_suppl):15-27.
13. Stockham SL, Scott MA. *Fundamentals of veterinary clinical pathology*: John Wiley & Sons; 2024.
14. Nelson RW, Couto CG. *Small Animal Internal Medicine-E-Book: Small Animal Internal Medicine-E-Book*: Elsevier Health Sciences; 2019.
15. Rishniw M, Bicalho R. Factors affecting urine specific gravity in apparently healthy cats presenting to first opinion practice for routine evaluation. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2015;17(4):329-37.
16. Williams T, Archer J. Evaluation of urinary biomarkers for azotaemic chronic kidney disease in cats. *Journal of Small Animal Practice*. 2016;57(3):122-9.
17. Polzin D, Osborne C, Ross S, Jacob F. Dietary management of feline chronic renal failure: where are we now? In what direction are we headed? *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2000;2(2):75-82.
18. Collins S. The role of nutrition in the management of cats and dogs with renal disease. *Veterinary Nursing Journal*. 2016;31(8):237-40.
19. Noce A, Vidiri M, Marrone G, Moriconi E, Bocedi A, Capria A, et al. Is low-protein diet a possible risk factor of malnutrition in chronic kidney disease patients? *Cell death discovery*. 2016;2(1):1-6.
20. Elliott DA. Nutritional management of chronic renal disease in dogs and cats. *Veterinary clinics: Small animal practice*. 2006;36(6):1377-84.
21. Brown SA, Crowell WA, Barsanti JA, White J, Finco D. Beneficial effects of dietary mineral restriction in dogs with marked reduction of functional renal mass. *Journal of the American Society of Nephrology*. 1991;1(10):1169-79.
22. Polzin D, Osborne C, O'Brien T. *Diseases of the kidneys and ureters*. 1989.

23. Schmidt RW, Gavellas G. Bicarbonate reabsorption in experimental renal disease: Effects of proportional reduction of sodium or phosphate intake. *Kidney International*. 1977;12(6):393-402.
24. Adams LG, Polzin DJ, Osborne CA, O'Brien TD. Effects of dietary protein and calorie restriction in clinically normal cats and in cats with surgically induced chronic renal failure. *American journal of veterinary research*. 1993;54(10):1653-62.
25. Kopple J. Chronic renal failure: nutritional and nondialytic management. *Current Therapy in Nephrology and Hypertension*. 1984;85.
26. Lenox C, Bauer J. Potential adverse effects of omega - 3 fatty acids in dogs and cats. *Journal of veterinary internal medicine*. 2013;27(2):217-26.

A Novel Review on the Role of Nutrition in the Management of Chronic Kidney Failure

Saba Bonyadi Dehkordi^{*1}, Mahan Yaghmaee¹ , Arash Hosseini¹

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

^{*}Corresponding author: Mahanyh79@gmail.com

Abstract

Chronic Renal Failure (CRF) is one of the most common diseases in older cats. Its exact cause is often unknown, but it can be congenital or acquired. Clinical signs such as anorexia, weight loss, vomiting, and lethargy are non-specific, and diagnostic tests like blood urea nitrogen (BUN) levels and urine specific gravity measurements are essential for diagnosis. The role of nutrition in managing this disease is crucial. A specific diet can help reduce symptoms and increase the animal's lifespan. This review article, based on 18 scientific sources, examines the nutritional factors effective in controlling CRF. Adequate hydration is vital due to the kidneys' reduced ability to concentrate urine. Restricted, high-quality protein intake can help prevent uremia. Phosphorus restriction aids in preventing hyperphosphatemia and further kidney damage. High sodium levels can lead to hypertension and cardiovascular damage, so sodium intake should be limited. Maintaining appropriate levels of potassium and B vitamins is also important to prevent complications arising from decreased appetite and excessive urination. The addition of omega-3 fatty acids to the diet can also help preserve kidney function by reducing inflammation. Overall, the use of specialized therapeutic diets plays a significant role in managing and improving the condition of cats with CRF.

Keywords: Chronic kidney failure, CRF, nutrition, role of nutrition, cat

بررسی اثر اسانس نانولیپوزومی زیره سبز بر ماندگاری فیله شترمرغ تازه در شرایط بسته‌بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده

لیلا نیک روان^{۱*}، رویا ذکاوتی^۲، سروش آخوندزاده^۳، سبا بنیادی دهکردی^۴

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

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده مامایی و پرستاری، واحد اهواز، دانشگاه آزاد اسلامی، خوزستان، ایران

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

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

*نویسنده مسئول: ۱۷۵۷۲۰۱۱۵۷@iaui.ir

چکیده

طی سال های اخیر، تولیدکنندگان مواد غذایی به منظور افزایش مدت زمان نگهداری گوشت در دمای پایین، توجه ویژه ای به استفاده از نگهدارنده های طبیعی با منشأ گیاهی به جای نگهدارنده های شیمیایی در محصولات خود نموده اند. هدف از پژوهش حاضر، بررسی اثر اسانس نانولیپوزومی زیره سبز بر ماندگاری فیله شترمرغ تازه در شرایط بسته بندی معمولی و اتمسفر اصلاح شده است. بدین منظور نمونه ها به طور تصادفی در ۶ گروه تقسیم و تیمارهای مورد نظر با ۳ تکرار به دو صورت (معمولی و MAP) تهیه شد. نمونه های گوشت درون محلول های مورد نظر جهت غوطه وری قرار گرفت. سپس هر قطعه گوشت به طور جداگانه در یک ظرف پلی اتیلنی استریل شده به وسیله ی اشعه ی UV قرار و در انتها با استفاده از بسته بندی معمولی و بسته بندی تحت شرایط MAP در پوشش مخصوص دستگاه MAP تهیه شد و بسته ها در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتی گراد نگهداری شد. آزمایش ها در روزهای (۰، ۳، ۹، ۱۵، ۲۱ و ۲۷) انجام و آنالیزهای میکروبی شامل (شمارش باکتری های مزوفیل، سرما دوست، اسید لاکتیک و کپک و مخمر و آزمون های و شیمیایی شامل (ازت آزاد فرار، تیوباریتوریک اسید، پراکسید و pH) بر روی نمونه ها انجام شد. نتایج نشان داد استفاده از اسانس زیره سبز موجب کاهش بار میکروبی باکتری های هوازی کل، کپک و مخمر، باکتری های لاکتیک اسید و باکتری های سایکروفیل شد و اسانس های به فرم نانولیپوزوم کارایی بالاتری را در کاهش بار میکروبی در تمام میکروارگانیسم های بررسی شده داشت. پارامترهای مرتبط به اکسیداسیون گوشت شترمرغ نیز نشان داد که نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل یافته در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین میزان پارامترهای اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل را داشت.

کلمات کلیدی: اتمسفر اصلاح شده، اسانس زیره سبز، فیله شتر مرغ، نانولیپوزوم، ماندگاری

مقدمه

واژه «meat» به طور معمول به تمام بخش‌های مصرف‌شدنی حیواناتی گفته می‌شود که برای تولید غذای موردنیاز انسان استفاده می‌شوند؛ بنابراین گوشت مجموعه‌ای از بافت‌های عضلانی - اسکلتی لاشه ی دام و طیور کشتاری است که با بافت‌های چربی و پیوندی مربوطه همراه است و از جمله مهم‌ترین منابع پروتئینی به شمار می‌رود و غنی از اسیدهای آمینه ضروری برای بدن، مواد معدنی مانند آهن و روی، انواع ویتامین‌ها و همچنین انرژی کافی است که سبب می‌شود تا در زمره بهترین و کامل‌ترین مواد غذایی طبقه‌بندی شود. اما مهم‌ترین چالش گوشت، فسادپذیری زیاد آن است که از جنبه سلامت و کیفیت آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. شترمرغ بزرگ‌ترین پرند زنده و متعلق به خانواده سینه پنهان است و در بیشتر کشورهای جهان به‌منظور تولید گوشت پرورش می‌یابد گوشت شترمرغ به‌جای اینکه شبیه مرغ باشد، گوشت قرمز است و از نظر طعم و بافت بسیار شبیه گوشت گاو است.

گوشت شترمرغ به‌عنوان یکی از بهترین گوشت‌های قرمز سالم به بازار عرضه می‌شود؛ چون دارای اسیدهای چرب اشباع نشده بالا، میزان اسیدهای چرب اشباع کم و سطح کلسترول پایین در مقایسه با گوشت قرمز، مانند گوشت گاو است، درحالی‌که طعم آن شبیه گوشت گاو بدون چربی است. طی چندین سال، جهت افزایش مدت‌زمان نگهداری در دماهای پایین، افزودنی‌های سنتزی زیادی بکار گرفته شده‌اند (Hyldgaard et al., ۲۰۱۲). افزودنی‌های سنتزی دارای خواص سرطان‌زایی و سمیت بسیار زیادی هستند؛ بنابراین به منظور کاهش نگرانی‌های مصرف‌کنندگان از مصرف چنین افزودنی‌های مضر، تقاضا جهت گوشت و محصولات گوشتی سالم و بدون ضرر استفاده از افزودنی‌های غذایی طبیعی افزایش یافته است. ماندگاری گوشت به طور قابل‌ملاحظه‌ای متأثر از نحوه ذبح و کیفیت استحصال و عرضه گوشت است چرا که در طی این مراحل بار میکروبی اولیه گوشت در نتیجه آلودگی با پوست دام، محتویات روده و آب مورد استفاده در ذبح و استحصال دام در ایران در کشتارگاه‌های سنتی انجام می‌شود. در دهه اخیر تولیدکنندگان مواد غذایی توجه زیادی به استفاده از مواد نگهدارنده‌های طبیعی با منشأ گیاهی به‌جای نگهدارنده‌های شیمیایی و خطرناک در محصولات خود نموده‌اند. بیشتر اسانس‌های گیاهی به دلیل داشتن ترکیبات فیتوشیمیایی از قبیل

ترکیبات فنولی، فعالیت آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی نشان می‌دهند. ترکیبات پلی‌فنولی انواعی از آنتی‌اکسیدان‌ها هستند که در جلوگیری از بیماری‌های مختلف از جمله سرطان‌ها نقش دارند، این ترکیبات بسیار متنوع و زیاد هستند و اثرات متفاوتی دارند که با بهره‌گیری از این خصوصیت‌ها، محققین سعی درافزایش مدت‌زمان ماندگاری گوشت‌های مختلف و تازه دارند. (Aalami et al, ۲۰۰۱, ۲۰۰۲).

مواد و روش‌ها

گوشت شترمرغ، محیط کشت پپتون واتر محیط کشت پلیت کانت آگار، محیط YGC آگار، محیط کشت MRS، محلول‌تری کلرو استیک اسید ۱۰ درصد، محلول سود یک نرمال، محلول اسید استیک، اسید بوریک ۲ درصد، محلول تیوباربیتوریک اسید ۰/۲ مولار، معرف توشیرو (حاوی ۰/۱ درصد متیل رد و ۰/۱ درصد بروموکروزول گرین در اتانول می‌باشد)، کاتالیزور اکسید منیزیم، گلیسرین، اسانس زیره سبز (اسانس روغنی، شرکت باریج)، پلی سوربات، اتانول ۹۶ درجه، فسفاتیدیل کولین، کلسترول، یدورپتاسیم، کلروفرم، هیپوسولفیت سدیم، متانول، آب مقطر

وسایل موردنیاز

دستگاه بسته‌بندی MAP (کیان صنعت، ایران)، دستگاه استومیکر، دستگاه همزن برقی (مخلوط‌کن، پارس‌خزر)، همزن مغناطیسی، آون، ترازوی دیجیتالی، دستگاه کلدال اتوماتیک (بخشی، ۷۴۰، ایران)، دستگاه ماکروکلدال، دستگاه روتاری، دستگاه طیف‌سنج نوری pH متر دیجیتالی، دستگاه روتاری، پلاستیک بسته‌بندی MAP پلی‌اتیلنی (مهراتراپلاست، ایران)، کاغذ صافی واتمن شماره ۴۱، کیسه پلاستیکی استریل، پلیت استریل، پلیت شیشه‌ای، استوانه مدرج، ارلن ۲۵۰ و ۵۰۰ سی‌سی، بورت، پنس و قیچی استریل، استوانه مدرج استریل، اتوکلاو، انکوباتور، آون، پرل شیشه‌ای، بالن شیشه‌ای، پنبه، سمپلر، سرسمپلر ۱۰۰ و ۱۰۰۰ لاند استریل

تهیه فیله شترمرغ و تیمارها

به میزان کافی فیله شترمرغ تازه باتوجه‌به تاریخ کشتار روز از بازار تهیه شد. فیله‌ها با وزن ۱۲۰-۱۰۰ گرم جهت عملیات تیمارها آماده‌سازی شدند. بدین ترتیب که پس از شست‌وشوی فیله‌ها با آب

۴- تیمار فیله شترمرغ تازه بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

۵- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

۶- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده تحت اتمسفر اصلاح یافته

نمونه‌برداری و انجام آزمون‌ها

نمونه‌برداری و انجام آزمایش‌ها در زمان‌های مشخص ۰، ۳، ۹، ۱۵، ۲۱ و ۲۷ روز انجام و آنالیزهای میکروبی و شیمیایی به شرح ذیل بر روی نمونه‌ها انجام خواهد گرفت. نمونه‌برداری به‌صورت کاملاً تصادفی و آزمایش‌ها با ۳ بار تکرار انجام خواهند شد (محمدی و همکاران، ۱۳۹۵).

آزمون‌های میکروبی

شمارش کلی باکتری‌های مزوفیل

بدین منظور ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ به ۹۰ میلی لیتر پپتون-آب ۰.۱٪ اضافه خواهد شد و در مخلوط کن به مدت ۳ دقیقه میکس خواهد شد. سپس نسبت به تهیه سریال رقت‌های ده تایی اقدام می‌گردد. سپس ۰/۱ میلی لیتر از هر سریال رقت ده تایی نمونه به پلیت جداگانه حاوی محیط کشت استاندارد پلیت کانت آگار اضافه و به‌صورت کشت سطحی اقدام خواهد شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه خواهند شد و سپس نسبت به شمارش تعداد کلنی‌ها اقدام خواهد شد (APHA et al., ۱۹۹۲).

شمارش کلی باکتری‌های سرمادوست

به منظور شمارش باکتری‌های مزوفیل، مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ توزین و به ۹۰ میلی لیتر پپتون-آب ۰.۱٪ اضافه خواهد شد و توسط مخلوط کن به خوبی مخلوط خواهد شد. از سوسپانسیون تهیه شده برای تهیه رقت‌های سریالی ده‌تایی استفاده می‌شود. سپس مقدار ۰/۱ میلی لیتر از هر نمونه به پلیت حاوی محیط کشت استاندارد پلیت کانت آگار اضافه و به‌صورت کشت سطحی اقدام خواهد شد. پلیت‌ها به مدت ۷ روز در دمای

فراوان، آن‌ها را جهت آب‌کشی بر روی آبکشی‌های پلاستیکی که از قبل با اشعه UV استریل شده‌اند قرار دادند تا آب اضافی آن‌ها خارج شود. سپس فیله‌ها در ۴ گروه تقسیم کرده و تیمارهای موردنظر را به شرح ذیل بر روی آن‌ها انجام گرفت (لنگرودی و همکاران ۱۳۹۶).

آماده سازی نانولیپوزوم حاوی اسانس زیره سبز

اسانس زیره سبز از طریق شرکت باریج اسانس تهیه خواهد شد. برای تولید نانولیپوزوم‌های حاوی اسانس زیره سبز از روش ethanol injection استفاده می‌شود. ابتدا ۱۰ میلی گرم بر میلی لیتر فسفولیپید، ۵ میلی گرم بر میلی لیتر کلسترول و مقادیر موردنظر از غلظت اسانس زیره سبز در ۱۰ میلی لیتر اتانول حل می‌گردد و توسط همزن مغناطیسی هم زده می‌شود. سپس به داخل ۲۰ میلی لیتر فاز آبی که بر روی همزن مغناطیسی با دور rpm ۴۰۰ قرار دارد، تزریق شد. پس از تشکیل لیپوزوم‌ها، محلول به مدت ۱۵ دقیقه دیگر بر روی هم زن هم زده شد و در نهایت با استفاده از روتاری در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد، فاز آبی و اتانول جدا گردید. سوسپانسیون حاوی اسانس نانولیپوزومی در دمای یخچال نگهداری شد (Sebaaly et al., ۲۰۱۵).

تیمار سازی

با در نظر گرفتن یک گروه شاهد برای هر نوع بسته‌بندی (معمولی و MAP)، نمونه‌ها به طور تصادفی در ۶ گروه تقسیم و تیمارهای موردنظر با ۳ تکرار به شرح ذیل روی آن‌ها انجام می‌شود. پس از بیرون آوردن نمونه‌ها از محلول‌های مورد استفاده جهت غوطه‌وری، کلیه ی نمونه‌ها مدتی در زیر هود قرار خواهند گرفت تا خشک شوند. سپس هر قطعه گوشت به طور جداگانه در یک ظرف پلی‌اتیلنی استریل شده به وسیله ی اشعه ی UV قرار داده شده نسبت به بسته‌بندی معمولی و بسته‌بندی تحت شرایط MAP در پوشش مخصوص دستگاه MAP اقدام می‌گردد و بسته‌ها در یخچال با دمای 4 ± 1 درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شوند.

- ۱- تیمار فیله شترمرغ تازه بسته‌بندی شده معمولی
- ۲- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده معمولی
- ۳- تیمار فیله شترمرغ تازه حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره سبز بسته‌بندی شده معمولی

نموده و با محلول هیپو سولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیترا گردید. عدد پراکسید عبارت است از مصرف هیپوسولفیت سدیم برحسب سانتی متر مکعب که هرگاه این عدد در ۲ ضرب گردد. عدد پراکسید برحسب میلی اکسی والان پراکسید برای هزار گرم ماده چربی به دست می آید (Coban, O. ۲۰۱۷).

اندازه گیری میزان ازت آزاد فرار

برای اندازه گیری میزان کل ازت آزاد فرار، مقدار ۱۰ گرم از نمونه فیله شترمرغ، ۲ گرم اکسید منیزیم (کانالیزور)، ۱۰ میلی لیتر ضد کف و ۳۰۰ میلی لیتر آب مقطر به بالن کلدال اضافه خواهد شد. درون ارلن ۲۵۰ میلی لیتری گیرنده، مقدار ۱۰ میلی لیتر اسید بوریک ۲ درصد و ۲ قطره معرف متیل رد ریخته خواهد شد و نسبت به بستن ست تقطیر کلدال اقدام می شود. با روشن کردن دستگاه و گذشت ۲۰ دقیقه زمان از به جوش آمدن بالن، نسبت به خاموش کردن دستگاه و انجام تیتراسیون ارلن گیرنده با اسید سولفوریک ۰/۱ نرمال اقدام خواهد شد. در نهایت میزان ازت آزاد فرار مورد محاسبه قرار می گیرد (Molae Aghae et al., ۲۰۱۷).

اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید

برای اندازه گیری تیوباربیتوریک اسید، مقدار ۲۰۰ میلی گرم از نمونه هموزن شده فیله شترمرغ به یک بالن ۲۵ میلی لیتر انتقال داده خواهد شد و با ۱-ب و تانول به حجم رسانده می شود و ۵ میلی لیتر از این مخلوط به معرف تیوباربیتوریک اسید اضافه خواهد شد. لوله های فوق به مدت ۲ ساعت در حمام آب ۹۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس تا دمای محیط سرد خواهد شد و جذب نوری آن ها به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر قرائت خواهد شد. در نهایت شاخص تیوباربیتوریک اسید مورد محاسبه قرار می گیرد (Giovanna et al., ۲۰۱۴).

اندیس پراکسید

۵ گرم نمونه هموزن شده فیله شترمرغ در ارلن مایر شیشه ای ۲۵۰ میلی لیتری وزن خواهد شد و ۲۵ میلی لیتر محلول اسید استیک کلروفرم با نسبت ۲:۳ به محتویات ارلن اضافه خواهد شد. سپس ۰/۵ میلی لیتر محلول یدور پتاسیم اشباع، ۳۰ میلی لیتر آب مقطر و ۰/۵ میلی لیتر محلول نشاسته ۱٪ به محتویات ارلن اضافه خواهد شد. مقدار ید آزاد شده با محلول تیوسولفات سدیم ۰/۰۱ نرمال

۱۰ درجه سانتیگراد آنکوبه خواهند گردید و و سپس نسبت به شمارش تعداد کلنی ها اقدام خواهد شد (APHA et al., ۱۹۹۲).

شمارش باکتری های اسید لاکتیک

به منظور شمارش باکتری های اسید لاکتیک، مقدار ۰/۱ میلی لیتر از سریال رقت های تهیه شده در مراحل قبل را به پلیت های حاوی محیط MRS آگار اضافه و به صورت کشت سطحی اقدام شد. پلیت ها به مدت ۷۲ ساعت (۳ روز) در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد در اتمسفر هوای گرمخانه گذاری شدند و سپس تعداد پرگنه ها در هر پلیت شمارش شد (Doulgeraki et al., ۲۰۱۰). بعد از این مدت اقدام به شمارش تعداد کلنی ها گردید و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش گردید (Doulgeraki و ۲۰۱۰).

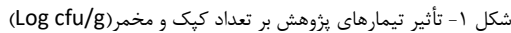
شمارش کپک و مخمر

برای شمارش کپک و مخمر، ۰/۱ میلی لیتر از سریال رقت های تهیه شده به پلیت حاوی محیط کشت جامد عصاره مخمر آگار اضافه و به صورت کشت سطحی اقدام شد. برای شمارش کپک و مخمر (Petrov و ۲۰۱۲) از محیط کشت YGC استفاده شد و به مدت ۵ روز در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد گرمخانه گذاری شدند. سپس اقدام به شمارش تعداد کلنی ها گردید و نتایج حاصل بر اساس لگاریتم واحد تشکیل دهنده کلنی بر گرم گزارش گردید (Petrov و ۲۰۱۲).

آزمون های شیمیایی

اندازه گیری پراکسید (PV)

جهت اندازه گیری عدد پراکسید مقدار یک گرم روغن استخراج شده از گوشت شترمرغ با حلال کلروفرم متانول را در یک لوله آزمایش خشک و تمیز وزن نموده و یک گرم یدور پتاسیم به شکل پودر به آن افزوده و ۲۰ سانتی متر مکعب از محلول استیک اسید و کلروفرم به آن اضافه گردید. لوله آزمایش را در یک بشر آب در حال جوش قرار داده تا حدود ۳۰ ثانیه جوشانده شد. سپس محتوی لوله آزمایش سریعاً درون ارلن مایر ۲۰ سانتی متر مکعب محلول یدور پتاسیم ۵ درصد ریخته و لوله آزمایش را دو بار، هر دفعه با ۲۵ سانتی متر مکعب آب شسته و به ارلن مایر اضافه نموده و با محلول هیپوسولفیت سدیم ۱/۵۰۰ نرمال تیترا گردید

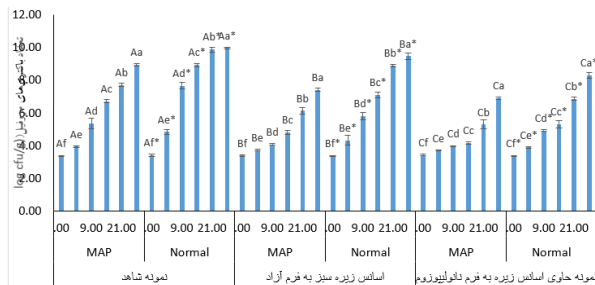


pH

نتایج

[illegible]

جدول ۱- نتایج تجزیه و تحلیل واریانس پارامترهای میکروبی



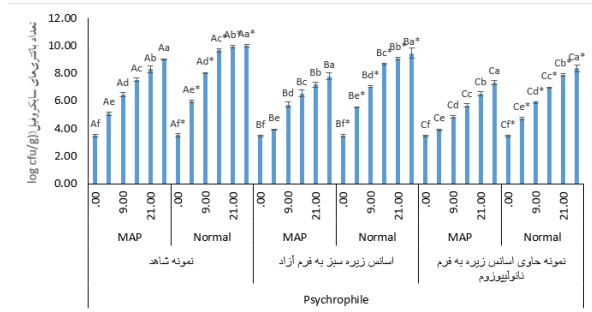
شکل ۲- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های مزوفیل (Log cfu/g)

است ($p \leq 0.05$). همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های گوشت شترمرغ، در تمام نمونه‌های حاوی اسانس آزاد و اسانس به فرم نانولیپوزوم و همچنین نمونه‌های شاهد، تعداد باکتری‌های مزوفیل افزایش یافته است که این افزایش نیز در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). اختلاف بین میانگین نمونه‌های آزمون تحت تأثیر شرایط انبارش با آزمون تی^۱، نیز نشان داد که نمونه‌های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته نسبت به شرایط معمولی انبارش تعداد باکتری‌های مزوفیل کمتری را داشته است ($p \leq 0.05$). باتوجه به مطالب بیان شده و همچنین شکل ۲، مشخص شد که بیشترین آلودگی به باکتری‌های مزوفیل متعلق به نمونه شاهد در روز ۱۲۷م آزمون و در شرایط انبارش معمولی بوده است و کمترین تعداد باکتری‌های مزوفیل را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم، در شرایط انبارش با اتمسفر تعدیل یافته و در روز صفر آزمون داشته است. بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g) جدول ۱ نشان داد که تأثیر تیمارهای استفاده از اسانس، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش به صورت مستقل و برهمکنش بر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید تأثیر معنی‌دار داشته است ($p \leq 0.05$)؛ که به منظور بررسی تغییرات بین نمونه‌ها، آزمون مقایسه میانگین دانکن انجام شد و نتایج به صورت شکل ۳ ارائه شده است. نتایج شکل ۳ نشان می‌دهد که نمونه‌های تیمار شده با اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد، تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) کمتری را داشته است که این کاهش در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$)؛ همچنین مشخص

در شکل ۱ مشخص شد که نمونه‌های کنترل بیشترین میزان آلودگی به کپک و مخمر را داشته‌اند و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به صورت نانولیپوزوم کمترین میزان کپک و مخمر را داشته است؛ اختلاف بین نمونه‌های پژوهش تحت تأثیر تیمار مستقل استفاده از اسانس معنی‌دار گزارش شده است ($p \leq 0.05$). همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری نمونه‌های گوشت شترمرغ میزان آلودگی به کپک و مخمر در سطح آماری ۹۵٪ به صورت معنی‌دار افزایش یافته است ($p \leq 0.05$)، و همان گونه که در شکل ۱ نیز نشان داده شده است در تمام نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی فرم آزاد اسانس زیره سبز و نمونه‌های حاوی فرم نانولیپوزوم اسانس زیره سبز، با افزایش مدت زمان نگهداری، آلودگی به کپک و مخمر افزایش معنی‌دار یافته است ($p \leq 0.05$). تأثیر نوع انبارش نیز بر تعداد کپک و مخمر شمارش شده معنی‌دار بوده است به گونه‌ای که نمونه‌های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده، نسبت به شرایط معمول انبارش، به طور معنی‌دار تعداد کپک و مخمر کمتری را نشان داده است ($p \leq 0.05$). باتوجه به شکل ۱ بیشترین میزان آلودگی به کپک و مخمر مربوط به نمونه شاهد در روز ۱۲۷م آزمون و در شرایط انبارش معمولی بوده است که (Log cfu/g) ۸/۲ را نشان داده است و کمترین تعداد کپک و مخمر مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون بوده است که در شرایط اتمسفر تعدیل یافته نگهداری شده است، تعداد شمارش شده برای این نمونه برابر با (Log cfu/g) ۲ بوده است. بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های مزوفیل تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g). نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تأثیر تمام پارامترهای پژوهش (استفاده از اسانس زیره سبز، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش) بر تعداد باکتری‌های مزوفیل (Log cfu/g) نمونه‌های گوشت شترمرغ در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). آزمون مقایسه میانگین دانکن به منظور بررسی‌های بیشتر انجام و در شکل ۲ گزارش شده است.

در شکل ۲ نشان داده شده است که نمونه‌های تیمار شده با اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد، کمترین تعداد باکتری‌های مزوفیل را داشته‌اند، که این کاهش به صورت آماری معنی‌دار بوده

است (جدول ۱). بررسی‌های بیشتر با اجرای آزمون دانکن صورت گرفت و نتایج به صورت شکل ۴ بیان شده است. شکل ۴ نشان داد که نمونه‌های گوشت شترمرغ حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم نسبت به سایر نمونه‌های شاهد و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد، کمترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) را داشته است ($p < 0.05$)، در مقایسه‌ی نمونه‌ها تحت تأثیر تیمار مدت‌زمان نگهداری نیز مشخص شد که با



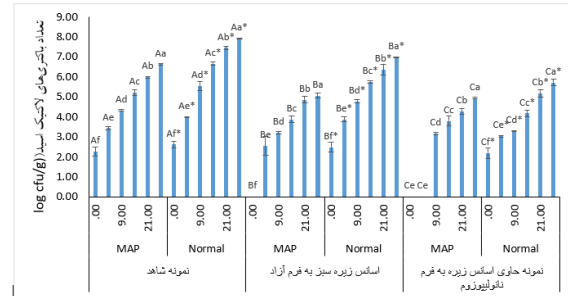
شکل ۴- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g)

افزایش مدت‌زمان نگهداری تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) به طور معنی‌دار در تمام نمونه‌ها افزایش یافته است ($p < 0.05$)، بررسی مقایسه‌ی میانگین بین نمونه‌های آزمون با در نظر گرفتن تأثیر شرایط انبارش به صورت مستقل نیز نشان داد که نمونه‌های انبارش شده در اتمسفر تعدیل یافته نسبت به اتمسفر معمولی تعداد باکتری‌های سایکروفیل (Log cfu/g) کمتری را در سطح آماری ۹۵ درصد به صورت معنی‌دار داشته است ($p < 0.05$). کمترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر تعدیل شده داشته است و بیشترین تعداد باکتری‌های سایکروفیل نیز مربوط به نمونه‌های شاهد، در روز ۲۷ آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر معمولی را داشته است ($p < 0.05$).

بررسی تغییرات پارامترهای شیمیایی تحت تأثیر متغیرهای

مستقل پژوهش (Log cfu/g)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس در جدول ۲ بیان شده است، نتایج جدول ۲ نشان داد که تغییر در متغیرهای مستقل پژوهش منجر به تأثیر معنی‌دار در پارامترهای شیمیایی شده است ($p < 0.05$)



شکل ۳- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g)

شد که کمترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید را نمونه‌های آزمون شده در روز صفر آزمون داشته است که با سایر روزهای آزمون تفاوت آماری معنی داری را نشان داده است ($p < 0.05$)؛ تأثیر شرایط انبارش نیز بررسی و مشخص شد که نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) کمتری را داشته است ($p < 0.05$)، به گونه‌ای که نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر و سوم آزمون، لگاریتم تعداد باکتری‌هایی برابر با صفر را داشته است. با توجه به نتایج بیان شده، بیشترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) مربوط به نمونه شاهد در روز ۲۷ آزمون و در شرایط انبارش نگهداری شده در اتمسفر معمولی بوده است و کمترین تعداد باکتری‌های لاکتیک اسید (Log cfu/g) را نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم آزاد و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته در روز صفر و سوم آزمون، داشته است که این اختلاف با سایر نمونه‌های آزمون معنی‌دار بوده است ($p < 0.05$).

بررسی تغییرات پارامتر تعداد باکتری‌های سایکروفیل

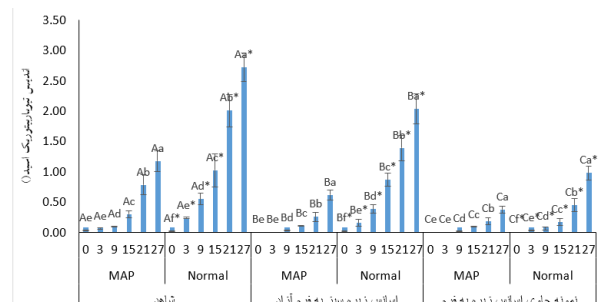
تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (Log cfu/g)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داده است که تمام تیمارهای مستقل پژوهش به صورت مستقل و بر همکنش بر تعداد باکتری‌های سایکروفیل نمونه‌های گوشت شترمرغ تأثیر معنی‌دار داشته

که این تغییرات با آزمون دانکن مورد بررسی قرار گرفت و در ادامه بیان شده است.

بررسی تغییرات پارامتر اندیس تیوباریتوریک اسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (TBA)

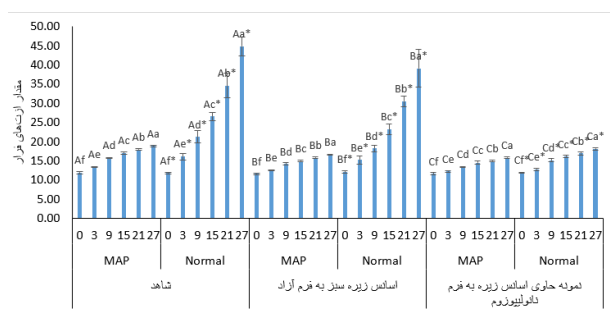
همان گونه که در جدول ۲ نشان داده شده است، تغییر در متغیرهای استفاده از اسانس زیره سبز، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش بر اندیس تیوباریتوریک اسید تأثیر معنی دار داشته است ($p \leq 0.05$) که در شکل ۵ جزئیات این تغییرات بیان شده است. همان گونه که شکل ۵ نشان می دهد کمترین میزان اندیس تیوباریتوریک را نمونه ای حاوی اسانس های زیره سبز به فرم لیپوزوم داشته است و نمونه های کنترل بیشترین میزان اندیس تیوباریتوریک را داشته است که اختلاف مشاهده شده در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی دار است ($p \leq 0.05$). همچنین با استاندارد



شکل ۵- تأثیر تیمارهای پژوهش بر اندیس تیوباریتوریک

از شکل ۴ می توان بیان داشت که با افزایش مدت زمان نگهداری میزان اندیس تیوباریتوریک اسید افزایش معنی دار یافته است ($p \leq 0.05$)، نتایج آزمون تی نیز نشان داده است که نمونه های انبارش شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده در مقایسه با نمونه های انبارش شده در اتمسفر معمولی، کمترین میزان اندیس تیوباریتوریک را داشته است ($p \leq 0.05$). با توجه به نتایج شکل ۴ مشخص است که نمونه گوشت شترمرغ فاقد اسانس و نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون بیشترین اندیس تیوباریتوریک اسید را داشته است و کمترین اندیس تیوباریتوریک مربوط به نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و در روز صفر و سوم آزمون در شرایط اتمسفر تعدیل یافته و در روز صفر در شرایط اتمسفر معمولی می باشد که این اندیس برابر با صفر گزارش شده است. بررسی تغییرات پارامتر

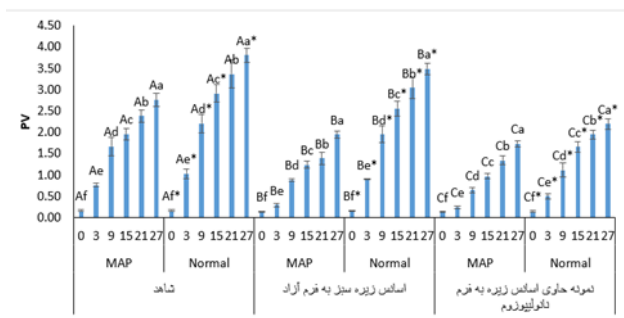
ترکیبات ازت فرار تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش در جدول ۲ بیان شد که تأثیر تیمارهای استفاده از اسانس، مدت زمان نگهداری و شرایط انبارش به صورت مستقل و متقابل بر میزان ترکیبات ازت فرار موجود در نمونه های گوشت شترمرغ تأثیر معنی دار داشته است و آنالیز مقایسه میانگین دانکن در شکل ۶ نشان داده شده است. بیشترین میزان ترکیبات ازت فرار را نمونه های شاهد داشته است و کمترین میزان را نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم داشته است، اختلاف مشاهده شده بین نمونه های آزمون تحت تأثیر تیمار استفاده از اسانس از اسانس قرار گرفته است و تفاوت مشاهده شده در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی دار بوده است ($p \leq 0.05$). با افزایش مدت زمان نگهداری میزان ترکیبات ازت فرار افزایش یافته است که این افزایش در تمام نمونه های آزمون معنی دار بوده است تفاوت بین شرایط نگهداری نمونه های آزمون نیز بررسی شد و مشخص شد که نمونه های در اتمسفر تعدیل شده نسب به نمونه های نگهداری شده در اتمسفر معمولی ترکیبات ازت فرار کمتری را داشته است که این تفاوت بر مبنای نتایج آزمون تی معنی دار بوده است ($p \leq 0.05$). بیشترین ترکیبات ازت فرار را نمونه های شاهد در روز ۲۷ ام آزمون و نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی را داشته است و کمترین میزان ترکیبات ازت فرار را نمونه های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم در روز صفر آزمون در شرایط اتمسفر معمولی و تعدیل یافته داشته است.



شکل ۶- تأثیر تیمارهای پژوهش بر ترکیبات ازت فرار

بررسی تغییرات پارامتر pH تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش

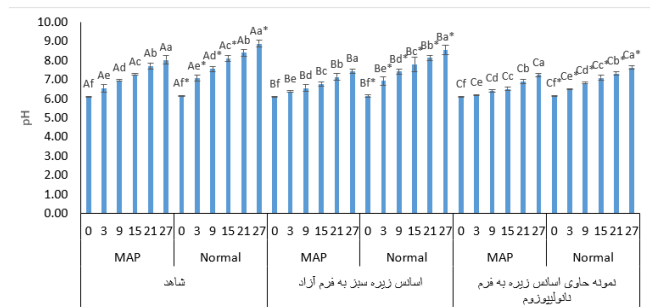
بررسی تغییرات پارامتر اندیس پراکسید تحت تأثیر متغیرهای مستقل پژوهش (PV)



شکل ۸- تأثیر تیمارهای پژوهش بر تغییرات PV

در شکل ۸ بیان شده است که بیشترین میزان اندیس پراکسید را نمونه‌های شاهد در شرایط انبارش معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون داشت‌هاند و کمترین مقادیر اندیس پراکسید مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل شده بوده است. تغییرات مشاهده شده بین نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد، اسانس به فرم نانولیپوزوم و نمونه‌های فاقد اسانس در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است. همچنین نتایج نشان داد که افزایش در مدت‌زمان نگهداری منجر به افزایش در میزان اندیس پراکسید شده است که این تغییرات نیز معنی‌دار بوده است. تفاوت بین میزان اندیس پراکسید در نمونه ای نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمول و اتمسفر تعدیل یافته، با آزمون تی بررسی شد و نتایج آزمون نشان داد که اختلاف بین میانگین اندیس پراکسید نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، به طور معنی‌دار کمتر از نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر معمولی بوده است. بیشترین و کمترین اندیس پراکسید به ترتیب مربوط به نمونه‌های شاهد در اتمسفر معمولی و در روز ۲۷ ام آزمون و نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم در شرایط اتمسفر تعدیل یافته و معمول در روز صفر آزمون بوده است.

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس نشان داد که تأثیر متغیرهای پژوهش بر تغییرات pH نمونه‌های آزمون در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است



شکل ۷- اختلاف بین نمونه های آزمون

در شکل ۷ بیان شده است که اختلاف بین نمونه‌های آزمون از نظر استفاده از اسانس در سطح اطمینان ۹۵ درصد معنی‌دار بوده است. به گونه‌های که نمونه‌های حاوی اسانس زیره به فرم نانولیپوزوم کمترین میزان pH را نسبت به نمونه‌های حاوی اسانس زیره‌ی سبز به فرم آزاد و نمونه‌های شاهد داشته است، همچنین مشخص شد که با افزایش مدت‌زمان نگهداری میزان pH نمونه‌ها افزایش یافته است که این افزایش نیز در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است. همچنین مشخص شد که میزان pH نمونه ای نگهداری شده در شرایط معمولی نسبت به نمونه‌های اتمسفر تعدیل یافته در سطح اطمینان ۹۵٪ معنی‌دار بوده است ($p \leq 0.05$). بیشترین مقدار pH را نمونه شاهد در روز ۲۷ ام آزمون و در شرایط نگهداری شده در اتمسفر معمولی داشته است و کمترین میزان pH مربوط به نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم در شرایط نگهداری اتمسفر معمول و تعدیل یافته داشته است، لازم به ذکر است که مقدار pH در نمونه‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم از ۶/۱ تا ۷/۲ متغیر بوده است که pH قابل قبولی برای گوشت شترمرغ می‌باشد.

بحث

بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر پارامترهای میکروبی گوشت شترمرغ و بررسی تأثیر استفاده از اسانس زیره‌ی سبز بر متغیرهای میکروبی پژوهش

نتایج بیان شده نشان داد که استفاده از اسانس زیره‌ی سبز موجب کاهش بار میکروبی باکتری‌های هوازی کل، کپک و مخمر، باکتری‌های لاکتیک اسید و باکتری‌های سایکروفیل شده است و اسانس‌های به فرم نانولیپوزوم کارایی بالاتری را در کاهش بار میکروبی در تمام میکروارگانیسم‌های بررسی شده داشته‌اند. همچنین مشخص شد که با افزایش مدت‌زمان نگهداری بار میکروبی افزایش می‌یابد. مکانیسم احتمالی برای توصیف فعالیت ضد میکروبی ترکیبات فنولیک در برابر پاتوژن‌های غذایی بر روی غشای سیتوپلاسمی متمرکز شده است، به طور دقیق‌تر، اسیدی شدن بیش از حد در اینترفاز غشای پلازما که ناشی از تفکیک اسیدهای فنولیک است، پتانسیل غشای سلولی را تغییر می‌دهد و منجر به افزایش نفوذپذیری می‌شود. این مکانیسم می‌تواند تفاوت‌های حساسیت نسبت به اسیدهای فنولیک را در بین میکروارگانیسم‌های مختلف بیماری‌زا توضیح دهد (۱، ۲). لازم به ذکر است که باکتری‌های گرم منفی فاقد غشای بیرونی هستند و همین امر اجازه می‌دهد که ترکیبات فنولیک نسبت به باکتری‌های گرم منفی راحت‌تر به درون سلول منتشر شوند. به عبارت دیگر، غشای بیرونی باکتری‌های گرم منفی، یک مانع در برابر اسیدی شدن بیش از حد غشا است و این امر می‌تواند تفاوت بین مقاومت‌های متفاوت باکتری‌های گرم منفی را نشان دهد (۱). به نظر می‌رسد که تیمار با اسانس زیره‌ی سبز به دلیل وجود ترکیبات ترپنی، غشای خارجی و ساختار سلول‌ها را تغییر داده و آن را نفوذپذیرتر می‌کند. تعادل اسمزی را مختل کرد و باعث نشت بیشتر مولکول‌های سلولی شد. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از درمان باکتریایی ترپن، غشای خارجی یا دیواره سلولی باکتری را به احتمال زیاد هدف سلولی برای ترپن‌ها تأیید می‌کند. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از تیمار با عصاره‌های

گیاهی، منجر به مرگ سلولی خواهد شد. دیواره سلولی باکتریایی یا پپتیدوگلیکان یک شبکه‌ای است که به سلول شکل، استحکام و پایداری اسمزی می‌دهد؛ بنابراین، ازدست‌دادن شکل منظم، یکپارچگی ساختاری و پایداری اسمزی پس از درمان ترکیبی ترپن، غشای خارجی یا دیواره سلولی باکتری را به احتمال زیاد هدف سلولی برای ترپن‌ها تأیید می‌کند. توضیحات احتمالی زیادی برای توجیه تغییرات ساختار باکتری وجود دارد. برخی از محققان آسیب به دیواره سلولی و غشای سیتوپلاسمی و ازدست‌دادن یکپارچگی ساختاری را بیان کرده‌اند و برخی دیگر احتمال دادند که اجزای فعال عصاره‌های گیاهی ممکن است به سطح سلول متصل شده و سپس به مکان‌های هدف نفوذ کنند، احتمالاً لایه فسفولیپیدی غشای سیتوپلاسمی و آنزیم‌های متصل به غشاء باشند. علاوه بر برهمکنش با فسفولیپیدهای غشایی، برهمکنش با پروتئین‌های غشایی و اهداف درون سلولی نیز از دلایل دیگر تأثیر عصاره بر ساختار و مرگ باکتری بیان شده است (۶). این اثرات ممکن است شامل مهار نیروی محرکه پروتون، مهار زنجیره تنفسی و انتقال الکترون، و مهار اکسیداسیون سوپراکسید باشد و ممکن است جداسازی فسفوریلاسیون اکسیداتیو، مهار حمل‌ونقل فعال، از دست دادن متابولیت‌های استخر، و اختلال در سنتز DNA، RNA، پروتئین، لیپید و پلی ساکاریدها را به دنبال داشته باشد. باتوجه به موارد بیان شده تصاویر اصل از میکروسکوپ الکترونی در این پژوهش، از دست دادن شکل و یکپارچگی که با مرگ سلولی همراه بوده است را تأیید می‌کند، که ممکن است نتیجه از دست دادن گسترده محتویات سلولی، خروج مولکول‌ها و یون‌های حیاتی، یا شروع فرآیندهای اتولیتیک باشد. نتایج مندرج در این پژوهش هم راستا با نتایج Moghayedی و همکاران (۲۰۱۷) و LV و همکاران (۲۰۱۱) است (۷، ۸). همچنین Zengin و همکاران (۲۰۱۴) نیز در پژوهش خود با موضوع بررسی فعالیت آنتی‌باکتریایی و آنتی‌اکسیدانی ترپن‌های اسانس در برابر باکتری‌های بیماری‌زا و فسادزا و روابط ساختار سلولی فعالیت با میکروسکوپ SEM بیان داشتند که مشاهدات SEM صدمه به یکپارچگی ساختاری سلول‌ها و تغییرات مورفولوژیکی قابل توجهی را در تمام باکتری‌های گرم مثبت و گرم منفی تأیید کرده است و واضح است که تیمار با ترپن‌ها باعث ایجاد منافذ در غشای خارجی سلول‌های E. coli O157:H7 می‌شود که باعث می‌شود اجزای سلولی به راحتی از این سلول‌ها عبور کنند و همچنین باعث فروپاشی سلول‌ها می‌شود. غشای

قرار داشت که مدت زمان نگهداری مناسب گزارش شده در این پژوهش برای نمونه‌های حاوی ترکیبات نانولیپوزوم تا روز ۲۱ ام، برای باکتری‌های سایکروفیل، تا روز ۲۷ آزمون برای باکتری‌های لاکتیک اسید، تا روز ۲۱ برای باکتری‌های مزوفیل و تا روز ۲۷ ام برای کپک و مخمرها بوده است که تعداد باکتری‌های گزارش شده در این مدت زمان‌ها کمتر از ۷ لگاریتم بوده است که شروع فساد در گوشت می‌باشد.

Gaysinsky و همکاران (۲۰۰۰) اوژنول و کارواکرول درون میسل‌های سورفاکتانت نانومتری (نانو امولسیون‌ها) انکپسوله کردند. نتایج حاصل از تحقیقات آن‌ها افزایش فعالیت ضد میکروبی این ترکیبات را نشان داد، که به علت افزایش انحلال پذیری اجزای اسانس در فاز آبی به دلیل حضور مواد فعال سطحی و همچنین بهبود برهمکنش آنتی بیوتیک‌ها با میکروارگانیسم‌ها بود. با این حال زمانی که اوژنول کپسوله شده به شیر اضافه شد منجر به کاهش یا به‌عنوان یک بازدارنده در برابر پاتوژن‌های مورد نظر عمل کرد Gortiz و همکاران (۲۰۰۷) فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اجزای تشکیل دهنده اسانس لیمونترش- β -Limonene, α -terpinene, γ -terpinene, neral را قبل و بعد از انکپسوله شدن در لیپوزوم مورد بررسی قرار دادند. خواص ضد میکروبی اسانس با استفاده از روش انتشار دیسک در برابر چهار باکتری گرم مثبت و گرم منفی و سه قارچ بیماری‌زای انسان هم چنین لیستریا مونوسیژنوز بررسی شد. نتایج نشان داد که تمام ترکیبات پس از انکپسوله کردن در لیپوزوم فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری از حالت آزاد نشان دادند. در تحقیق دیگری که توسط Liolios و همکاران (۲۰۰۹) انجام شد فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ضد میکروبی اجزای اصلی تشکیل دهنده عصاره مرزنجوش قبل و بعد از انکپسوله شدن (۷-تریپتین، کارواکرول، تیمول و پی سیمین) و در لیپوزوم (فسفاتیدیل کولین و کلسترول) ارزیابی شد. نتایج نشان داد که تمام ترکیبات پس از انکپسولاسیون در لیپوزوم فعالیت ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی بالاتری از حالت آزاد نشان دادند. در تحقیق دیگری Afshan و همکاران (۲۰۱۲)، با بررسی خواص ضد میکروبی اسانس و نانو امولسیون دارچین به این نتیجه رسیدند که خاصیت ضد میکروبی نانوامولسیون نسبت به اسانس در محیط *in vitro* بیشتر است که علت آن می‌تواند به این دلیل باشد که نانوامولسیون‌ها توانایی انتقال ترکیب آنتی میکروبی از عرض غشا را دارد که در این صورت ترکیب می‌تواند

خارجی یا دیواره سلولی باکتری به احتمال زیاد هدف سلولی ترین‌ها به دلیل تشکیل سوراخ‌ها است. علاوه بر این، تفاوت در ترکیب دیواره سلولی (کم و بیش لیپیدها) بین گونه‌های مختلف باکتری تا حدی دلیل حساسیت متفاوت آن‌ها به ترین‌ها است. اجزای ترین اکالیپتول، α -تریپینئول و لینالول باعث تغییر نفوذپذیری غشای خارجی، تغییر عملکرد غشای سلولی و نشت مواد داخل سلولی شدند. علیزاده و همکاران (۲۰۱۹) نیز نشان دادند که استفاده از اسانس روغنی زیره‌ی سبز منجر به ازهم‌پاشیدگی ساختار باکتری‌های اشریشیاکلای و لیستریلا اینوکویا شده است، وی بیان داشت که ترکیبات فنولیک موجود در اسانس روغنی زیره‌ی سبز مهم‌ترین دلیل اختلال در ساختار غشای سلولی است. Guliani و همکاران (۲۰۲۱) تأثیر نانو امولسیون‌های کارون و سیترال بر فعالیت باکتری‌های سودوموناس آئروژینوزا و استافیلوکوکوس /رئوس را بررسی کردند و باتوجه‌به تصاویر میکروسکوپ الکترونی بیان داشتند که این ترکیبات منجر به ایجاد اختلال در غشای سلولی باکتری شده است که هم راستا با نتایج این پژوهش است (۹). فعالیت ضدباکتریایی و نحوه عملکرد دی هیدرومیریسستین از برگ‌های *Ampelopsis grossedentata* در برابر باکتری‌های مواد غذایی توسط Xiao و همکاران (۲۰۱۸) بررسی شد و نتایج مشابهی گزارش شد (۱۰). نتایج این پژوهش نشان داد که نمونه‌های گوشت شترمرغ حاوی اسانس زیره‌ی سبز به فرم لیپوزوم، بیشترین تأثیر را در کاهش بار میکروبی داشته است که این امر احتمالاً به دلیل رهایش کنترل شده و آرام ترکیبات فنولی اسانس زیره‌ی سبز بوده است به گونه‌ای که Wilson در سال ۲۰۰۵ گزارش کرده است که در نتیجه فرایند نانوکپسولاسیون طی گذشت زمان با آزاد سازی به موقع این ترکیبات اثر ضد میکروبی این ترکیبات حفظ شده است و سبب کاهش فعالیت باکتری‌های فاسد کننده دوغ و در نتیجه تولید کمتر ترکیبات فرار حاصل از فعالیت آن‌ها در طول زمان نگهداری شده است. نانوکپسول عصاره‌ها، محتویات خود را به‌صورت کنترل شده و تحت شرایط خاصی آزاد می‌کنند. این تکنولوژی باعث حفاظت مواد در برابر اکسیداسیون در مدت نگهداری، جلوگیری از ایجاد عطر و طعم نامطلوب و مانع هدر رفتن ارزش تغذیه‌ای

محصول می‌شود (Wilson, ۲۰۰۵). بار باکتریایی در مطالعه تقی‌زاده و رضایی (۲۰۱۲) در مورد اثر پوشش ژلاتین و دارچین بر فیله ماهی در روز ۱۵ آزمون برای تمام نمونه‌ها در محدوده‌ی مجاز

میکروارگانسیم‌های بیماری‌زایی همچون کلسترییدیوم بوتولینیوم وجود دارد (۱۳): بنابراین میزان اکسیژن توصیه شده در بسته‌بندی با اتمسفر اصلاح شده برای میوه‌ها و سبزیجات چه از لحاظ ایمنی و چه از لحاظ کیفی بین ۱ تا ۵٪ است. از گاز نیتروژن در بسته‌بندی یا اتمسفر تعدیل ده باهدف جایگزینی اکسیژن برای به تأخیرانداختن اکسیداسیون، به تأخیرانداختن رشد میکروارگانسیم‌های فاسدکننده و به‌عنوان یک پرکننده که بسته‌بندی را به‌صورت شکل خاصی نگه دارد، استفاده می‌شود. از بین سه گازی که در MAP مورد استفاده قرار می‌گیرد، کربن‌دی‌اکسید تنها گازی است که خاصیت ضد میکروبی دارد. تئوری‌های زیادی برای تأثیر ضد میکروبی کربن‌دی‌اکسید پیشنهاد شده‌اند. به‌طور کلی، کربن‌دی‌اکسید در MAP منجر به طولانی‌تر شدن فاز تأخیری و زمان تولیدمثل در فاز لگاریتمی می‌شود. تئوری تأثیر ضد باکتری اتمسفر تعدیل یافته به‌صورت تغییر عملکرد غشای سلولی شامل تأثیرات بر روی جذب و دریافت مواد مغذی، جلوگیری مستقیم از عملکرد آنزیم‌ها و یا کاهش واکنش و فعالیت آنزیم‌ها، نفوذ به غشاء باکتری‌ها و تغییرات pH درون سلولی و تغییرات در خصوصیات فیزیوشیمیایی پروتئین‌ها تعریف شده است. Brenesselová و همکاران (۲۰۱۵) رشد میکروبی در میوه‌های تازه انبارش شده در اتمسفر تعدیل شده را بررسی کردند و نشان دادند که استفاده از انبارش با اتمسفر تعدیل یافته، موجب بهبود بار میکروبی و افزایش مدت‌زمان نگهداری میوه‌های سیب تازه شده است که با نتایج این پژوهش هم خوانی دارد. همچنین Bingol همکاران (۲۰۱۱) تأثیر غلظت‌های مختلف گاز در اتمسفر تعدیل یافته بر پارامترهای میکروبی و مدت‌زمان نگهداری گوشت شترمرغ را بررسی کردند و بیان داشتند که کیفیت گوشت و ماندگاری گوشت شترمرغ تحت ترکیبات مختلف گاز بهبود یافت و رشد میکروبی به دلیل استفاده زیاد از CO₂ به تعویق افتاد و ماندگاری ۵ تا ۷ روز افزایش یافت. با این حال، از دست دادن ناخواسته رنگ قرمز گوشت شترمرغ ممکن است بر پذیرش مصرف کننده تأثیر بگذارد.

بررسی اثر مدت‌زمان ماندگاری بر بار میکروبی نمونه‌های گوشت شترمرغ

نتایج نشان داد که با افزایش مدت‌زمان ماندگاری در تمام نمونه‌های آزمون، بار میکروبی افزایش یافته است که تجزیه و تحلی واریانس نیز نشان داده است که این افزایش معنی‌دار بوده است. با این حال نمون‌های حاوی اسانس به فرم نانولیپوزوم و همچنین نمونه‌های

داخل غشا شده و از داخل روی غشا اثر بگذارد، همچنین نانوامولسیون به‌عنوان حاملی عمل می‌کند که می‌تواند غلظت مورد نظر ترکیب را داخل فاز آبی به میکروارگانسیم برساند (Afshan et al., ۲۰۱۲). در مطالعه‌ای که توسط Cui و همکاران (۲۰۱۶) انجام شد، جهت افزایش فعالیت ضد میکروبی اسانس مریم گلی از نانولیپوزوم استفاده شد. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که استفاده از انکپسولاسیون سبب ثبات و همچنین اثر ضد میکروبی بیشتری نسبت به حالت اسانس آزاد در برابر بیوفیلم / استافیلوکوکوس / اورئوس در ظروف شیر می‌شود (Cui et al., ۲۰۱۶). نتایج حاصل از تحقیق این محققان با نتایج حاصل از تحقیقات ما مطابقت دارد. این عمل مبتنی بر افزایش فعالیت ضد میکروبی سیستم‌های حامل در مقیاس نانو در مقایسه با حالت آزاد می‌باشد.

بررسی تأثیر شرایط انبارش بر کاهش بار میکروبی

در تمام گزارش‌های نتایج میکروبی مشخص شد که نمونه‌های نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده کاهش معنی‌داری را در بار میکروبی نشان دادند و نمونه‌های شاهد، نمونه‌های حاوی اسانس به فرم آزاد و اسانس به فرم نانولیپوزوم نیز در شرایط نگهداری با اتمسفر تعدیل یافته بار میکروبی کمتری را نسبت به انبارش در اتمسفر معمولی داشته‌اند. اکسیژن، کربن‌دی‌اکسید و نیتروژن عمده‌ترین گازهایی هستند که در MAP کاربرد دارند، گازهای ذکر شده به سه طریق در اتمسفر کنترل شده استفاده می‌شوند:

- ۱- استفاده از گاز نیتروژن بی‌اثر به تنهایی
- ۲- استفاده از ترکیب کربن‌دی‌اکسید و نیتروژن و یا استفاده از ترکیب اکسیژن، دی‌اکسید و نیتروژن (که به این روش نیمه واکنش‌پذیر می‌گویند)
- ۳- روش کاملاً واکنش‌پذیر با استفاده از کربن‌دی‌اکسید به تنهایی و یا ترکیب کربن‌دی‌اکسید و اکسیژن (۱۱). معمولاً غلظت اکسیژن در بسته بسیار پایین نگه داشته می‌شود (۱-۵ درصد) تا میزان تنفس میوه‌ها و سبزی‌های و فعالیت‌های میکروبی و اکسیداسیون را کاهش دهد (Ruiz et al., ۲۰۱۱). کاهش میزان تنفس با محدود کردن حضور اکسیژن، مدت‌زمان ماندگاری مواد غذایی را به‌وسیله تأخیر در فساد اکسیداتیو افزایش می‌دهد. به‌هرحال، در غلظت‌های بسیار پایین اکسیژن (کمتر از ۱ درصد) تنفس غیرهوازی اتفاق می‌افتد که می‌تواند منجر به تخریب بافت و ایجاد عطر و بوی نامناسب نماید (۱۲) و همچنین احتمال رشد

قنده و همکاران (۱۳۹۴) نشان داده شده است اثرات آنتی اکسیدانی نانوحاملها بیشتر از اسانس مریم گلی بدون درون پوشانی بود. نتایج تجزیه و تحلیل آماری نشان داد که اثر آنتی اکسیدانی تیمارها در سطح ۵٪ معنی دار بود، به طوری که بیشترین اثر آنتی اکسیدانی مربوط به نانوامولسیون و کمترین آن مربوط به اسانس در حالت آزاد بود. در حالت کلی اثر آنتی اکسیدانی نانوحاملها بیشتر از اسانس بدون درون پوشانی بود. لسیتین به کاررفته در نانولیپوزوم و پراکندگی بسیار بالای اسانس در نانوامولسیون باعث بیشتر بودن اثر بازدارنده نانوحاملها نسبت به اسانس بدون درون پوشانی شد که نتایج بیان شده با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. از طرفی اثر بیشتر آنتی اکسیدانی نانوامولسیون نسبت به نانولیپوزوم را می توان چنین بیان کرد، لیپوزوم به دلیل اینکه اسانس در داخل کپسولهای لستین قرار گرفته در نتیجه کمتر می تواند با رادیکالهای آزاد واکنش دهد؛ ولی چون در نانوامولسیون اسانس به صورت ذرات ریز در فاز آبی پخش شده است و از طرفی حلالیت اسانس نیز افزایش یافته در نتیجه با رادیکالهای آزاد بیشتری می تواند واکنش دهد و سرعت رهایش اسانس در نانوامولسیون به مراتب بیشتر از نانولیپوزوم است در نتیجه، فنل های موجود در اسانس نسبت به نانولیپوزوم، سریع تر در معرض رادیکالهای آزاد DPPH قرار می گیرند و عمل خنثی سازی را انجام می دهند. در مطالعه ای که توسط مایتی و همکاران (۲۰۰۷) انجام شد، این نتیجه حاصل شد که کمپلکس کورکومین - فسفولیپید به دلیل خواص آنتی اکسیدانی بالاتر نسبت به کورکومین آزاد، اثر محافظتی و ضد اکسیداتیو بیشتری در موش ها دارد (Maiti et al., ۲۰۰۷). در پژوهش حاضر، در مورد نانولیپوزوم می توان گفت که فسفولیپید شرکت کننده در ساختار آن، تمایل به واکنش با رادیکال آزاد را دارد و بنابراین، اسانس به مقدار کمتری نسبت به اسانس خالص، تحت تأثیر رادیکال آزاد قرار گرفت، در واقع گروه های فسفات باعث احیای رادیکال آزاد DPPH شدند و در نتیجه تأثیر رادیکال بر خود اسانس کمتر از اسانس بدون درون پوشانی بود. در مورد نانوامولسیون هم می توان چنین گفت که ریز بودن اندازه ذرات، حلالیت بالا و بهبود نفوذ اسانس باعث شده بیشتر از اسانس آزاد، تحت تأثیر رادیکال آزاد قرار بگیرد Gortzi و همکاران (۲۰۰۷)، خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره مرزنجوش را قبل و بعد از کپسولاسیون در لیپوزوم بررسی کردند که نتایج نشان داد خاصیت آنتی اکسیدانی در حالت کپسوله بیشتر از حالت آزاد است. در مطالعه ای، نانوامولسیون حاوی لیکوپن را تولید و اثرات آنتی اکسیدانی آن ها را بررسی و چنین مشاهده کردند، اثر آنتی اکسیدانی نانوامولسیون حاوی لیکوپن بیشتر از ماده فعال

نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، با افزایش مدت زمان نگهداری، با شدت کمتری نسبت به نمونه های شاهد، افزایش یافته است. همان گونه که در بالا بیان شد، وجود اسانس زیره ی سبز به صورت نانولیپوزوم و همچنین نگهداری در شرایط اتمسفر تعدیل یافته، منجر به کاهش بار میکروبی شده است که دلایل آن در قبل ذکر شده است و از تکرار آن ها خودداری می شود.

بررسی اثر تیمارهای پژوهش بر پارامترهای شیمیایی گوشت شترمرغ

پارامترهای TBA, TVN, pH, PV تحت تأثیر متغیرهای پژوهش بررسی شد و نتایج به طور کلی نشان داد که نمونه های حاوی اسانس به فرم آزاد و نانولیپوزوم به طور معنی داری مقادیر TBA, TVN, pH نسبت به نمونه های شاهد پایین تر بوده است و همچنین مشخص شد که مقادیر TBA, TVN, pH در نمونه های نگهداری شده در اتمسفر تعدیل یافته نسبت به نمونه های نگهداری شده در شرایط معمول به طور معنی دار کاهش یافته است. همچنین مشخص شد که با افزایش مدت زمان نگهداری مقادیر گزارش شده برای TBA, TVN, pH افزایش معنی دار یافته است.

Jayasingh و همکاران (۲۰۰۲) بیان کردند که بسته بندی اتمسفر اصلاح شده با اکسیژن بالا (O_2 ۸۰٪ و CO_2 ۲۰٪) و نمونه های بسته بندی شده با هوا از گوشت چرخ کرده دارای تفاوت pH قابل توجهی بود، به خصوص پس از ۱۰ روز نگهداری در دمای ۲ درجه سانتی گراد. آن ها کاهش pH را در نمونه های بسته بندی شده با هوا از ۵.۷ در روزهای ۱ تا ۵.۳ پس از ۱۰ روز نگهداری مشاهده کردند، در حالی که نمونه های MAP تنها کاهش جزئی از ۵.۸ به ۵.۷ را در مدت مشابه نشان دادند. Seydim و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که pH شترمرغ چرخ شده در اتمسفرهای مختلف در دمای 4 ± 1 درجه سانتیگراد در مدت زمان نگهداری تغییر معنی داری نداشت. pH اولیه گوشت شترمرغ آسیاب شده به طور متوسط 6.0 ± 0.16 و pH نهایی ۵/۹۵ و ۵/۹۷ برای (O_2 ۲۰٪ و CO_2 ۸۰٪) و نمونه های بسته بندی شده با هوا در روز نهم به ترتیب بود. Fernandez-Lopez و همکاران (۲۰۰۸) دریافتند که مقادیر pH به دلیل زمان نگهداری و شرایط نگهداری، در استیک های شترمرغ با pH اولیه تفاوت معنی داری را داشته است به گونه ای که pH بالاتر از ۶.۰ نیز برای لاشه شترمرغ ۲ تا ۶ ساعت پس از خونریزی یافت شد. pH گوشت را می توان تحت تأثیر عوامل زیادی قرار داد. با این حال، رشد باکتری های اسید لاکتیک که منجر به تولید اسید لاکتیک می شود، عامل اصلی کاهش pH در گوشت های بسته بندی شده است (Gill, ۱۹۹۶). در مطالعه قره

شده و بسته‌بندی در خلأ سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های مورد بررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده شد (Coban et al., ۲۰۱۴). در این پژوهش مشخص شد که نمونه‌های حاوی نانولیپوزوم اسانس زیره‌ی سبز و نگهداری شده در شرایط اتمسفر تعدیل شده مقادیر نیتروژن فرار کل کمتری را نسبت به نمونه‌های دیگر و بخصوص کنترل نشان داده است؛ در مطالعه‌ی قنبری و همکاران (۱۴۰۱) نشان داده شده است که نمونه‌های حاوی نانومولسیون اسانس هسته‌ی انگور میزان نیتروژن فرار کل کمتری را نسبت به نمونه‌های کنترل داشته‌اند که هم راستا با نتایج این پژوهش است، وی بیان کرده است که کاهش بار میکروبی نمونه‌های فیله مرغ به دلیل حضور اسانس و در نتیجه کاهش اکسیداتیو انجام شده توسط باکتری‌ها از دلایل کاهش نیتروژن فرار کل می‌باشد. در پژوهشی دیگر سیف زاده و همکاران (۲۰۱۵) بیان داشتند که فاکتورهای پراکسید، تیوباریتوریک اسید، نیتروژن فرار کل در نمونه‌های حاوی عصاره هسته انگور و فرولیک اسید در مقایسه با نمونه‌های کنترل مقادیری کمتری را داشته‌اند.

نتیجه‌گیری

در پژوهش جاری، تغییرات رشد میکروارگانیسم‌های باکتری‌های *اُتروفیل کل*، *لاکتیک اسید باکتری*، *سایکروفیل‌ها* و *کیک و مخمر* و همچنین پارامترهای شیمیایی شامل اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل تحت تأثیر متغیر اسانس زیره سبز، مدت‌زمان نگهداری و شرایط انبارش بررسی شد. در این پژوهش اسانس به فرم آزاد و نانولیپوزوم شده، شرایط نگهداری به صورت اتمسفر تعدیل‌یافته و اتمسفر معمولی و مدت‌زمان نگهداری از ۱ تا ۲۸ روز به عنوان متغیرهای اصلی پژوهش لحاظ شد. نتایج نشان داد که استفاده از اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و در شرایط اتمسفر تعدیل شده و در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین رشد میکروبی را نشان داده است و در مقابل نمونه‌های کنترل نگهداری شده در اتمسفر معمولی و در روزهای پایانی نگهداری گوشت شترمرغ بیشترین رشد میکروبی را گزارش کرده است. همچنین به طور مشابه پارامترهای مرتبط به اکسیداسیون گوشت شترمرغ نیز نشان داد که نمونه‌های حاوی اسانس زیره سبز به فرم نانولیپوزوم و نگهداری شده در اتمسفر تعدیل‌یافته در روزهای ابتدایی نگهداری کمترین میزان پارامترهای اندیس تیوباریتوریک اسید، pH، اندیس پراکسید و نیتروژن فرار کل را داشته است. اسانس زیره سبز غنی از ترکیبات فنولیک هست

خالص بود و این تأثیر را ناشی از پراکندگی بسیار بالای لیکوپن در نانومولسیون و واکنش سریع آن با رادیکال‌های آزاد ربط دادند (Ha et al., ۲۰۱۵). این گزارش با نتایج این پژوهش مطابقت داشت. Shi و همکاران (۲۰۰۳) بیان کردند که پتانسیل آنتی‌اکسیدانی اسانس هسته انگور ۲۵ برابر بیشتر از ویتامین‌های ای و سی بوده است، همچنین بیان شده است که کاهش عدد پراکسید را در نمونه‌های حاوی اسانس انگور به فرم نانومولسیون را به اثر آنتی‌اکسیدانی اسانس و رهایش کنترل شده در زمان را مرتبط دانسته است. در تحقیق دیگری استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم‌گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی شده و بسته‌بندی در خلأ سبب کاهش سرعت تشکیل هیدروپراکسید نسبت به نمونه شاهد گردید و اختلاف معنی‌داری بین اسانس‌های مورد بررسی از نظر کاهش اندیس پراکسید مشاهده شد (Coban et al., ۲۰۱۴).

همچنین نتایج بررسی TBA به عنوان محصول فرایند اکسیداسیون، مشابه نتایج تحقیق Seydim و Sogut (۲۰۱۸) می‌باشد که دریافتند پوشش کیتوزان همراه با عصاره‌ی هسته انگور می‌تواند به دلیل ویژگی‌های ضد میکروبی و ضد اکسیدانی خود باعث افزایش زمان ماندگاری فیله‌ی مرغ در دمای یخچال شود. همچنین در مطالعه‌ی مشابه Dzomba و همکاران (۲۰۱۴)، بیان نمودند که گوشت گاو شامل عصاره برگ گیاهان ایجاد پراکسیداسیون و تکثیر میکروب‌ها را کاهش می‌دهد و باعث افزایش زمان ماندگاری گوشت گاو می‌شود. در مطالعه‌ی مشابه Carpenter و همکاران (۲۰۰۷) نشان دادند که افزودن عصاره‌ی هسته‌ی انگور و زرشک در گوشت خام خوک باعث کاهش اکسیداسیون چربی و کاهش عدد پراکسید در روزهای ۹ و ۱۲ نگهداری در مقایسه با نمونه کنترل شده است که هم‌راستا با نتایج بیان شده در این پژوهش است.

در قبل اشاره شد که تعدیل گازهای موجود در اتمسفر بسته‌بندی بخصوص حذف و کاهش اکسیژن تأثیر بسزایی بر واکنش‌های میکروبی دارد، از آن جا که در فرایند اکسیداسیون وجود اکسیژن یکی از عوامل مؤثر و تشدیدکننده فرایند است، بدیهی است که با حذف این عامل سرعت اکسیداسیون و در نتیجه میزان pH، تیوباریتوریک اسید و اندیس پراکسید کاهش یابد که در پژوهش‌های متفاوتی این امر بیان شده است به گونه‌ای که در تحقیق Coban و همکاران (۲۰۱۴) بیان شده است که استفاده از اسانس‌های آویشن، مریم‌گلی، میخک و رزماری در غلظت ۶۰۰ میلی‌گرم در کیلوگرم به فیله‌های ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان دودی

که این ترکیبات خاصیت‌های ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی دارند و ریزپوشانی آن‌ها به فرم نانولیپوزوم خود منجر به محافظت اسانس و حفظ خواص ضد میکروبی و آنتی‌اکسیدانی آن می‌شود. از مهم‌ترین عوامل مؤثر بر کاهش رشد میکروبی و پارامترهای شیمیایی در پژوهش حاضر، استفاده از اتمسفر تعدیل شده در مورد زمان نگهداری بوده است که با محدود کردن غلظت اکسیژن، رشد

میکروارگانیزم‌ها را کاهش داده است و از بروز اکسیداسیون و تولید ترکیبات نیتروژن‌دار جلوگیری کرده است. در مجموع می‌توان بیان داشت که ترکیب استفاده از اسانس زیره سبز و شرایط اتمسفر تعدیل شده تأثیر مثبت معنی‌داری بر خواص میکروبی و شیمیایی گوشت شترمرغ داشته است و مدت‌زمان ماندگاری را تا ۱۵ روز در یخچال افزایش داده است.

منابع

۱. Cueva C, Moreno-Arribas MV, Martín-Álvarez PJ, Bills G, Vicente MF, Basilio A, et al. Antimicrobial activity of phenolic acids against commensal, probiotic and pathogenic bacteria. *Research in microbiology*. ۲۰۱۰; ۱۶۱(۵):۳۷۲-۸۲.
۲. Lou Z, Wang H, Zhu S, Ma C, Wang Z. Antibacterial activity and mechanism of action of chlorogenic acid. *Journal of food science*. ۲۰۱۱; ۷۶(۶):M۳۹۸-M۴۰۳.
۳. Juliani H, Koroch A, Simon J. Chemical diversity of essential oils of *Ocimum* species and their associated antioxidant and antimicrobial activity. *Essential oils and aromas: Green extractions and applications*. ۲۰۰۹.
۴. Zengin H, Baysal AH. Antibacterial and antioxidant activity of essential oil terpenes against pathogenic and spoilage-forming bacteria and cell structure-activity relationships evaluated by SEM microscopy. *Molecules*. ۲۰۱۴; ۱۹(۱۱):۱۷۷۷۳-۹۸.
۵. Bouarab Chibane L, Degraeve P, Ferhout H, Bouajila J, Oulahal N. Plant antimicrobial polyphenols as potential natural food preservatives. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. ۲۰۱۹; ۹۹(۴):۱۴۵۷-۷۴.
۶. Khameneh B, Iranshahy M, Soheili V, Bazzaz BSF. Review on plant antimicrobials: A mechanistic viewpoint. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*. ۲۰۱۹; ۸(۱):۱-۲۸.
۷. Lv F, Liang H, Yuan Q, Li C. In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Research International*. ۲۰۱۱; ۴۴(۹):۳۰۵۷-۶۴.
۸. Moghayedhi M, Goharshadi EK, Ghazvini K, Ahmadzadeh H, Ranjbaran L, Masoudi R, et al. Kinetics and mechanism of antibacterial activity and cytotoxicity of Ag-RGO nanocomposite. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. ۲۰۱۷; ۱۵۹:۳۶۶-۷۴.
۹. Guliani A, Verma M, Kumari A, Acharya A. Retaining the 'essence' of essential oil: Nanoemulsions of citral and carvone reduced oil loss and enhanced antibacterial efficacy via bacterial membrane perturbation. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. ۲۰۲۱; ۶۱:۱۰۲۲۴۳.
۱۰. Xiao M, Jasensky J, Foster L, Kuroda K, Chen Z. Monitoring antimicrobial mechanisms of surface-immobilized peptides in situ. *Langmuir*. ۲۰۱۸; ۳۴(۵):۲۰۵۷-۶۲.
۱۱. Ren, C., Ng, E. Y. Y., & Katzschnner, L. (۲۰۱۱). *Urban climatic map studies: a review. International journal of climatology*, 31(۱۵), ۲۲۱۳-۲۲۳۳.
۱۲. Church, N. (۱۹۹۴). *Developments in modified-atmosphere packaging and related technologies. Trends in food science & technology*, 5(۱۱), ۳۴۵-۳۵۲.
۱۳. Phillips CA. ۱۹۹۶. *Review: modified atmosphere packaging and its effects on the microbiological quality and safety of produce*. *International Journal of Food Science & Technology*, ۳۱:۴۶۳-۷۹.

Investigating the effect of *Cuminum cyminum* nanoliposomal essential oil on the shelf life of fresh ostrich fillet under aerobic and modified atmosphere packaging

Leila Nikravan ^{۱*}, Roya Zekavati ^۲, Soroush Akhondzadeh ^۳, Saba Bonyadi Dehkordi ^۴

^۱- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

^۲- Department of Microbiology, Faculty of Midwifery and Nursing, Ahvaz Branch, Islamic Azad University, Khuzestan, Iran

^۳-Graduated from Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

^۴-Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

*Corresponding author: ۱۷۵۷۲۰۱۱۵۷@iau.ir

Abstract

In recent years, food manufacturers have paid special attention to the use of natural preservatives of vegetable origin instead of chemical preservatives in their products in order to increase the duration of keeping meat at low temperatures. The aim of this study is to investigate the effect of cumin nano liposomal essential oil on the shelf life of fresh ostrich fillet under normal packaging conditions and modified atmosphere. For this purpose, the samples were randomly divided into ۶ groups and the desired treatments were prepared with ۳ repetitions in two ways (normal and MAP). Then each piece of meat was placed separately in a polyethylene container sterilized by UV rays and at the end it was prepared using normal packaging and packaging under MAP conditions in a special cover of the MAP machine and the packages were kept in the refrigerator at a temperature It was kept at $\pm 1^{\circ}\text{C}$. Experiments were performed on days (۰, ۳, ۹, ۱۵, ۲۱ and ۲۷) and microbial analyzes including (counting of mesophilic, cold-loving bacteria, lactic acid and mold and yeast and chemical tests including (volatile free nitrogen, Thio barbituric acid) , peroxide and pH) were performed on the samples. The results showed that the use of cumin essential oil reduced the microbial load of total aerobic bacteria, mold and yeast, lactic acid bacteria and psychrophilic bacteria, and essential oils in the form of nanoliposomes had a higher efficiency in reducing the microbial load in all the investigated microorganisms. The parameters related to the oxidation of ostrich meat also showed that the samples containing cumin essential oil in the form of nanoliposomes and stored in a modified atmosphere in the first days of storage had the lowest parameters of Thio barbituric acid index, pH, peroxide index and total volatile nitrogen. Cumin essential oil is rich in phenolic compounds that have antimicrobial and antioxidant properties.

Keywords: Modified atmosphere, cumin essential oil, ostrich fillet, nanoliposome, shelf life

نگاهی بر کاربردهای PRP در دامپزشکی

ماهان یغمائی^{۱*}، امیرحسین فروغی^۱

۱- دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Mahanyh79@gmail.com

چکیده

پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) می‌تواند با فراهم کردن غلظت‌های بالاتری از فاکتورهای رشد مشتق از پلاکت، روند بهبودی را تسریع کند. در بیماری‌های مختلف از PRP استفاده شده است. در سگ‌هایی با هماتوم ۱۷ سگ با L-PRP تحت درمان قرار گرفتند. در ۵ سگ عود زود هنگام مشاهده شد که ۳ سگ با درمان دوم بهبودی کامل یافتند. در ۱۰ سگ، پس از ۷ روز، هماتوم به کمتر از ۵۰٪ اندازه اولیه یا کاملاً از بین رفته بود. در درمان زخم قرنیه روی ۲۸ حیوان (۱۶ گربه، ۱۲ سگ)، ۵۰٪ سگ‌ها به ۲ تزریق و گربه‌ها به ۳ تزریق نیاز داشتند. بررسی بیومارکرها و آنزیم‌های تخریب ماتریکس (MMP-۲، MMP-۹) نشان داد PRP یک روش کارآمد در بهبود زخم قرنیه است. درمان خشکی چشم در ۲۰ سگ به دو گروه درمان استاندارد و درمان با PRP تقسیم شدند. تست اشک شیرمر (STT) در گروه PRP نتایج بهتری نشان داد. در زخم‌های اندام‌های دیستال در اسب‌ها درمان با ژل PRP در ۶۲/۵ درصد از موارد باعث بهبود سریع‌تر نسبت به گروه کنترل شد. PRP همولوگ در هیچ موردی باعث تأخیر در بهبودی نشد و باعث کاهش بافت گرانولاسیون شد. در برخی موارد (<۹٪)، PRP موجب افزایش زمان بهبودی شد. PRP باعث افزایش تکثیر سلول‌های تاندونی، سنتز کلاژن و ماتریکس شده و در نتیجه باعث بهبود بالینی می‌شود. PRP در کنار توانبخشی منجر به بهبود سریع‌تر نسبت به توانبخشی به تنهایی شده است. ترکیب PRP با پیوند استخوان اسفنجی اتولوگ در خوک‌ها منجر به بازسازی بهتر استخوان شد. درمان استئوآرتریت ۵ سگ با PRP آلوژنیک ژل داخل مفصلی تحت درمان قرار گرفتند. پس از ۹۰ روز همه حیوانات کاهش درد و لنگش داشتند و دو حیوان به گام طبیعی بازگشتند، سایرین نیز بهبود قابل توجه داشتند.

کلمات کلیدی: پلاسمای غنی از پلاکت، PRP، تسریع بهبود زخم، زخم قرنیه

مقدمه

پزشکی بازساختی در سال‌های اخیر تکامل سریعی در درمان‌های جدید بر اساس سلول‌های بنیادی، فاکتورهای رشد و تمایز داشته است (۳). پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) که به عنوان، حجمی از پلاسمای اتولوگ با غلظت بالای پلاکت از سطح پایه تعریف می‌شود (۴). بخش اصلی PRP که پلاکت‌ها هستند، دارای فاکتورهای رشد شامل فاکتور رشد مشتق شده از پلاکت، فاکتور رشد تبدیل کننده- β^1 ، فاکتور رشد تبدیل کننده- β^2 ، فاکتور رشد اندوتلیال عروقی، فاکتور رشد فیبروبلاستیک پایه و فاکتور رشد اپیدرمی می‌باشد (۵). مطالعات نشان داده‌اند که از PRP می‌توان در بهبود بافت نرم، مدیریت استئوآرتریت، بهبود زخم، آسیب‌های عضلانی، ریکاوری پس از جراحی و غیره استفاده نمود (۵). بخش بیشتر مطالعه در خصوص اثربخشی بالینی PRP امروزه به انسان‌ها اختصاص داشته است و کمتر در حیوانات پرداخته شده است (۱۱).

مطالعه پیش‌رو به کاربرد و اثرات PRP در هماتوم، زخم‌های موضعی در اندام‌های دیستال اسب، استئوآرتریت و زخم قرنیه پرداخته است.

جمع‌آوری اطلاعات

در این مقاله مروری، از ۶ مقاله به عنوان منابع اصلی استفاده شده است که اطلاعات در خصوص مقاله‌های اصلی را در جدول ۱ می‌بینید.

بحث

با توجه به خواص ترمیم‌کنندگی آن، PRP در طیف گسترده‌ای از کاربردهای بالینی، از جمله آسیب‌های اسکلتی عضلانی استفاده شده است (۱۰). پلاسمای غنی از پلاکت (PRP) یک داروی ساخته شده از پلاسمای که حاوی غلظت پلاکتی بیشتر از مقادیر پایه کل خون است. استفاده از مواد بیولوژیکی خود بیمار، مانند PRP یا پلاسمای غنی از فاکتورهای رشد، برای ترمیم بافت، درمانی مناسب با عوارض جانبی و هزینه

ردیف	موضوع مقاله	پژوهندگان	سال چاپ
۱	Use of Autologous Leucocyte- and Platelet-Rich Plasma (L-PRP) in the Treatment of Aural Hematoma in Dogs	Roberta Perego و همکاران	۲۰۲۱
۲	Evaluation of Three Methods of Platelet-Rich Plasma for Treatment of Equine Distal Limb Skin Wounds	Roberta Carneiro da Fontoura Pereira و همکاران	۲۰۱۹
۳	Treatment of canine osteoarthritis with allogeneic platelet-rich plasma: review of five cases	José Catarino و همکاران	۲۰۲۰
۴	Current Evidence on Using Platelet Rich Plasma as a Therapeutic Modality for Veterinary Orthopedic Conditions	H.M. Suranji Wijekoon و همکاران	۲۰۲۱
۵	Editorial: Platelet Rich Plasma (PRP) in Companion and Farm Animals	Roberta Perego و همکاران	۲۰۲۲
۶	Effect of Autologous Plasma Treatment on the Cornea Regeneration with Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs	YurY AnAtolYevich و همکاران VAtnikov	۲۰۲۰

جدول ۱- مقاله‌های اصلی مورد استفاده در این پژوهش

کمتر در مقایسه با سایر تکنیک‌ها است (۱۰). پلاکت‌ها سلول‌های بنیادی را جذب و تحریک کرده و باعث ایجاد داربست می‌شوند، از این اثر هم‌افزایی PRP با سلول‌های بنیادی درمانی در ترمیم غضروف، استخوان و بافت نرم نیز استفاده می‌شود. افزودن غلظت‌های بیشتر PRP باعث افزایش سرعت آپوپتوز می‌شود، با این فرض، غلظت بالاتر فاکتورهای رشد در سلول ممکن است اثر مضر و نه مفیدی داشته باشد (۱۰). هماتوم گوش یکی از از بیماری‌های شایع در سگ‌ها است که دلیل شیوع واقعی آن ناشناخته است (۱۲). هماتوم‌های گوش تورم‌هایی از مایعی به نام سروسانگوبینوس است که در زیر پوست سطح مقعر پینیای گوش جمع شده و در نهایت منجر به جدایی پوست از غضروف زیرین می‌گردد (۵، ۱۵). از آنجایی که دلیل اصلی ایجاد هماتوم گوش مشخص نیست، روش‌های درمانی متعددی در بهبود این بیماری استفاده می‌شود (۵، ۱۶، ۱۷). اهداف درمانی در هماتوم گوش باید شناسایی و درمان بیماری زمینه‌ای برای جلوگیری از عود، ایجاد زهکشی، حفظ ظاهر طبیعی گوش باشد (۵). در بین درمان‌های پیشنهاد شده دو درمان زهشکی سوزن با (یا بدون) استفاده به همراه کورتیکواستروئیدهای موضعی و مدیریت جراحی به دلیل جلوگیری از عود مجدد می‌باشد (۱۴، ۱۷). Perego و همکاران به درمان بالینی PRP بر روی هماتوم گوش سگ‌ها

پرداختند که در آن ۱۷ سگ را مورد درمان قرار دادند (۵). تهیه PRP برای این تیم به صورت خلاصه شامل شامل یک کیت جمع‌آوری خون استریل یکبار مصرف، یک سانتریفیوژ اختصاصی و یک دستگاه خودکار برای تهیه و جداسازی پلاسمای غنی از گلبول سفید و پلاکت (L-PRP) بود (۵). در مطالعه فوق، ۵ سگ عود زودهنگام هماتوم گوش پس از درمان گزارش شد که سه سگ از این پنج سگ تحت درمان دوم با L-PRP قرار گرفتند که منجر به بهبود کامل هماتوم گوش در روزهای بعدی شد. در ده سگ دیگر در روز هفتم پس از درمان، هماتوم گوش به کمتر از ۵۰٪ اندازه اولیه (یا کامل از بین رفته بود) رسید (۵). هیچ عود طولانی مدتی در پیگیری تلفنی که ۶ ماه پس شروع آزمایش انجام شد، گزارش نشد (۵). نرخ عود کوتاه مدت درمان با L-PRP در مقایسه با درمان زهکشی سوزن با کورتیکواستروئیدهای موضعی و روش جراحی به ترتیب کمتر و بیش تر بود (۵). همچنین در این پژوهش عوارض جانبی و واکنش التهابی پس از درمان L-PRP گزارش نشد که می‌توان عدم واکنش التهابی آن را به دلیل گلبول‌های سفید که عملی ضد عفونی طبیعی را انجام می‌دهند، نسبت داد (۵). در مطالعه صورت گرفته بر روی ۲۸ حیوان که شامل ۱۶ گربه و ۱۲ سگ مشخص شد که ۵۰٪ سگ‌ها به ۲ تزریق با فواصل ۱ هفته و گربه‌ها به ۳ تزریق با فواصل ۱ هفته برای بهبود زخم قرنیه نیاز دارند (۷). با بررسی ماتریکس متالوپروتئیناز MMP-۲، MMP-۹ و بیومارکهای استرس اکسیداتیو را در اشک بیماران تحت درمان مشخص شد که تزریق زیرملتحمة PRP یک روش کارآمد برای زخم قرنیه است (۷). در درمان خشکی چشم ۲۰ سگ مورد مطالعه قرار گرفته شد، که به ۲ گروه تقسیم شدند تمامی حیوانات دارای علائم خشکی چشم بودند، یک گروه تحت درمان استاندارد و معمولی قرار گرفته و گروهی دیگر تحت درمان با PRP قرار گرفتند (۶). در درمان خشکی چشم به روش PRP، طول دوره درمانی به مدت ۶۰ روز بود که پروتکل درمانی شامل هرروز قطره چشمی سیپروت سه مرتبه در روز، پماد چشمی سیکلوسپورین سه مرتبه در روز،

کورنرژل سه مرتبه در روز و ۰/۳ میلی‌متر PRP در زیرملتحمة یکبار در هفته انجام شد (۶). در گروه درمانی معمولی هرروز قطره چشمی سیپروت سه مرتبه در روز، پمادچشمی سیکلوسپورین سه مرتبه در روز، کورنرژل سه مرتبه در روز و سدیم کلرید ۰/۹٪ به میزان ۰/۳ میلی‌لیتر یکبار در هفته در زیرملتحمة استفاده شد (۶). این آزمایش به مدت ۲ ماه صورت گرفت (۶). با توجه به تست اشک شیرمر (STT) صورت گرفته در حیوانات مورد آزمایش در گروه با درمان معمولی بعد از ۳۰ روز نتیجه 1.3 ± 1.8 و در حیوانات تحت درمان با PRP، 0.99 ± 1.3 و در ۶۰ روز از آزمایش نتایج تست (STT) در گروه درمانی معمولی 1.6 ± 1.8 و در گروه تحت درمان با PRP 1.3 ± 1.5 بود که تاثیر درمانی بیشتر به دلیل استفاده از PRP بود (۶). براین اساس میتوان فرض کرد که فاکتورهای موجود در PRP سبب بهبود حساسیت قرنیه و بافت ملتحمة شده است که نشان داد میتوان از درمان PRP برای بیماری‌هایی مثل زخم قرنیه، دیستروفی قرنیه، سوختگی‌های چشم، کرم‌های چشم استفاده کرد (۶). زخم‌های اندام دیستال در اسب‌ها، درمان‌های شدیدتر و گران‌تری دارند که خسارات قابل توجهی در دامپزشکی اسب می‌زند (۸، ۱۸). از دلایل آن می‌توان به اندازه ضایعه، کشش، تحرک، خون‌رسانی ضعیف، حساسیت به عفونت، نوع بافت و غیره اشاره کرد (۱۹). این زخم‌ها معمولاً یک فرآیند مزمن بوده که باعث ایجاد زخم غیربهبودی به همراه بافت گرانولاسیون بیش از حد در این ضایعات می‌شود (۸، ۲۰). پژوهش da Fontoura و همکاران به بررسی سه شکل درمان با PRP یعنی به صورت PRP خود ژن به شکل زیرجلدی زیر لبه‌های زخم، PRP خودژن به شکل ژل و PRP همولوگ (PRPhom) به شکل زیرجلدی زیر لبه‌های زخم برای کاهش زمان بهبودی در کنار بهبودی بهتر انجام شد (۸). در حدود ۴۲ درصد از اسب‌هایی که PRP را دریافت کردند، زمان بهبودی حدود ۱۵ روز کمتر از زخم‌هایی بود که هیچ درمانی دریافت نکرده بودند (۸). در نیمی از زخم‌ها درمان با PRP تاثیری در تغییر زمان بهبودی در مقایسه با بدون

معمول ترین روش استفاده از استخوان اسفنجی اتولوگ یا استخوان مصنوعی است اما در حال حاضر روش های نوین تری مانند PRP قابل استفاده است (درمان با PRP در ترکیب با پیوند استخوان اسفنجی اتولوگ) (۱۰). آزمایش بر روی خوک ها نشان داده است که در درمان با PRP همراه با ترکیب پیوند استخوان اسفنجی اتولوگ منجر به بهبود قابل توجهی در بازسازی استخوان می شود (۱۰). با توجه به نتایج بدست آمده فوق، درمان PRP ممکن است در غلبه بر چالش های جراحی اصلاح شکستگی های جوش نخورده و بهبود درمان ها و مدیریت شکستگی امیدوارکننده باشد (۱۰). استئوآرتریت (OA) بیماری مزمن تخریب کننده مفاصل در حیوانات و انسان است که یکی از علل اصلی درد مزمن و لنگش در سگ ها است (۹). در حال حاضر، پروتکل درمانی و جراحی موثری برای درمان این بیماری وجود ندارد و بیشتر کنترل و کاهش درد آن با استفاده از داروهایی مثل ضدالتهاب های غیراستروئیدی، ضد دردهای اویپوئیدی و غیره است (۲۱). José Catarino و همکاران بر روی پنج سگ مبتلا به استئوآرتریت، عملکرد و تاثیر PRP بر درمان استئوآرتریت را بررسی کردند (۹). در این پژوهش لنگش و درد را هرکدام به ۵ درجه تقسیم بندی کردند که درجه بالاتر، شدت بیشتر است (۹). همچنین معاینه ارتوپدی حیوانات که لنگش و درد در آن سنجیده می شد، در روزهای ۰، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ پس از کاربرد PRP بود (۹). PRP این پژوهش آلوژنیک و به صورت ژل بود که در مفاصل استئوآرتریت حیوانات تزریق داخل مفصلی به همراه آرام بخشی شد (۹). نویسندگان این مقاله گزارش کردند تمامی حیوانات پس از ۹۰ روز درمان بهبود یافتند (۹). همه حیوانات پس از ۹۰ روز کاهش درجه لنگش را داشتند به طوریکه دو حیوان گام طبیعی (درجه صفر)، دو حیوان با درجه لنگش ۳ به درجه ۲ و ۱ کاهش پیدا کردند و تنها حیوانی که درجه لنگش ۴ داشت به ۲ کاهش یافت (۹). در ارزیابی درد نیز سه حیوان اول بدون درد شدند و حیوانات ۴ و ۵ به ترتیب از درد شدید و متوسط به حیف کاهش حدت پیدا کردند (۹).

درمان نبود (۸). در کمتر از ۹ درصد موارد، درمان با PRP موجب افزایش زمان بهبودی نسبت به زخم های بدون درمان گردید (۸). زخم هایی که ژل PRP را دریافت کردند، در بیش از نیمی (۶۲.۵٪)، بهبودی زخم شان به طور قابل توجهی سریع تر از گروه کنترلی بود (۸). قابل ذکر است در یک مورد از اسب ها این زمان افزایش یافته بود (۸). زخم هایی که PRP همولوگ دریافت کردند، بهبودی زخم شان سریع تر از بهبود زخم های کنترل شده (بدون درمان) بود و همچنین هیچ موردی در این شکل از درمان افزایش زمان در بهبودی ثبت نشد (۸). زخم های درمان شده با تزریق PRP، زمان بهبودی را دو اسب کاهش و در یک اسب افزایش دادند (۸). در مقایسه سه شکل درمان، PRP همولوگ باعث بهبود سریع زخم، بدون عارضه جانبی و کاهش تشکیل بافت گرانولاسیون گردید (۸). ژل PRP در مقایسه با گروه کنترل، التهاب خفیف تری را ایجاد ولی موجب افزایش رگ زایی در زخم شد که برای تغذیه سلول های جدید و ترمیم بافت مهم است (۸). در خصوص فاکتورهای فیبروبلاست و بلوغ کلاژن تفاوت معناداری بین گروه ها مشاهده نشد (۸). در این پژوهش می توان نتیجه گرفت که شکل های متفاوت PRP برای زخم های اندام دیستال مفید است و زمان بهبود را می توانند کاهش دهد (۸). آسیب بر تاندون ها می تواند بر زندگی و عملکرد اسب یا سگ تاثیر به سزایی بگذارد. برای درمان آسیب به تاندون و رباط در روش PRP با ترکیب سیتوکین ها و فاکتورهای رشد متعدد ها که سبب افزایش تکثیر تنوسیت ها و سنتز کلاژن و ماتریکس شده که سبب گردد که علائم بالینی بهبود یابد (۱۰). مشابه ترمیم تاندون، استفاده از PRP کارایی بالایی را در درمان آسیب های عضلانی از طریق تکثیر سلولی، تمایز و بازسازی بافت پس از پاسخ التهابی اولیه نشان داده است که مطالعات صورت گرفته نشان از بهبود سریع تر در درمان با PRP به همراه توانبخشی در مقایسه با درمان با توانبخشی به تنهایی نشان داد (۱۰). روش های متفاوتی برای درمان نقایص استخوانی معرفی شده است که برای پرکردن ترک و نقص در استخوان های کوچک

نتیجه‌گیری

طبق پژوهش‌های صورت گرفته در شش مقاله فوق، می‌توان از درمان به وسیله PRP در بخش‌های مختلف چون چشم، هماتوم گوش، زخم‌ها و استئوآرتریت استفاده کرد که این درمان عوارض جانبی کمتر داشته و ویژگی‌های خوبی مانند

سریع‌تر بودن و همچنین به واسطه وجود گلبول‌های سفید، یک ضدمیکروب موثر است.

منابع

۱. Coppi, P.D., *Regeneration from fat: a clinical reality?* ۲۰۱۲, Oxford University Press.
۲. Guercio, A., et al., *Production of canine mesenchymal stem cells from adipose tissue and their application in dogs with chronic osteoarthritis of the humeroradial joints*. Cell biology international, ۲۰۱۲. ۳۶(۲): p. ۱۸۹-۱۹۴.
۳. Gato-Calvo, L., et al., *Platelet-rich plasma in osteoarthritis treatment: review of current evidence*. Therapeutic advances in chronic disease, ۲۰۱۹. ۱۰: p. ۲۰۴۰۶۲۲۳۱۹۸۲۵۵۶۷.
۴. Marx, R.E., *Platelet-rich plasma (PRP): what is PRP and what is not PRP?* Implant dentistry, ۲۰۰۱. ۱۰(۴): p. ۲۲۵-۲۲۸.
۵. Perego, R., et al., *Use of autologous leucocyte-and platelet-rich plasma (L-PRP) in the treatment of aural hematoma in dogs*. Veterinary Sciences, ۲۰: (۹)۸. ۲۱p. ۱۷۲.
۶. Vatnikov, Y.A., et al., *Effect of autologous plasma treatment on the cornea regeneration with keratoconjunctivitis sicca in dogs*. J. Anim. Health Prod, ۲۰۲۰. ۸(۱): p. ۱-۷.
۷. Perego, R., D. Proverbio, and J.U. Carmona, *platelet rich plasma (PRP) in companion and farm animals*. ۲۰۲۲, Frontiers Media SA. p. ۸۳۴۵۴۶.
۸. da Fontoura Pereira, R.C., et al., *Evaluation of three methods of platelet-rich plasma for treatment of equine distal limb skin wounds*. Journal of equine veterinary science :۷۲. ۲۰۱۹, p. ۱-۷.
۹. Catarino, J., et al., *Treatment of canine osteoarthritis with allogeneic platelet-rich plasma: review of five cases*. Open Veterinary Journal, ۲۰۲۰. ۱۰(۲): p. ۲۲۶-۲۳۱.
۱۰. Wijekoon, H.S. and D.N. De Silva, *Current evidence on using platelet rich plasma as a therapeutic modality for veterinary orthopedic conditions*. World's Veterinary Journal, ۲۰۲۱. ۱۱(۱): p. ۷۳-۷۸.
۱۱. Bottegoni, C., et al., *Homologous platelet-rich plasma for the treatment of knee osteoarthritis in selected elderly patients: an open-label, uncontrolled, pilot study*. Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease, ۲۰۱۶. ۸(۲): p. ۳۵-۴۱.
۱۲. Joyce, J. and M. Day, *Immunopathogenesis of canine aural haematoma*. Journal of small animal practice, ۱۹۹۷. ۳۸(۴): p. ۱۵۲-۱۵۸.
۱۳. Henderson, R. and R. Horne, *The pinna*. Textbook of small animal surgery, ۲۰۰۳. ۱: p. ۱۷۳۷-۱۷۴۶.
۱۴. Hall, J., S. Weir, and J. Ladlow, *Treatment of canine aural haematoma by UK veterinarians*. Journal of Small Animal Practice, ۲۰۱۶. ۵۷(۷): p. ۳۶۰-۳۶۴.
۱۵. MacPhail, C., *Current treatment options for auricular hematomas*. Veterinary Clinics: Small Animal Practice, ۲۰۱۶. ۴۶(۴): p. ۶۳۵-۶۴۱.
۱۶. Hewitt, J. and J. Bajwa, *Aural hematoma and it's treatment: a review*. The Canadian Veterinary Journal, ۲۰۲۰. ۶۱: (۳)p. ۳۱۳.
۱۷. Lahiani, J. and G.W. Niebauer, *On the nature of canine aural haematoma and its treatment with continuous vacuum drainage*. Journal of Small Animal Practice, ۲۰۲۰. ۶۱(۳): p. ۱۹۵-۲۰۱.

-
۱۸. Scott, D., W. Miller, and C. Griffin, *Environmental skin diseases*. Muller & Kirk's Small Animal Dermatology, ed, ۲۰۰۱. ۶: p. ۱۰۷۳-۱۱۱۱.
۱۹. Kim, J.H., C. Park, and H.M. Park, *Curative effect of autologous platelet-rich plasma on a large cutaneous lesion in a dog*. Veterinary dermatology, ۲۰۰۹. ۲۰(۲): p. ۱۲۳-۱۲۶.
۲۰. Sánchez, M., et al., *Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices*. The American journal of sports medicine, ۲۰۰۷. ۳۵(۲): p. ۲۴۵-۲۵۱.
۲۱. Bland, S.D., *Canine osteoarthritis and treatments: a review*. Veterinary Science Development, ۲۰۱۵. ۵(۲)

Overview of PRP Applications in Veterinary Medicine

Mahan Yaghmaee^{۱*}, Amirhossein Fouroghi Far^۱

^۱- Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

*Corresponding author: mahanyh^{۱۹}@gmail.com

Abstract

Platelet-Rich Plasma (PRP) can accelerate the healing process by providing higher concentrations of platelet-derived growth factors. PRP has been used in various diseases. In a study on dogs with aural hematomas, ۱۷ dogs were treated with L-PRP. Early recurrence was observed in ۵ dogs, of which ۳ achieved complete recovery after a second treatment. In ۱۰ dogs, after ۷ days, the hematoma had reduced to less than ۵۰٪ of its initial size or had completely disappeared. For the treatment of corneal ulcers in ۲۸ animals (۱۶ cats, ۱۲ dogs), ۵۰٪ of the dogs required ۲ injections, while cats required ۳ injections. Examination of biomarkers and matrix-degrading enzymes (MMP-۲, MMP-۹) indicated that PRP is an efficient method for promoting corneal ulcer healing. In a study on dry eye treatment in ۲۰ dogs, the animals were divided into two groups: standard treatment and PRP treatment. The Schirmer Tear Test (STT) showed better results in the PRP group. In the treatment of distal limb wounds in horses, PRP gel resulted in faster healing in ۶۲,۵٪ of cases compared to the control group. Homologous PRP did not cause any delay in healing and led to a reduction in granulation tissue. However, in some cases (<۹٪), PRP led to an increased healing time. PRP has been shown to increase the proliferation of tendon cells and enhance collagen and matrix synthesis, resulting in clinical improvement. When used alongside rehabilitation, PRP leads to faster recovery compared to rehabilitation alone. Combining PRP with autologous cancellous bone grafts in pigs resulted in enhanced bone regeneration. In the treatment of osteoarthritis, ۵ dogs were treated with intra-articular allogeneic PRP gel. After ۹۰ days, all animals exhibited a reduction in pain and lameness. Two animals returned to a normal gait, while the others showed significant improvement.

Keywords: Platelet-rich plasma, PRP, accelerated wound healing, corneal ulcer

شناسایی گونه های کمپیلو باکتر در مدفوع سگ و گربه های به ظاهر سالم با تکنیک "PCR" در شهرستان گنبد

مرتضی رزاقی منش^{۱*}، محمدرضا نوروزی خراسانی^۲، ماهان یغمائی^۳، فاطمه همایون^۳، محمد حسین ناصربخت^۳

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

۲- دانش آموخته، گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

۳- دانشجوی دکتری دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@gmail.com

چکیده

کمپیلوباکتریوز یک بیماری مشترک بین انسان و دام است که موجب اسهال در انسان، سگ، گربه و دیگر حیوانات اهلی و وحشی می شود. هدف از انجام مطالعه ی حاضر، شناسایی گونه های کمپیلو باکتر در مدفوع سگ و گربه های به ظاهر سالم با تکنیک PCR در شهرستان گنبد بود. در این تحقیق با اخذ تاریخچه کامل از گربه های ارجاعی، اقدام به جمع آوری نمونه گردید. نمونه گیری به کمک سوآب استریل از ناحیه رکتوم تعداد ۱۰۰ قلاده سگ و گربه به ظاهر سالم انجام شد. برای نمونه گیری، از دو سوآب به شکل هم زمان استفاده گردید. یک سوآب برای کشت و جداسازی باکتری و نمونه سوآب دیگر به منظور استخراج DNA استفاده شد و سپس آزمون PCR انجام شد و داده های مورد نظر آنالیز آماری شدند. نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که در هیچ یک از گربه ها آلودگی مشاهده نشد. در سگ ها، آلودگی به کمپیلوباکتر به میزان ۲۰،۸۳ درصد بود. آلودگی در سگ های مسن بیشتر از سگ های جوان بود، به نحوی که میزان آلودگی با افزایش سن افزایش یافت. به دلیل حضور مکرر گونه های کمپیلوباکتر در مدفوع گربه ها، این اجرام می توانند به عنوان یک عامل مخاطره آمیز، برای سلامت عمومی نقش بازی کنند. بر این اساس، تست های دوره ای و جدا کردن سگ و گربه های اسهالی از دیگر حیوانات، به خصوص سگ و گربه هایی که از گوشت خام استفاده و در پناهگاه زندگی می کنند، اهمیت زیادی دارد.

واژگان کلیدی: کمپیلوباکتر، سگ، گربه، PCR

مقدمه

کمپیلوباکتر یک باکتری گرم منفی، میله‌ای متحرک (در اندازه ۵-۱/۵ × ۰/۵ - ۰/۲ میکرومتر)، اکسیداز مثبت، کاتالاز متغیر، فاقد اسپور و میکروآئروفیلیک است (۵). گونه‌های این باکتری موجب اسهال در انسان، سگ، گربه و دیگر حیوانات اهلی و وحشی می‌شوند. از گونه‌های مهم کمپیلوباکتر در حیوانات خانگی می‌توان به کمپیلوباکتر آپسالینسیس، کمپیلوباکتر ژژونی، کمپیلوباکتر هلوتیکوس، کمپیلوباکتر لاری، کمپیلوباکتر فلیس و کمپیلوباکتر کولای اشاره کرد که از سگ‌ها و گربه‌های اسهالی و بدون علامت جدا شده‌اند (۶؛ ۷). اگر چه شایع‌ترین گونه جدا شده از حیوانات، کمپیلوباکتر آپسالینسیس است، اما این گونه تنها موجب عفونت‌های اسپورادیک در انسان می‌شود. هشتاد درصد عامل کمپیلوباکتریوز در انسان، کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر کولای است (۸، ۹).

روش انتقال اجرام دهانی-مدفوعی است. از آن جا که موارد عفونت ناشی از کمپیلوباکتر در انسان، در حال افزایش است، تعیین شیوع این پاتوژن‌ها، در حیواناتی که در تماس بسته با انسان زندگی می‌کنند، مهم است. سگ‌ها و گربه‌های آلوده ممکن است بدون علائم بالینی بوده ولی باکتری را از خود دفع نمایند؛ لذا تشخیص دقیق و سریع حیوانات حامل، بسیار حائز اهمیت می‌باشد؛ البته گاهی هم علائم بالینی (اسهال) در حیوانات گزارش شده است. شدت بیماری بستگی به تعداد ارگان‌های خورده شده توسط میزبان، میزان در معرض قرار گرفتن‌های قبلی و سطح آنتی بادی محافظ در بدن دارد (۱۰). زمانی که استرس به حیوانات وارد شود، به بیماری حساس‌تر خواهند شد. دیگر پاتوژن‌های روده‌ای نظیر پاروویروس، کروناویروس، ژیا‌ردیا، سالمونلا و شیگلا ممکن است نقش سینرژیسم بازی کنند (۶). حضور خون و لکوسیت‌ها در مدفوع، پرخونی، ادم، اولسر مخاط و گهگاهی سپتیمی نشان می‌دهد که باکتری می‌تواند تهاجمی باشد. عفونت تجربی در بچه گربه‌ها و سگ‌ها، با سوبه‌های به دست آمده از انسان‌های مبتلا به اسهال، شدت کمتری داشته است. به نظر می‌رسد که حیوانات مقاوم‌تر باشند و یا به اثرات بیماری‌زای گونه‌های مختلف کمپیلوباکتر، بهتر سازگاری پیدا کرده باشند (۱۱). علائم اسهال ناشی از کمپیلوباکتر در حیوانات خانگی و نیز انسان، از مدفوع شل تا آبکی و اسهال موکویید همراه با خون متغیر است. کمپیلوباکتریوز حاد، با اسهال

مملو از موکوس، آبکی و یا رگه‌های صفر، بی‌اشتهایی جزئی و گهگاهی استفراغ، بالا رفتن درجه حرارت و الکوسیتوز همراه است (۱۲).

علائم بالینی در گربه‌ها نسبت به سگ‌ها، شدت کمتری دارد و در صورت بروز علائم، در گربه‌های با سن کمتر از ۶ ماه، بیشتر دیده می‌شود. بچه گربه‌ها و توله سگ‌ها، به دلیل فقدان در معرض قرار گرفتن‌های قبلی و توسعه‌ی آنتی بادی محافظ، بیشتر علائم بالینی را نشان می‌دهند به طور کلی سگ‌ها و گربه‌های بالغ صاحب دار، نسبت به حیوانات ولگرد و با آنهایی که در پناهگاه و محیط‌های آزمایشگاهی نگهداری می‌شوند، کمتر مبتلا می‌گردند. فاکتورهای خطر شامل زندگی کردن با حیوان آلوده، کوچک بودن جثه حیوان، داشتن سن کمتر از ۱ سال، تغذیه با غذاهای تجاری و به ویژه گوشت خام طیور و در برخی موارد شیر غیر پاستوریزه می‌باشد. در فصل پاییز، نیز شیوع آلودگی بیشتر گزارش شده است (۶، ۱۳، ۱۴)، در ایران شناسایی کمپیلوباکتر، از سگ‌ها و گربه‌های شهر تهران گزارش شده است (۱۵). در دیگر مطالعات میزان جداسازی باکتری، از مدفوع گربه‌ها و سگ‌ها، از صفر تا ۵۰ درصد متغیر بوده است (۶، ۱۶). روش معمول برای تشخیص باکتری، تهیه سوآب از مدفوع تازه یا گرفتن نمونه از رکتوم است، تست‌های رایج نظیر الایزا برای تشخیص کمک کننده هستند؛ اما روش مولکولی نظیر PCR، از دقت بالاتری برخوردار است. داروی مناسب برای درمان اسهال ناشی از کمپیلوباکتر در انسان، اریترومايسين است که جهت درمان کمپیلوباکتریوز در سگ‌ها نیز مؤثر است. از دیگر آنتی-بیوتیک‌های مورد استفاده، فورازولیدین، جنتامایسین، نئومايسين، کلیندامایسین و تتراسیکلین گزارش شده است. رعایت جنبه‌های بهداشتی برای پیش‌گیری از عفونت در انسان لازم است، چرا که عمدتاً سگ‌ها و گربه‌ها می‌توانند به عنوان منبع عفونت مطرح باشند؛ بنابراین لازم است صاحبان حیوانات خانگی هر ۶ ماه یک بار جهت انجام آزمایش مدفوع به بیمارستان‌های دامپزشکی مراجعه نمایند (۱). از آن جایی که تا کنون مطالعه‌ای بر روی کمپیلوباکتر در گربه‌های منطقه گنبدکاووس استان گلستان صورت نگرفته است، هدف از انجام مطالعه حاضر، شناسایی گونه‌های کمپیلوباکتر در مدفوع سگ و گربه‌های به ظاهر سالم با تکنیک PCR در شهرستان گنبد بود.

مواد و روش کار

با استفاده از تکنیک هایی چون الکتروفورز افقی و بعضا عمودی است.

روش کار تکنیک PCR

در ابتدا جهت تعیین مناسب ترین دما برای پرایمر های طراحی شده، ست آپ گرادیانت دمایی انجام شد. جهت انتخاب بهترین دما ۵ دما به ترتیب ۴۸، ۴۹، ۵۰، ۵۱ و ۵۲ درجه سانتی گراد که در محدوده دمای اتصال به دست آمده هنگام طراحی پرایمر بودند، انتخاب شدند. برنامه ریزی دستگاه به طوری انجام شد که به هر دو ستون متوالی فرد و زوج، یکی از دماها اعمال شود و نتیجه این مرحله، انتخاب دمای ۴۹ برای پرایمر و دمای ۵۰ درجه به عنوان مناسب ترین دما برای کارکرد بهینه ی پرایمر های طراحی شده برای گونه های کمپیلوباکتر انتخاب شد (۱۲).

ERIC-1R (5'-ATGTAAGCTCCTGGGGATTAC-3')
ERIC-2 (5'- AAGTAAGTGACTGGGGTGAGCG-3')

پس از تعیین دمای بهینه ی هر پرایمر به بخش اصلی بررسی نمونه های DNA توسط تکنیک PCR رسیدیم. واکنش ها توسط دستگاه ترموسایکلر در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر انجام می شد. میزان ۱ میکرولیتر از هر نمونه در میکروتیوب های مخصوص PCR ریخته شدند. در دو میکروتیوب جداگانه میکس مستر پرایمر و آب مقطر تزریقی به نسبت های زیر آماده شده و با مقادیر زیر مواد لازم مخلوط شدند. از دستگاه اسپنر جهت مخلوط کردن بهتر و جمع آوری محتویات میکروتیوب ها در انتهای آن استفاده شد.

-پرایمر رقیق شده ۱۷

-مستر میکس ۱۰۷

-آب مقطر تزریقی ۸۷

-نمونه 1۷ DNA

پیش تر در دو میکروتیوب مشخص مخلوط پرایمر های فوروارد و ریورس رقیق شده به روش زیر آماده شد:

۱۰ میکرولیتر پرایمر فوروارد ، ۱۰ میکرولیتر پرایمر ریورس و ۸۰ میکرولیتر آب مقطر تزریقی در یک میکروتیوب مخلوط شده و نام گذاری شد.

در این تحقیق با اخذ تاریخچه کامل از گربه های ارجاعی، اقدام به جمع آوری نمونه گردید. نمونه گیری به کمک سوآب استریل از ناحیه رکتوم تعداد ۱۰۰ قلابه گربه و سگ به ظاهر سالم انجام شد. نمونه برداری تنها از حیواناتی صورت گرفت که در یک ماه اخیر، تجویز آنتی بیوتیک در آنها صورت نگرفته بودند.

نمونه گیری

برای نمونه گیری، از دو سوآب به شکل هم زمان استفاده گردید. یک سوآب برای کشت و جداسازی باکتری و نمونه سوآب دیگر به منظور استخراج DNA استفاده شد. جهت کشت و جداسازی، نمونه های سوآب مدفوعی اخذ شده، بلافاصله به محیط کشت مایع پرستون براث منتقل و به آزمایشگاه میکروب شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شوشتر ارسال گردید. نمونه سوآب مدفوع دیگر جهت استخراج DNA به میکروتیوب حاوی آب مقطر استریل منتقل و تا زمان استخراج در دمای ۲۰- درجه ی سانتی گراد نگهداری شد (۱).

استخراج DNA

مورد نیاز جهت این آزمون، توسط کیت استخراج DNA شرکت بیونیر، بر روی نمونه های سوآب اخذ شده و پرگنه های مشکوک انجام گردید. در این تحقیق از آغازگرهای اختصاصی جنس کمپیلوباکتر و گونه های آن (ژژونی، کولای، لاری و آپسالینسیس) برای ردیابی جنس و گونه های احتمالی کمپیلوباکتر در سوآب های مدفوعی و نیز تأیید جدایه های کمپیلوباکتر از پرگنه های مشکوک، در واکنش PCR چند گانه استفاده گردید (۱۶).

روش مولکولی

در بررسی حاضر، جهت بررسی حضور باکتری مورد نظر در میان گربه های مورد مطالعه از تکنیک PCR دو مرحله ای استفاده شد. روش PCR یک تکنیک جدید و پرکاربرد در مطالعات مولکولی می باشد. از جمله کاربرد های این روش می توان به شناسایی و تعیین وجود یک توالی خاص، شناسایی نقاط متیله در توالی خاص نسبت به توالی مرجع، گروه بندی افراد بر حسب ژنوتیپ خاص و تعیین کلاد افراد و ترسیم درخت های فیلوژنتیکی اشاره کرد. در این تکنیک، اساس کار بر تکثیر قطعه مورد نظر و سپس شناسایی آن

روش کار الکتروفورز DNA تکثیر شده بر روی ژل آگاروز

ابتدا جهت تهیه ژل آگاروز ۱٪ به مقدار ۷۰ میلی لیتر و با استفاده از بافر TAE X50، لازم بود محاسبات جهت به دست آوردن نسبت های صحیح از پودر آگاروز، بافر TAE و آب مقطر تزریقی مورد نیاز برای تهیه ژل انجام شود. پس از انجام محاسبات، میزان ۰.۷ گرم از پودر آگاروز توسط ترازو وزن شده و به داخل ارلن تمیز و خشکی انتقال داده شد. بافر TAE رقیق شده توسط آب مقطر به ارلن حاوی پودر آگاروز اضافه شده و درون مایکروویو قرار داده شد. حرارت دهی توسط مایکروویو تا زمانی که محلول کاملاً شفاف شود ادامه یافت. سپس، ارلن در دمای اتاق به مدت چند دقیقه قرار داده شد تا زمانی که دمای آن به ۶۰-۵۰ درجه ی سانتی گراد کاهش یافت. در این فاصله ی زمانی سینی یا tray مخصوص دستگاه الکتروفورز آماده شد. به صورتی که دو طرف tray جهت قرارگیری ژل و عدم ریخته شدن آن به خارج از tray توسط چسب نواری مسدود شد و شانه مخصوص در tray قرار داده شد. میزان ۱ میکرولیتر safe stain به محتویات ارلن اضافه شد و به آرامی هم زده شد تا safe stain به طور یکنواخت درون ژل حل شود. محتویات ارلن به درون tray انقال یافت. تا زمانی که ژل به طور کامل ببندد صبر کرده و پس از اطمینان از اینکه ژل به طور کامل به حالت جامد در آمده است، شانه از ژل خارج شده و چاهک ها از نظر سالم بودن و عدم وجود شکاف کنترل شدند. Tray حاوی ژل به تانک الکتروفورز انتقال داده شد و بافر TAE تا حدی که ۲ میلی لیتر بالا تر از ژل را بپوشاند، به تانک اضافه شد. میزان ۵ میکرولیتر Ladder در چاهک اول لود (load) شد و DNA و بافر سنگین کننده نیز در چاهک های مجاور لود شد. میزان ولتاژ ۱۰۰-۷۰ ولت به مدت ۴۰ دقیقه در دستگاه الکتروفورز برقرار شد و سپس دستگاه متوقف شده و ژل از Tray جدا شده و برای بررسی باند های مورد نظر به دستگاه کمولومینسانس بررسی ژل (Gel documentation system) منتقل شد و عکس برداری از ژل انجام شد.

تنظیمات لازم از جمله ی دمای ۵۰-۴۹ درجه (بترتیب ذکر شده برای واکنشهای سری اول یا دوم) به عنوان دمای اتصال به دستگاه داده شد و دستگاه به اصطلاح run شد تا تکثیر آمپلیکون های قطعه مورد نظر DNA انجام شود. طی چند مرحله این تکنیک بر ۹۶ نمونه ی DNA استخراج شده از نمونه های خون مورد مطالعه، طبق شرایط ذکر شده 1 انجام گردید. لازم به ذکر است که قرار دادن مواد مورد استفاده از جمله DNA، پرایمر های رقیق شده و مستر بر روی یخ در طول کار، جهت جلوگیری از رسیدن آسیب به این مواد به طور مثال دگرده شدن (degradation) پرایمر ها در اثر دمای اتاق، در این مرحله حائز اهمیت است.

مرحله	زمان	دما
Denaturation	Min3	۹۵C°
Denaturation	S20	۹۵C°
Anecaling	S30	۵۰C°
Extention	S40	۵۲C°
		دنا تورا سیون، اتصال و تکثیر به تعداد ۴۵ چرخه
Final Extention	Min5	۷۲ C°
		مرحله نهایی بعد از ۴۵ چرخه

جدول ۲ - شرایط PCR برای مرحله تشخیص نهایی

در نهایت برای اطمینان از نتایج به دست آمده تعدادی از نمونه ها بر روی ژل آگاروز ۱ درصد ران شدند:

وسایل و مواد مورد نیاز برای ران کردن DNA تکثیر شده بر روی ژل آگاروز

- دستگاه الکتروفورز
- ترازو دیجیتالی
- مایکروویو
- پودر آگاروز
- بافر الکتروفورز TAE
- آب مقطر
- رنگ safe stain شرکت سینا کلون
- ladder ۵۰ و ۱۰۰ جفت باز
- بافر سنگین کننده ی مخصوص DNA یا loading buffer

بحث

کمپیلوباکتر یکی از عوامل اصلی ایجاد کمپیلوباکتریوزیس در انسان می باشد. در اتحادیه اروپا کمپیلوباکتریوزیس به عنوان شایع ترین بیماری مشترک بین انسان و دام معرفی شده است (۱۲). مهمترین گونه های بیماریزای کمپیلو باکتر در انسان شامل کمپیلوباکتر ژرونی و کمپیلوباکتر کولی می باشند. شیوع گونه های کمپیلوباکتر با منشأ حیوانی در بسیاری از کشورها ثبت شده است، اما اطلاعات اندکی از کشورهای در حال توسعه موجود است (۱۷). روش های مولکولی برای تشخیص گونه های کمپیلوباکتر طی سال های اخیر توسعه یافته و هم اکنون از نظر تجاری قابل دسترسی بوده و مورد استفاده قرار می گیرند. به طور معمول در حال حاضر شناسایی کمپیلوباکتر در آزمایشگاه های تشخیص طبی آلمانی بر پایه کشت، جداسازی و تست های تشخیص خواص فنوتیپی است (۱۸). از آنجایی که کمپیلوباکتر جزو باکتری های سخت رشد بوده و جداسازی آن از نمونه های شدیداً آلوده مثل مدفوع که دارای تعداد بیشمار باکتری های سریع الرشد است، مشکل می باشد لذا روش های مولکولی بر پایه PCR می توانند در شناسایی کمپیلوباکتر جانشین روش های کشت از نمونه های بالینی شوند (۱۹) و چنانچه که در مطالعه حاضر مشخص شد؛ با استفاده از روش PCR ۲۰ درصد سگ های مورد بررسی مثبت بودند و آلودگی در هیچ یک از گربه ها مشاهده نشد. در داخل کشور مطالعات معدودی بر روی میزان شیوع کمپیلوباکتر صورت گرفته است. ترکان و همکاران در مطالعه ای در سال ۲۰۱۸ با بررسی شیوع کمپیلوباکتر در سگ و گربه های کشور ایران گزارش نمودند که در مجموع ۱۹ ایزوله کمپیلوباکتر از جمله دو کمپیلوباکتر ژرونی و یک کمپیلوباکتر کولی از نمونه مدفوع سگ و گربه بازیابی شد. میزان شیوع گونه های کمپیلوباکتر ۱۶.۰٪ (۸ از ۵۰) در سگ و ۲۲.۰٪ (۱۱ از ۵۰) در گربه بودند (۲۰). محمدزاده و همکاران (۱۳۹۱) در مطالعه ای با بررسی میزان آلودگی سگ های خانگی به جنس کمپیلوباکتر با استفاده از تکنیک PCR گزارش نمودند که از مجموع ۶۰ نمونه مدفوع سگ، ۱۸ مورد (۳۰ درصد) آلوده به کمپیلوباکتر بودند که از این میان کمپیلوباکتر ژرونی ۸.۳۳ درصد (۵ مورد) از آلودگی ها را به خود اختصاص داد (۲). مصلی نژاد و همکاران (۱۳۹۹) در مطالعه ای گونه های کمپیلوباکتر در مدفوع گربه های خانگی شهرستان اهواز با روش های کشت و واکنش زنجیره ای پلی مرز را مورد جداسازی و شناسایی قرار دادند و گزارش نمودند که در کشت

Campylobacter jejuni	Negative case	Positive case	Age(X)
$\frac{1}{40} = 2.5\%$	$\frac{39}{40} = 97.5\%$	$\frac{1}{40} = 2.5\%$	$0 < X < 1$
$\frac{1}{30} = 3.33\%$	$\frac{29}{30} = 96.67\%$	$\frac{1}{30} = 3.33\%$	$1 \leq X < 2$
$\frac{1}{20} = 5\%$	$\frac{19}{20} = 95\%$	$\frac{1}{20} = 5\%$	$2 \leq X < 3$
$\frac{1}{10} = 10\%$	$\frac{9}{10} = 90\%$	$\frac{1}{10} = 10\%$	$3 \leq X < 4$

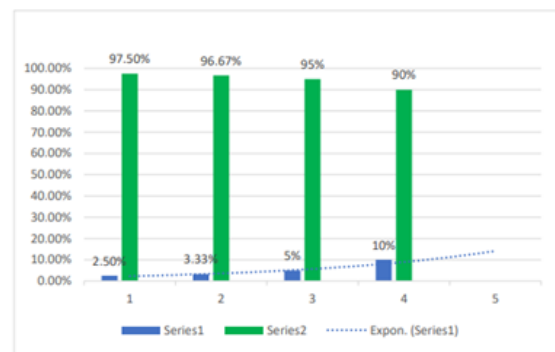
جدول ۱- میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ژرونی در سگ های مورد مطالعه

روش آنالیز آمار

اطلاعات به دست 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 بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن است که در هیچ یک از گربه ها آلودگی به کمپیلوباکتر مشاهده نشد، با این حال، در سگ ها آلودگی به کمپیلوباکتر به میزان ۲۰.۸۳ درصد بود. آلودگی در سگ های مسن بیشتر از سگ های جوان بود، به محوی که میزان آلودگی با افزایش سن افزایش یافت. نتایج این مطالعه نشان داد که آلودگی د سگ های با رنج سنی ۱-۰ سال ۲.۵ درصد، در سگ های ۲-۱ سال ۳.۳۳ درصد، در سگ های ۳-۲ سال ۵ درصد و در سگ های بین ۴-۳ سال ۱۰ درصد بود.



نمودار ۱- میزان آلودگی به کمپیلوباکتر ژرونی در سگ های مورد مطالعه

باکتریایی، تنها ۲ مورد از نظر کمپیلوباکتر مثبت بودند (۱/۹۸ درصد)؛ اما در روش PCR، ۳۷ مورد آلودگی به کمپیلوباکتر تعیین گردید (۳۶/۶۳ درصد). شایع ترین گونه کمپیلوباکتر در میان گربه-های ارجاعی، کمپیلو باکتر آپسالینسیس و کمپیلوباکتر کولای بودند که به ترتیب ۲۳ و ۷ مورد (۶۲/۱۶ و ۱۸/۹۱ درصد) از ۳۷ مورد مثبت تشخیص داده شده را به خود اختصاص دادند. یک شیوع پایین تر از آلودگی به کمپیلوباکتر ژژونی در ۴ مورد (۱۰/۸۱ درصد) (۱). در مطالعه ای دیگر، داورزنی و نیکخو (۱۳۹۶) در مطالعه‌ای با عنوان شناسایی مولکولی کمپیلوباکتر در مدفوع سگ و گربه‌های اهلی شهرکرد به روش Multiplex PCR بیان نمودند که ۲۱ نمونه به عنوان جنس کمپیلوباکتر شناخته شدند. ۳ نمونه متعلق به گونه کمپیلوباکتر ژژونی و ۱۶ نمونه کمپیلوباکتر آپسالانسیس بودند. وزیریان و همکاران (۱۳۹۵) در مطالعه‌ای با جداسازی کمپیلوباکتر از مدفوع گربه‌های شهرستان اصفهان و شهرکرد گزارش نمودند که در مجموع ۵۰ نمونه از رکتال گربه جمع‌آوری شد و از نظر حضور کمپیلوباکتر، میزان آلودگی مربوط به گربه ۱۱ مورد (۲۲ درصد) بود (۳). در مطالعه ای دیگر، محزونیه و همکاران (۱۳۹۲) با شناسایی گونه‌های کمپیلوباکتر در مدفوع سگ‌ها و گربه‌های به ظاهر سالم با استفاده از واکنش زنجیره‌ای پلی مرز چندگانه M-PCR گزارش کردند که در مجموع ۳۹ نمونه از ۱۰۰ نمونه به عنوان آلوده به کمپیلوباکتر شناسایی شدند که از این ۳۹ نمونه، ۲ نمونه متعلق به کمپیلوباکتر ژژونی و ۱۱ نمونه کمپیلوباکتر آپسالانسیس بود (۴). شایان توجه است که تغییرات در شیوع گونه‌های کمپیلوباکتر در سگ‌ها و گربه‌ها با محل مورد مطالعه، جمعیت سگ‌های نمونه‌گیری شده، روش شناسایی و ماهیت سخت‌گیرانه ارگانسیم مرتبط است (۲۱). در سراسر کشورهای دنیا مطالعات متعددی بر روی میزان شیوع کمپیلوباکتر صورت گرفته است. برای مثال، لمون و همکاران (۲۰۲۱) در مطالعه ای به بررسی شیوع جنس کمپیلوباکتر در سگ‌های کشور پرتغال پرداختند و گزارش نمودند که ۴ گونه مختلف کمپیلوباکتر با روش Multiplex PCR و طیف‌سنجی جرمی MALDI-TOF شناسایی شدند که از میان آنها کمپیلوباکتر ژژونی (تعداد = ۱۴، ۴۴٪) به طور کلی بیشترین گونه‌های یافت شده بود (۲۲). شیوع عفونت در آلمان (۸/۴۷ درصد؛ گونه غالب کمپیلوباکتر هلوتیکوس)، ایرلند (۹/۴۲ درصد، گونه ی غالب کمپیلوباکتر آپسالینسیس)، سوئیس (۹/۴۱ درصد گونه ی غالب کمپیلوباکتر آپسالینسیس)، باربادوس

(۳/۳۷ درصد؛ گونه غالب کمپیلوباکتر هلوتیکوس)، نیجریه (۱۸۳ درصد؛ گونه غالب کمپیلوباکتر آپسالینسیس)، نروژ (۱۸ درصد؛ گونه ی غالب کمپیلوباکتر آپسالینسیس)، آرژانتین (۱۶ درصد؛ گونه غالب کمپیلوباکتر ژژونی)، لهستان (۸۶/۹ درصد؛ گونه ی غالب کمپیلوباکتر ژژونی) و برزیل (۸ درصد؛ گونه غالب کمپیلوباکتر ژژونی) گزارش شده است (۶). با انجام مطالعات اپیدمیولوژیک، شیوع عفونت ناشی از کمپیلوباکتر و گونه غالب آن در مناطق مختلف دنیا، متفاوت ذکر شده است. از مهم ترین دلایل ذکر شده میتوان به تفاوت در جمعیت مورد مطالعه، جمعیت متفاوت گربه های اسهالی و سالم، سن و تراکم متفاوت گربه ها، سبک زندگی، تکنیکهای مختلف به کار برده شده جهت تشخیص، موقعیت جغرافیایی منطقه، جیره ی غذایی و نیز فصل نمونه برداری اشاره نمود. دنیس و همکاران در کشور فرانسه در سال فیلم برای شناسایی کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر گولی از دو روش PCR و روش های مرسوم استفاده کردند. آنها نشان دادند که میزان حساسیت روش در سال ۱۹۹۷، ۲۵ نمونه اسهالی سگ را به روش PCR مورد بررسی قرار دادند که ۲۰ مورد از نمونه ها حاوی توالی اختصاصی کمپیلوباکتر بود که از این تعداد ۱۷ نمونه از نظر کمپیلوباکتر ژژونی، ۲ نمونه از نظر کمپیلوباکتر کولی و ۱ نمونه از نظر کمپیلوباکتر ایتسینالیس مثبت بودند (۲۲). نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که آلودگی با کمپیلوباکتر در سگ های مسن بیشتر از سگ های جوان است. در مطالعه ای برخلاف مطالعه حاضر، موسر و همکاران گزارش کرده اند که میزان آلودگی سگهای جوان نسبت به سگ های بالغ بیشتر است (۲۳) ولی در این تحقیق هیچ رابطه معنی داری بین شیوع کمپیلوباکتر با سن گربه های مورد بررسی وجود نداشت. در کشور پرو طی یک بررسی، میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در بین طوطی ها ۸٪ نشان داده شد. در بررسی پرندگان وحشی انگلستان شمالی، آمریکا و نیوزلند میزان آلودگی به کمپیلوباکتر به ترتیب ۱/۱، ۲/۸ و ۵/۱۲٪ گزارش شد (۲۴). این در حالی است که میزان موارد آلودگی به کمپیلوباکتر در بین سگها در بیشتر موارد بالای ۵۰٪ گزارش شده است سگ و گربه به عنوان مخازن کمپیلوباکتر ژژونی و کمپیلوباکتر آپسالانسیس هستند. مخزن کمپیلوباکتر لاری معمولا پرندگان می باشد اما از سگ و گربه هایی که با پرندگان نگهداری می شوند نیز جدا شده اند (۲۵). درارتباط با آلودگی مواد غذایی به کمپیلوباکتر کارهای زیادی در ایران انجام شده، از جمله جمشیدی و همکاران یکصد

زئونوز می باشد. میزان جداسازی اجرام کمپیلوباکتر بستگی به عوامل مختلف، از جمله محیط نگهداری حیوان دارد، به نحوی که در محل های متراکم نظیر پناهگاه ها، شیوع عفونت بالاتر خواهد بود. فاکتورهای خطر در این زمینه عواملی نظیر استرس، تغییرات جیره ی غذایی از جمله مصرف غذای خام و افزایش شیوع بیماری های گوارشی ذکر شده است (۶). در مطالعه ی حاضر، میزان شیوع کمپیلوباکتر (۳۶/۶۳ درصد) در یک حد نسبتاً بالا به دست آمد. از دلایل احتمالی آن می توان به دسترسی گربه های خانگی به محیط بیرون و دیگر عوامل خطر (نظیر اسهالی بودن، دسترسی به غذای خام و سن زیر ۱ سال) اشاره کرد.

نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر بیانگر آن بود که آلودگی به کمپیلوباکتر در گربه های مورد مطالعه، به میزان ۲۰/۸۳ درصد بود. آلودگی در سگ های مسن بیشتر از سگ های جوان بود، به نحوی که میزان آلودگی با افزایش سن افزایش یافت.

لاشه طیور را به دو روش m-PCR و روش های مرسوم مورد بررسی قرار دادند و میزان آلودگی را به روشهای مرسوم، ۷۸٪ و به روش m-PCR، ۲۸٪ گزارش کردند (۲۶). اهمیت بررسی میزان آلودگی به کمپیلوباکتر در مواد غذایی به این دلیل است که گوشت مرغ یکی از مواد غذایی مورد استفاده سگ و گربه می باشد. در کل می توان گفت سگ ها نسبت به سایر حیوانات از جمله پرندگان، در انتقال کمپیلوباکتر به انسان از اهمیت بیشتری برخوردار می باشند. سگهای خانگی به طور معمول ارتباط نزدیکی با افراد خانه خصوصاً بچه ها دارند. آلوده بودن ۳۲٪ از سگهای سالم به کمپیلوباکتر، نشان می دهد که سگها و گربه های سالم هم می توانند به عنوان یک حامل کمپیلوباکتر برای انسان تهدیدکننده باشند.

افرادی که سگ و گربه نگهداری می کند باید توجه داشته باشند، همانطوری که افراد یک خانواده ملزم به رعایت یکسری اصول بهداشتی هستند، در ارتباط با سگ و گربه نیز رعایت اصول بهداشتی، از جمله عدم تماس با مدفوع حیوان، الزامی است. اگرچه کمپیلوباکتر آپسالانسیس فلور نرمال روده سگ و گربه هاست و رعایت اصول بهداشتی در این زمینه کفایت می کند ولی کمپیلوباکتر ژژونی عامل کمپیلوباکتریوز از جمله بیماری های

منابع

۱. مصلی نژاد ب، غریبی د، آویزه ر، عباسی ر. ۱۳۹۹. جداسازی و شناسایی گونه های کمپیلوباکتر در مدفوع گربه های خانگی شهرستان اهواز با روش های کشت و واکنش زنجیره ای پلی مرارز، فصلنامه دامپزشکی ایران، ۶۶ (۱): ۹۴-۱۰۴.
۲. محمدزاده ع، حکیمی آلنی ر، شریفی ا، قربانی م. ۱۳۹۱. بررسی میزان آلودگی سگ های خانگی به جنس کمپیلوباکتر با استفاده از تکنیک PCR، پژوهش های بالینی دام های بزرگ (دامپزشکی)، ۶ (۲): ۲۵-۳۰.
۳. وزیریان ب، ترکان س، خامسی پور ف. ۱۳۹۵. جداسازی کمپیلوباکتر از مدفوع گربه های شهرستان اصفهان و شهرکرد، همایش ملی بیماری های مشترک انسان و دام، شهرکرد، ۱، ۱-۱.
۴. محزونیه م، قربانی م، زهرایی صالحی ت. ۱۳۹۲. شناسایی گونه های کمپیلوباکتر در مدفوع سگ ها و گربه های به ظاهر سالم با استفاده از واکنش زنجیره ای پلی مرارز چندگانه، پاتوبیولوژی مقایسه ای ایران، ۱۰ (۴): ۱۱۰۱-۱۱۰۶.
5. Santaniello A, Varriale L, Dipineto L, et al. (2021). Presence of *Campylobacter jejuni* and *C. coli* in Dogs under Training for Animal-Assisted Therapies. *Int J Environ Res Public Health*. 2021;18(7):3717.
6. Szczepanska B., Andrzejewska M., Spica D., Klawe J.J. (2021). Prevalence and antimicrobial resistance of *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* isolated from children and environmental sources in urban and suburban areas. *BMC Microbiol*. 1: 17:80.
7. Martin, J. and Blaser, MJ. (2015). Diseases caused by Gram- negative bacteria. In: Kasper. Fauci. Hauser. Longo. Jameson. And Loscalzo. (Eds). *HARRISONS PRINCIPLES OF INTERNAL MEDICINE*, 19: 1058-1060.
8. Wagenaar, JA.; French NP. and Havelaar, AH. (2013). Preventing *Campylobacter* at the source why is it so difficult. *Clinical Infectious Diseases*, 57(11): 1600-1606.
9. James, G.F. (2012). Enteric bacterial infections. In: Greene, C. (Eds). *Infectious Diseases of the Dog and Cat*. 4 th Ed.; St. Louis, Missouri, Pp: 370-374.
10. Inglis, GD.; Boras, VF. and Houde, A. (2011). Enteric campylobacteria and RNA viruses associated with healthy and diarrheic humans in the Chinook health region of southwestern Alberta, Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 49(1): 209-219.
11. Vandamme, P.; Debruyne, L.; De Brandt, E. and Falsen, E. (2010). Reclassification of *Bacteroides ureolyticus* as *Campylobacter ureolyticus* comb. nov., and emended description of the genus *Campylobacter*. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 60(9): 2016-2022.
12. Jamshidi, A., Bassami, M. R., Farkhondeh, T. (2008): Isolation and identification of *Campylobacter* spp. and *Campylobacter coli* from poultry carcasses by conventional culture method and multiplex PCR in *Research* 9: 132-136.

13. Zilbauer, M.; Dorrell, N.; Wren, BW. and Bajaj-Elliott, M. (2008). *Campylobacter jejuni*-mediated disease pathogenesis: an update. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 102(2): 123-129.
14. Byrne C.M., Clyne M. & Bourke B. (2007) *Campylobacter jejuni* adhere to and invade chicken intestinal epithelial cells in vitro. *Microbiology* 153, 561–569.
15. Levin, RE. (2007). *Campylobacter Jejuni*, A Review of its Characteristics, Patogenicity, Ecology, Distribution, Sub species Characterization and Molecular Methods of Detection. *Food Biotechnology*, 21(4): 271-347.
16. Vandenberg, O., Skirrow, M.B., Butzler, J.P. (2005): *Campylobacter* and *Arcobacter*. Mashhad iran, *Iranian Journal of Veterinary Topley and Wilsons Microbiology and Microbial Infections*, 2: 1541-1553.
17. Rao, MR.; Naficy, AB.; Savarino, SJ.; Abu-Elyazeed, R.; Wierzba, TF.; Peruski, LF.; Abdel-Messih, I.; Frenck, R. and Clemens, JD. (2001). Pathogenicity and convalescent excretion of *Campylobacter* in rural Egyptian children. *American Journal of Epidemiology*, 154: 166–173.
18. Rodriguez, C.G.; Melo, R.T.; Fonseca, B.B.; Martins, P.A.; Ferreira, F.A.; Araújo, M.B.J. and Rossi, D.A. (2015). Occurrence and characterization of *Campylobacter* spp. isolates in dogs, cats and children. *Brazilian Journal of Veterinary Research*, 35 (4): 365-370.
19. Sandberg, M.; Bergsj, B.; Hofshagen, M.; Skjerve, E. and Kruse, H. (2002). Risk factors for *Campylobacter* infection in Norwegian cats and dogs. *Preventive Veterinary Medicine*, 55 (4): 241-253.
20. Silva, J.; Leite, D.; Fernandes, M.; Mena, C.; Gibbs, PA. and Teixeira, P. (2011). *Campylobacter* spp. as a foodborne pathogen: a review. *Frontiers in microbiology*, 2: 1- 12.
21. Smith CJ, Osborn AM. Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. *FEMS Microbiol Ecol*. 2009 Jan;67(1):6-20
22. Thépault A, Rose V, Queguiner M, Chemaly M, Rivoal K. Dogs and Cats: Reservoirs for Highly Diverse *Campylobacter jejuni* and a Potential Source of Human Exposure. *Animals (Basel)*. 2020 May 12;10(5):838. doi: 10.3390/ani10050838. PMID: 32408633; PMCID: PMC7278488.
23. Torkan S, Vazirian B, Khamesipour F, Dida GO. Prevalence of thermotolerant *Campylobacter* species in dogs and cats in Iran. *Vet Med Sci*. 2018 Nov;4(4):296-303. doi: 10.1002/vms3.117. Epub 2018 Aug 31. PMID: 30168285; PMCID: PMC6236136.
24. Wittwer CT, Herrmann MG, Moss AA, Rasmussen RP. Continuous fluorescence monitoring of rapid cycle DNA amplification. 1997. *Biotechniques*. 2013 Jun;54(6):314-20.
25. Wieland, B.; Regula, G.; Danuser, J.; Wittwer, M.; Burnens, A.P.; Wassenaar, T.M. and Stark, K.D. (2005). *Campylobacter* spp. in dogs and cats in Switzerland: risk factor analysis and molecular

characterization with AFLP. Journal of Veterinary Medicine. B, Infectious Diseases and Veterinary Public Health, 52 (4): 183-189.

26. Yamazaki-Matsune, W.; Taguchi, M.; Seto, K.; Kawahara, R.; Kawatsu, K.; Kumeda, Y. et al. (2007). Development of a multiplex PCR assay for identification of *Campylobacter coli*, *Campylobacter fetus*, *Campylobacter hyointestinalis* subsp. *hyointestinalis*, *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter lari* and *Campylobacter upsaliensis*. Journal of Medical Microbiology, 56 (11): 1467-1473.

Identification of *Campylobacter* Species in Feces of Apparently Healthy Dogs and Cats by PCR Technique in Gonbad City

Morteza Razaghi Manesh^{1*}, Mohammad Reza Norozi Khorasani², Mahan Yaghmaee³, Mohamad Hossein Naserbakht³, Fatemeh Homayoon³

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
2. Graduated from Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine Student, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shushtar Branch, Shushtar, Iran

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

Campylobacteriosis is a common disease between humans and animals that causes diarrhea in humans, dogs, cats and other domestic and wild animals. The purpose of this study was to identify *Campylobacter* species in feces of apparently healthy dogs and cats by PCR technique in Gonbad city. In this research, samples were collected by obtaining a complete history from the referred cats. Sampling was done using a sterile swab from the rectal area of 100 apparently healthy dogs and cats. For sampling, two swabs were used at the same time. One swab was used for culture and isolation of bacteria and the other swab sample was used for DNA extraction and then PCR test was performed and the desired data were statistically analyzed. The results obtained in the present study indicated that no contamination was observed in any of the cats. In dogs, *Campylobacter* infection was 20.83%. Infection was higher in old dogs than in young dogs, so that the rate of infection increased with age. Because of the frequent presence of *Campylobacter* species in cat feces, these organisms can play a role as a risk factor for public health. Accordingly, periodic tests and separating dogs and cats with diarrhea from other animals, especially dogs and cats that use raw meat and live in shelters, are very important.

Keywords: *Campylobacter*, Dog, Cat, PCR

بررسی تعداد سلولهای سوماتیکی و ارتباط آن با خواص شیمیایی و ارگانولپتیک در شیر خام بزهای نجدی سالم و درگیر با ورم پستان

لیلا نیک روان^{۱*}، لیلا درخشان^۱، علیرضا رحمتیان^۲، علیرضا سلمانی^۳، فاطمه همایون^۳

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

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

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

*نویسنده مسئول: ۱۷۵۷۲۰۱۱۵۷@iau.ir

چکیده

در بررسی وضعیت شیر خام بزهای نژاد سلاله نجدی در منطقه دزفول، شوش و فتح المبین از نظر پارامترهای شیمیایی و میکروبی شیر خام؛ نتایج حاصل از تحقیق در آزمایشگاه همکار استاندارد شرکت شیر پگاه خوزستان و سایر آزمایشگاههای همکار استاندارد خوزستان مورد ارزیابی قرار گرفته است. ورم پستان یک بیماری پیچیده است که از ارتباط بین عامل ایجاد کننده، حیوان و محیط پیرامون آن ایجاد می شود و در بیشتر موارد با حضور میکروارگانیسم ها همراه است. این یک مشکل مهم بهداشتی حیوانات می باشد که پیامدهای اقتصادی زیادی در سراسر جهان دارد. نتایج بدست آمده از نمونه بیش از ۲۰۰ راس بز نژاد نجدی در مناطق مذکور بوده و سوماتیک سل کانت موجود در شیرهای خام بز نژاد نجدی سالم و دارای ورم پستان شمارش شده است همچنین تاثیر میزان سلولهای سوماتیکی این منطقه بر روی خصوصیات ارگانولپتیک و شیمیایی اعم از چربی، پروتئین، ماده خشک، دانسیته و نقطه انجماد و همچنین میزان سرب و افلاتوکسین اندازه گیری و ثبت گردیده است. ورم پستان استافیلوکوکی علت اصلی عفونت های داخل پستانی در نشخوارکنندگان کوچک است. استافیلوکوکوس اورئوس پاتوژن اصلی مشترک بین انسان و دام است که نیاز به اجرای برنامه های کنترلی در مزارع شیری را به دنبال دارد. این تحقیق برپایه آزمایشات میکروبی و شیمیایی با استفاده از دستگاههای اندازه گیری آزمایشگاههای پیشرفته صنعت غذایی استان خوزستان انجام شده و یک دید و بررسی کلی و دقیق از شیر خام بز نژاد نجدی استان خوزستان ارائه می دهد.

واژگان کلیدی: شیر بز، ارگانولپتیک، ورم پستان، سلولهای سوماتیکی

مقدمه

جمعیت بز در ایران بر اساس اعلام مرکز کمک به مخارج خانواده و تأمین نیازهای آنها حدود ۲۵ میلیون راس در سال ۱۳۹۰ می باشد. شایان ذکر است تراکم آنها بیشتر در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری است. در ایران به گونه های بز مرغز خلخال، ماکوئی خراسانی سراوانی سیستانی بلوچی و نجدی میتوان اشاره نمود (۲).

در دهه های اخیر بیش از ۹۵ درصد لبنیات مصرف شده در جهان از شیر گاو گرفته شده است، به استثنای کشورهای مدیترانه ای که شیر بز و گوسفند بخشی از میراث فرهنگی هستند. محصولات لبنی شیر بز و گوسفند بخش مهمی از اقتصاد بسیاری از کشورها، به ویژه در خاورمیانه و مدیترانه را شامل میشود و با فعالیت های سازمان یافته در کشورهای فرانسه، ایتالیا، اسپانیا و یونان در زمینه شیر بز برای تغذیه انسان اقدامات زیادی انجام شده است. شیر بز نه تنها در بالا بردن ارزش غذایی تغذیه انسانی کمک کرده است بلکه در ویژگی های کم آلرژی بودن شیر بز آن را به یک غذای متمایز تبدیل کرده است (۴).

یکی از حیوانات نشخوارکننده با ارزش و فراوان ایران بز است. بزها از علوفه، گیاهان خشک و چوبی شده و خار و خاشاک بیابان ها تغذیه می کنند. بز از قدیمی ترین دام های اهلی شده است و هنوز نقش مهمی در تغذیه انسان دارد. هنگام مقایسه شیربز با شیر گاو و انسان شباهت شیر بز به شیرگاو از جنبه ترکیبات اصلی بیشتر به چشم می خورد، اما این دو نوع شیر اختلافات زیادی از جنبه های جزئی تر با هم دارند که این تفاوت ها باعث شده ارزش تغذیه ای و درمانی شیر بز مشابه شیر انسان باشد (۱۰).

بز نجدی از جمله بزهای بومی مناطق جنوب غربی ایران واز بزهای بومی خوزستان می باشد که تولید شیر نسبتاً بالایی دارد. رنگ غالب در گله های بز نجدی از آهویی تا قهوهای می باشد (۱۳). معمولاً یک نوار تیره رنگ در ناحیه پشت کمر، از ابتدای گردن تا ناحیه دم، در این بز مشاهده میگردد. همچنین در انتهای پوزه و انتهای دست و پای این دام و گاهی دو طرف صورت و اطراف حلقه چشم نیز، رنگی تیره تر از رنگ بدن مشاهده میشود. بز نجدی دارای سری نسبتاً کوچک و پوزه ای ظریف، کوتاه و پیشانی صاف بوده و غالباً دارای گوشهای متوسط نیمه افتاده به طرف جلو

و در مواردی دارای نیم گوش است. همچنین دارای گردنی ظریف و کشیده بوده که با زاویه ای کوچک به بدن متصل میگردد. پشت کمر بز نجدی مسطح و کم عرض است. بز نجدی دارای دست و پای نسبتاً کوتاه و ظریف میباشد. بز نجدی را بیشتر می توان در استان های کهگیلویه و بویراحمد و خوزستان مشاهده کرد. این نژاد در دسته بزهای شیری قرار دارد و میزان شیر تولیدی روزانه آن در حدود ۸۰۰ گرم می باشد و طول شیردهی کامل این حیوانات میانگین ۲۰۰ روز خواهد بود. وزن دام بالغ شده ی آن در حدود ۳۰ کیلوگرم می باشد. قابلیت تولید شیر و حتی گوشت در بز نجدی سبب اهمیت پیدا کردن این حیوان در بخش اقتصادی و اجتماعی نواحی استان خوزستان شده است (۳ و ۵).

این نمونه نژاد به عنوان یکی از بهترین نژاد بزهای چند قلو زا در ایران برای خوزستان می باشد.

جدول ۱- راهنمای پرورش گوسفند و بز ویژه طرح بسیج همگام با کشاورز برای سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، موسسه تحقیقات علوم دامی کشور سازمان بسیج مهندسين کشاورزی و منابع طبیعی پژوهشکده خودکفایی و امنیت غذایی

پراکنش	استانهای خوزستان و کهگیلوی بویر احمد
برآورد جمعیت (راس)	در خطر انقراض
رنگ	قهوه ای و خط سراسری روی کمر
وزن تولد بزغاله (کیلوگرم)	نر ۳ ماده ۲٫۹
وزن پایان شیرخوارگی (کیلوگرم)	نر ۱۲ ماده ۱۰
وزن دام بالغ (کیلوگرم)	نر ۲۶ ماده ۲۳
درصد دوقلو زایی	۴۶
طول دوره شیردهی (ماه)	۶٫۵

جهت نمونه برداری و رعایت زنجیره سرمایی برای حفظ مشخصات شیر دریافتی از دامها با کول باکس همراه یخ اقدام شد و در این نمونه برداری از ۵۰۰ سی سی نمونه شیر خام بز نجدی از ۱۰۰ راس دام جهت آزمایشات فیزیکوشیمیایی و شمارش سلولهای سوماتیک و ارزیابی

آفلاتوکسین شامل B1، B2، G1 و G2 هستند و در شیر خام M1 و M2 هستند.

آفلاتوکسین B1 غالب ترین شکل در محصولات آلوده به آفلاتوکسین است در حالی که B2، G1 و G2 نیز معمولاً در بین ۲۰ آفلاتوکسین یافت می شوند. هنگامی که گاو، گوسفند، بز یا سایر حیوانات نشخوارکننده خوراک های آلوده به آفلاتوکسین های B1 و B2 مصرف می کنند، آفلاتوکسین های M1 و M2 در نتیجه فرآیند متابولیک در کبد نشخوارکنندگان تشکیل شده و در شیر دفع می شوند (۱۵).

به عبارت دیگر، انسان می تواند از طریق مصرف شیر آلوده و سایر مواد غذایی در معرض سموم قرار گیرد. (۳۵). میزان استاندارد آفلاتوکسین های M1 و M2 ۰/۱ (برحسب میکروگرم بر کیلوگرم) است. نخستین و با دقت ترین روش، کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) است. در این روش، آفلاتوکسین ها از نمونه شیر، پاکسازی و سپس ت به دستگاه HPLC برای جداسازی و شناسایی تزریق می شوند (۱).

روش کار

برداشت ۱۱ سی سی نمونه با pipet حباب دار ۱۱ سی سی برداشته و در بوتیرومتر شیر مارک ژربر میریزیم و سپس روی آن ۱۰ سی سی اسید سولفوریک ۹۰ درجه مرک آلمان و ۱ سی سی الکل آمیلیک مارک المان ریخته و درب فشنگی مخصوص راروی آن میبندیم در سانتیفریژ ژربر مارک ژربر قرارداده و در دور ۳۶۰۰ با حرارت ۶۵ درجه بمدت ۵ دقیقه چرخانده و سپس چربی را قرائت می کنیم.

آزمایشات فیزیکی و شیمیایی شیر خام (بز)

منظور از آزمایشات خصوصیات فیزیکی و شیمیایی شیر خام شامل اسیدیته، دانسیته، PH، تست الکل، چربی و پروتئین و ماده خشک بدون چربی (SNF) می باشد (۶).

اسیدیته

مقدار هیدروکسید سدیم (سود سوز آور) یک دهم نرمال که بتواند میزان اسید مقدار معینی از شیر و فراورده های آن را در حضور فنل فتالین، به روش عیار سنجی خنثی کند.

الاینده های فلزات سنگین و باقیمانده های آفلاتوکسین M1 اقدام گردید.

نمونه هاجهت بررسی فلزات سنگین و باقیمانده های آفلاتوکسین به آزمایشگاه کامیاران اهواز ارسال شد. نمونه های سوماتیک سل کانت جهت شمارش به اتحادیه دامداران استان فارس ارسال شد. نمونه های تست های شیمیایی و خواص ارگانولپتیک هم به آزمایشگاه ۱۷۰۲۵ شرکت شیر پگاه خوزستان ارسال شد.

فلزات سنگین در شیر خام

فلزاتی مانند سرب، جیوه، آرسنیک و ... که به طور طبیعی در خاک، آب و هوا وجود دارند، همچنین از طریق فعالیت های انسانی نظیر صنعت، کشاورزی و معدنکاری به محیط زیست و زنجیره غذایی راه می یابند. علاوه بر این، فلزات سنگین می توانند طی فرآیندهای تولید و بسته بندی نیز به مواد غذایی فرآوری شده وارد شوند (۱۱).

آزمایش فلزات سنگین در آزمایشگاه مواد غذایی

اندازه گیری دقیق فلزات سنگین در مواد غذایی برای اطمینان از سلامت و ایمنی عمومی ضروری است و به جلوگیری از مصرف مواد غذایی آلوده کمک می کند. این امر نیازمند روشهای تجزیه و تحلیل دقیق و حساس مانند طیف سنجی جذب اتمی (AAS) که قادر به شناسایی و اندازه گیری غلظتهای بسیار کم فلزات سنگین در نمونه ها هستند (۱۷).

حدود مجاز فلزات سنگین در ایران در استاندارد ملی به شماره ۱۲۹۶۸ تعیین شده است. از آنجا که این استاندارد عمده تاً برگردان استانداردهای کدکس و اتحادیه اروپا می باشد، لذا امکان اندازه گیری فلزات سنگین در انواع مواد غذایی و آب آشامیدنی به مقاصد مختلف (تحقیقات، صادرات، واردات و ...) وجود دارد (۸).

تشخیص آفلاتوکسین

آفلاتوکسین نوعی میکوتوکسین است که در طبیعت توسط قارچها تولید میشود. عمده ترین قارچهای تولید کننده آفلاتوکسین، آسپرژیلوس فلاووس و آسپرژیلوس پارازیטיکوس هستند که مولدین چهار نوع اصلی

یک نکته در اینجا ضروری است که این تست نسبی بوده و در برخی موارد مثل شیر گاومیش و میش و بز که این پیوند ضعیف تر از شیر گاو بوده در حالت عادی و با الکل ۷۰ تا ۷۲ درجه به صورت کاذب ناپایداری در شیرهای مذکور داریم پس بهتر است با الکل ۶۸ درجه که معیار سنجش کلی تر و عمومی تر است نسبت به پایداری و تازگی شیرهای گونه های مختلف نسبت به یکدیگر نظر داد(۱).

برای انجام این تست ۲ سی سی از شیر را در لوله یا پلیت ریخته و روی آن ۲ سی سی الکل ۶۸ درجه را روی آن میریزیم در صورت ضعیف بودن پیوند آب و کازئین و کهنه بودن شیر به صورت رسوب در حواشی لوله و یا کف پلیت مشاهده می شود .



شکل ۱- پاسخ های منفی و مثبت در تست الکل (پایدار و ناپایداری)

سنجش پروتئین شیر

اندازه گیری پروتئین ، با روش تیتراسیون وفرمالین برای اندازه گیری سریع پروتئین از این روش استفاده می شود . وقتی به شیر خنثی فرمالین اضافه شود ، اسید آزاد در محیط ظاهر می شود که می توان آن را با قلیا تیترا کرد . مقدار اسید آزاد شده متناسب با مقدار پروتئین موجود در شیر است . بنابراین می توان مقدار پروتئین شیر را از حاصل ضرب مقدار اسید آزاد شده در یک ضریب تجربی بدست آورد(۱۴).

روش آزمایش

به ده میلی لیتر از شیر نمونه ، ۰/۵ درصد فنل (۱۰ قطره) و ۰/۴ میلی لیتر اکسالات پتاسیم اشباع شده خنثی افزوده و به خوبی به هم بزنید .

نمونه را تا دمای ۲۰ الی ۲۵ درجه سانتی گراد در بن ماری گرم کرده سپس مقدار ۱۰ سی سی از نمونه را با پیپت ۱۰ در بشر ۱۰۰ سی سی ریخته و روی آن چند قطره فنل فتالئین اضافه میکنیم آنگاه مخلوط را با سود یک نهم نرمال تا حصول رنگ ارغوانی پایدار ادامه میدهم و سپس سود مصرفی را قرائت می کنیم (روش دورنیک)(۹).

pH

تراکم های یونهای H یا هیدروژنهای یونیزه موجود در نمونه را مشخص می کند. لازم به ذکر است چون بیان غلظت یون هیدروژن به صورت توانهای منفی آن مشکل است، بدین دلیل پتانسیل یون هیدروژن با عکس لگاریتم تراکم یون آن نشان داده می شود. مقدار ۲۰ سی سی از نمونه را در بشر ریخته و دمای آنرا به ۲۵°C میرسانیم و با PH متر دقیق که کالیبره شده باشد PH نمونه را بدست می آوریم(۷).

دانسیته

دانسیته شیر خام را با لاکتودانسیمتر شیشه ای (بومه لاکتو دانسیمتر) اندازه گیری میکنند این وسیله از دو قسمت سنجش چگالی و یک قسمت دماسنج الکلی برخوردار است و معمولاً شیر را در دمای ۱۵°C درجه سانتی گراد اندازه گیری میکنند و داخل یک مزور معمولاً پلاستیکی میریزند و بومه لاکتو دانسیمتر را درون آن غوطه ور میکنند. پس لازم است که شیر را ابتدا تا دمای ۱۵°C درجه سانتی گراد سرد کرد و بعد سنجش نمود(۱۲).

تست الکل

جهت تست الکل که همان پایداری شیر است و درواقع بیانگر تازگی و کهنگی شیر میباشد انجام میپذیرد. لازم به توضیح است هرگاه باریکروبی شیر خام افزایش یابد میزان ترشیدگی و بهم ریختن باندهای بین پروتئین های شیر و آب که از نوع کوولانسی است سست میشود بطوریکه الکل که یک ماده جاذب رطوبت است با جذب آب که در پیوند با پروتئین است رقابت میکند هرگاه این پیوند سست و ضعیف بشود الکل سریعتر این آب را جذب کرده و کازئین یا همان پروتئین شیر رسوب می کند(۲۱).

سی از نمونه را در زیر دستگاه قرار داده و میزان لاکتوز شیر را به ما اعلام میکند.

اندازه گیری نقطه انجماد

نقطه انجماد شیر بز با استفاده از دستگاه کریسکوپ اندازه گیری شد. و مقدار ۲ سی سی از نمونه را درون آمپول مخصوص داخل دستگاه قرار داده و بدین ترتیب نقطه انجماد را با ما اعلام می کند (۱۶).

روش کار سرد کردن سریع نمونه شیر تا دمای مناسب (پائین تر از نقطه انجماد) که بستگی به نوع کریوسکوپ دارد و آغاز کریستاله شدن بر اثر ضربه مکانیکی که باعث می شود دما به سرعت افزایش یافته و دامنه مسطحی بر روی منحنی نقطه نقطه انجماد را نشان دهد که معادل نقطه انجماد نمونه شیر است. در این دامنه، دمای نمونه شیر در محدوده ۰ تا ۱۰۰ درجه سانتی گراد به مدت ۲۰ ثانیه می ماند.

لازم به ذکر است برای هر ۱۰ بار آزمایش دستگاه با محلول های خاص دستگاه کالیبره میگردد. شیر در دمای ۰/۵- درجه سانتی گراد یخ میزند (آب در صفر درجه یخ میزند ولی شیر با توجه به ماده خشک موجود در آن در ۰/۵- درجه سانتی گراد یخ میزند). هرچه این دما به سمت صفر میل کند شیر دارای آب اضافه بوده و هرچه از صفر دور شود مواد اضافی ضد یخ به آن افزوده شده است که اساس کشف تقلب در شیر خام است (۲۰).

کشت میکروبی (شمارش کلی میکروارگانسیم های شیر خام)

کشت میکروبی جهت شمارش کلی میکروارگانسیم های موجود در شیر بز به روش رقت سازی پورپلیت (رقت مستقیم یک سی سی شیر خام در پلیت) اقدام شد. برای اینکار از هر نمونه یک سی سی در پلیت یک بار مصرف پلاستیکی (در شرایط هود میکروبی) ریخته و روی آن از محیط کشت مرک پلیت کانت آگار که از قبل آماده سازی و استریل شده است ریخته میشود و به صورت ۸ لاتین هم زده تا یکنواخت گردد. سپس بعد از انعقاد محیط کشت پلیت را در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده و بعد از ۷۲ ساعت قرائت میگردد تعداد شمارش شده در ضریب رقت سازی ضرب و اعلام می گردد (۳۰).

مخلوط را پس از چند دقیقه، با هیدروکسید سدیم (سود) ۰/۱ نرمال، خنثی کنید تا رنگ ارغوانی ظاهر شود دو میلی لیتر فرمالین به مخلوط افزوده، کاملاً مخلوط کرده و بگذارید به مدت چند دقیقه بماند. اسید نهایی تولید شده را با هیدروکسید سدیم (سود) ۰/۱ تیترو کنید تا رنگ ارغوانی اولیه ظاهر شود میزان مصرفی سود را در ۱.۷ ضرب کرده و پروتئین شیر به دست می آید. روش دیگر کدال است که مورد بحث ما نمیباشد و توسط دستگاه انجام می شود.

ماده خشک بدون چربی: (SNF)

ماده خشک شیر را با دوروش یکی روش استاندارد و دیگری روش دستگاه رطوبت سنج است که مارکهای متفاوتی دارد و بهترین آن سارتریوز است. در این مطالعه از این دستگاه استفاده گردید و دستگاه با روش مرجع کالیبره شد که نتایج باهم برابر بود.

روش مرجع

در روش مرجع ۳ گرم از شیر را روی پلیت شیشه ای که از قبل در فور به مدت نیم ساعت خشک و سپس وزن خالی آن اندازه گیری شده است را با ترازوی با دقت ۰/۰۰۱ وزن کرده و به مدت ۳ ساعت در دمای ۱۱۰ درجه سانتی گراد خشک میکنیم و وزن بدست آمده را از وزن شیشه خالی کم کرده و بر وزن کل قبل تقسیم و در ۱۰۰ ضرب میکنیم و درصد رطوبت شیر بدست می آید (۱۹ و ۲۲).

روش دستگاه

مقدار ۴ گرم از شیر را روی پلیت فلزی ترازوی رطوبت سنج وزن کرده و درب آنرا میبندیم پیش فرض آن دمای ۱۲۰ درجه میباشد پس از پایان کار عدد بدست آمده از ۱۰۰ کم شده و چربی شیر را نیز از آن کم میکنیم باقی مانده همان ماده خشک بدون چربی می باشد.

اندازه گیری لاکتوز شیر بز

در این مطالعه تعیین میزان لاکتوز شیر بز با استفاده از دستگاه میکرو اسکن انجام گرفته است و مقدار ۱۰۰ سی

جدول ۲- موارد سالم شیر بز نژاد نجدی

ردیف	نوع آزمون	تعداد نمونه شیر بز	نتیجه آزمون	عدم قطعیت نتایج
۱	اسیدیته	۱۰۰	۱۳.۴ دورنیک	۰/۰۰۵
۲	دانسیته	۱۰۰	۱.۰۳۴ g/cm ³	۰/۰۰۲۰
۳	PH	۱۰۰	۶.۶۲	۰/۰۰۳
۴	چربی	۱۰۰	۴.۵۲٪	۰/۰۰۸
۵	SNF	۱۰۰	۸.۶۵٪	۰/۰۱۲
۶	نقطه انجماد	۱۰۰	-0.545C ⁰	۰/۰۰۴
۷	پروتئین	۱۰۰	۳.۴۶٪	۰/۰۲۴
۸	لاکتوز	۱۰۰	۴.۱۵٪	۰/۰۲۴
۹	تست الکل ۶۸	۱۰۰	ناپایدار	۰/۰۰۵
۱۰	آفلا M1 توکسین	۱۰۰	<LOQ	-----
۱۱	سرب	۱۰۰	<LOQ	-----

LOQ برای حد مجاز بالای آفلا توکسین M1 (۰.۱ NG/G) می باشد. LOQ برای حد مجاز بالای سرب (Pb) ۰.۰۲ (NG/KG) می باشد.

جدول ۳- مشخصات ۱۰۰ نمونه شیر گاو

ردیف	نوع آزمون	تعداد نمونه شیر گاو	نتیجه آزمون	عدم قطعیت نتایج
۱	اسیدیته	۱۰۰	۱۴.۵ دورنیک	۰/۰۰۵
۲	دانسیته	۱۰۰	۱.۰۳۰ g/cm ³	۰/۰۰۲۰
۳	PH	۱۰۰	۶.۶۸	۰/۰۰۳
۴	چربی	۱۰۰	۳.۳۵٪	۰/۰۰۸
۵	SNF	۱۰۰	۸.۲۳٪	۰/۰۱۲
۶	نقطه انجماد	۱۰۰	-0.529C ⁰	۰/۰۰۴
۷	پروتئین	۱۰۰	۳.۲۱٪	۰/۰۲۴
۸	لاکتوز	۱۰۰	۴.۱۲٪	۰/۰۲۴
۹	تست الکل ۶۸	۱۰۰	پایدار	۰/۰۰۵
۱۰	آفلا M1 توکسین	۱۰۰	<LOQ	-----
۱۱	سرب	۱۰۰	<LOQ	-----

تعیین مشخصات ارگانولپتیک (عطر و طعم و مزه)

مقدری از نمونه را در ظروف فلزی جوشانده و پس از سرد شدن آن تا دمای ۴۵ درجه به افرادی که دارای گواهینامه تست ذائقه شیر و لبنیات از نهادهای مرجع با متدهای علمی هستند در شرکت پگاه خوزستان داده شد و نتایج بدست آمده در جداول اکسلی که بدین منظور طراحی شده است و در مبحث نتایج به آن می پردازیم قرار داده شد. سپس مقداری از نمونه ها را با رعایت شرایط تولید آزمایشگاهی و بصورت تلقیح استارتر صنعتی از طریق گرم کردن شیر تا دمای پاستوریزاسیون و سپس خنک کردن تا دمای ۴۲ درجه سانتی گراد و تلقیح مایه استارتر به ماست تبدیل و پس از انعقاد ماست و خنک کردن تا دمای ۷ درجه سانتی گراد جهت تست ذائقه به افراد دارای صلاحیت تشخیص داده شد و این محصول فراوری شده از شیر بز نیز سنجیده شد. خواص ارگانولپتیک شامل عطر و طعم و بو و رنگ می باشد (۱۸).

یافته های این تحقیق پس از روشهای آزمون شرح داده شده در فصل سوم به صورت جداول زیر ابتدا براساس اسیدیته برحسب دورنیک تعداد نتایج مشابه در هر آزمون و سپس به صورت کلی و براساس میانگین فراوانی در جدول Minitab می باشد. در این جداول مشخصات ۱۰۰ نمونه شیر بز و ۱۰۰ نمونه تصادفی شیر گاو ارسالی به شرکت شیر پگاه بررسی و پس از آزمایش عدم قطعیت نتایج مشخص گردید (۲۸).

درخصوص نتایج آزمایش باقیمانده های سموم مثل آفلا توکسین و سرب در هیچ یک از نمونه های تحت آزمایش موارد بالاتر از میانگین استاندارد تعیین شده دیده نشد.

لازم به ذکر است نتیجه توتال کانت میکروبی در شرایط نمونه برداری فارم با رعایت اصول نمونه برداری انجام شده است و لذا احتمال خطا بر اثر مدت ارسال نمونه و نحوه کشت نیاز به اندازه گیری عدم قطعیت نتایج میکروبی دارد این آزمون در آزمایشگاه دارای گواهی نامه ۱۷۰۲۵ انجام شده است.

جدول ۵- میانگین سوماتیک سل و توتال کانت میکروبی

شیر بز سالم نژاد نجدی

نوع آزمون	تعداد نمونه شیر بز	نتایج (در هر میلی لیتر)	عدم قطعیت نتایج میکروبی
میانگین سوماتیک سل کانت (میانگین ۱۰۰ مورد سالم)	۱۰۰	۵۱۴۰۰۰	۰/۰۳
میانگین بار میکروبی (میانگین ۱۰۰ مورد سالم)	۱۰۰	۱۵۰۰۰۰۰	۰/۷۶۳

جدول ۶- میانگین سوماتیک سل و توتال کانت میکروبی

شیر گاو

نوع آزمون	تعداد نمونه شیر گاو	نتایج (در هر میلی لیتر)	عدم قطعیت نتایج میکروبی
میانگین سوماتیک سل کانت (میانگین ۱۰۰ نمونه سالم)	۱۰۰	۸۶۰۰۰	۰/۰۳
میانگین بار میکروبی (میانگین ۱۰۰ مورد سالم)	۱۰۰	۳۲۰۰۰۰۰	۰/۷۶۳

ازمقایسه شمارش سلولهای سوماتیکی شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که سوماتیک سل شیر گاو کمتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار سوماتیک سل کانت شیر گاو با شیر بز است ($P<0/05$)

ازمقایسه اسیدیته شیر بز با شیر گاو مشخص می شود که اسیدیته شیر گاو بیشتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار اسیدیته شیر گاو با شیر بز است ($P<0/05$)

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	10.44	2.97	3.52	0.007	
اسیدیته شیر گاو	0.202	0.203	1.00	0.344	1.00

ازمقایسه چربی شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که چربی شیر گاو کمتر از شیر بز بوده ولی نشان دهنده اختلاف معنی دار چربی شیر گاو با شیر بز نیست ($P>0/05$):

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	3.92	1.97	2.00	0.077	
چربی شیر گاو	0.147	0.610	0.24	0.814	1.00

ازمقایسه پروتئین شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که پروتئین شیر گاو کمتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار پروتئین شیر گاو با شیر بز است ($P<0/05$)

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	3.268	0.892	3.67	0.005	
پروتئین شیر گاو	0.058	0.279	0.21	0.840	1.00

ازمقایسه ماده خشک شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که ماده خشک شیر گاو کمتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار چربی شیر گاو با شیر بز است ($P<0/05$)

Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Constant	11.07	2.25	4.92	0.001	
ماده خشک شیر گاو	-0.299	0.273	-1.10	0.301	1.00

جدول میانگین توتال و سوماتیک کل نمونه های اخذ شده که به صورت توتال کانت میکروبی در آزمایشگاه مواد لبنی و به صورت پورپلیت با محیط کشت پلیت کانت آگار کشت داده شده است و تست سوماتیک سل کانت که توسط دستگاه فوس سوماتیک اندازه گیری شده است. در این جداول مشخصات ۱۰۰ نمونه شیر بز و ۱۰۰ نمونه تصادفی شیر گاو ارسالی به شرکت شیر پگاه بررسی و پس از آزمایش عدم قطعیت نتایج مشخص گردید.

جدول ۸- مشخصات فیزیکی شیمیایی موارد مبتلا به ورم

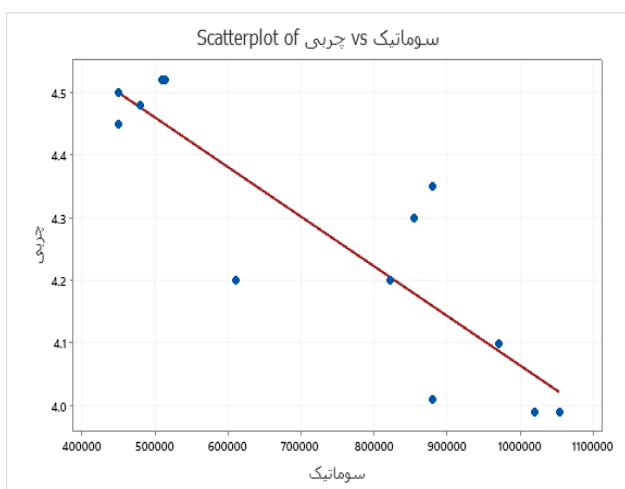
پستان تحت کلنیکی

ردیف	نوع آزمون	تعداد نمونه	نتیجه آزمون
۱	اسیدیته	۷	۱۸۶ دورنیک
۲	دانسیته	۷	۱۰۳۲ g/cm ³
۳	PH	۷	۶.۴۳
۴	چربی	۷	۴۰.۱٪
۵	SNF	۷	۸۰.۱٪
۶	نقطه انجماد	۷	-0.545C ⁰
۷	پروتئین	۷	۳.۴۳٪
۸	تست الکل ۶۸	۷	شدیدا ناپایدار

تست انعقاد لاکتیکی در خصوص شیرهای دارای ورم پستان انجام شد که زمان انعقاد آن بیش از ۴/۵ ساعت بود که با توجه به استاندارد ۳ ساعته این تست، دلیل بالابودن میزان تعداد سوماتیک سل کانت و همچنین بار میکروبی و به طبع آن بالاتر بودن اسیدیته شیر خام اولیه است.

از این انعقاد بدست آمده نیز تست ذائقه گرفته شد که نمره ارزیابی طعم و مزه آن ۱/۵ از ۵ می باشد که بشدت پایین است.

از مقایسه ۷ مورد سوماتیک سل کانت شیرهای بز دارای ورم پستان با شیرهای بز سالم به همان تعداد ارتباط همبستگی قوی بین نتایج بدست می آید که نشان میدهد با افزایش سوماتیک سل کانت میزان چربی شیر بز پایین تر می آید. واز این نظر بین افزایش غیر متعارف سوماتیک سل کانت و کاهش چربی شیر بز تفاوت معنی داری وجود دارد. ($P < 0/05$)



Term	Coef	SE Coef	T-Value	P-Value	VIF
Const ant	738526	175600	4.21	0.002	
سوماتی ک شیر گاو	-2.66	2.13	-1.25	0.243	1.00

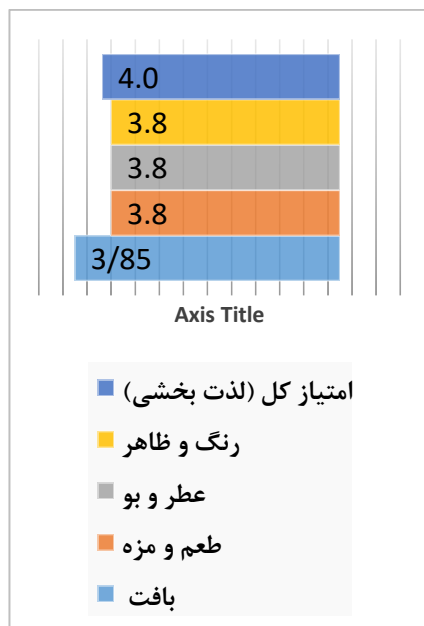
در بررسی ها و نمونه برداریهای انجام شده علاوه بر موارد سالم ۷ نمونه مازاد بر ۱۰۰ نمونه سالم نیز شناسایی گردید که دارای ورم پستان تحت بالینی بودند لذا در جداول زیر موارد دارای ورم پستان تحت بالینی جدا شده از نمونه های سالم در جداول ۵ و ۶ نشان داده می شود.

جدول ۷- میزان تعداد سوماتیک سل و توتال کانت

میکروبی در ۷ نمونه دارای ورم پستان تحت حاد

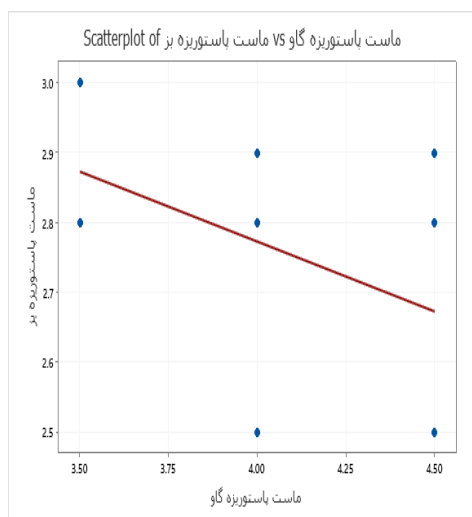
شماره نمونه	تعداد در هر میلی لیتر سوماتیک سل کانت	تعداد در هر میلی لیتر توتال کانت میکروبی
۱	۸۱۲۰۰۰	۳۸۰۰۰۰۰
۲	۱۰۵۴۰۰۰	۵۲۰۰۰۰۰
۳	۸۲۳۰۰۰	۴۱۵۰۰۰۰
۴	۹۷۱۰۰۰	۴۹۰۰۰۰۰
۵	۱۰۲۰۰۰۰	۵۶۰۰۰۰۰
۶	۸۵۵۰۰۰	۳۳۵۰۰۰۰
۷	۸۸۰۰۰۰	۳۹۰۰۰۰۰

بر همین اساس و مطابق جداول بالا از ۷ مورد نمونه بیمار جدا شده خواص فیزیکی شیمیایی بدست آمده در جدول زیر را نشان میدهد که نشان دهنده تاثیر سوماتیک سل کانت بالای ۸۰۰۰۰۰ است که پیشتر در فصول قبلی در مقالات خارجی و داخلی بدان اشاره شد.



نمودار ۳- نمره ارزیابی شیر پاستوریزه گاو

از مقایسه نمره ارزیابی ماست پاستوریزه بز با ماست پاستوریزه گاو مشخص میشود که نمره ارزیابی ماست پاستوریزه گاو بیشتر از ماست پاستوریزه بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار نمره ارزیابی ماست پاستوریزه گاو نسبت به ماست پاستوریزه بز است ($P < 0/05$):

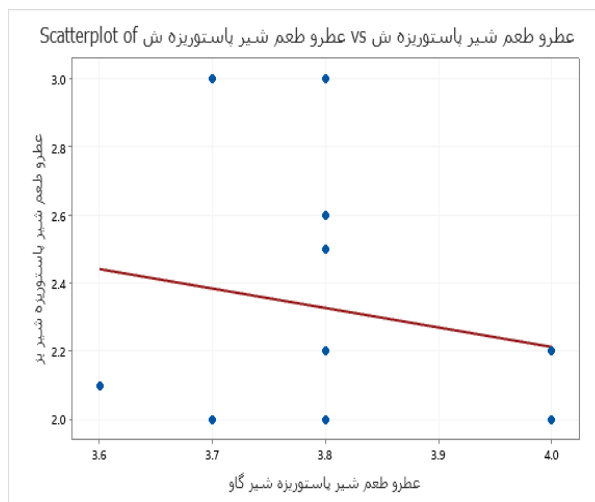


نمودار ۴- مقایسه ماست بز و گاو

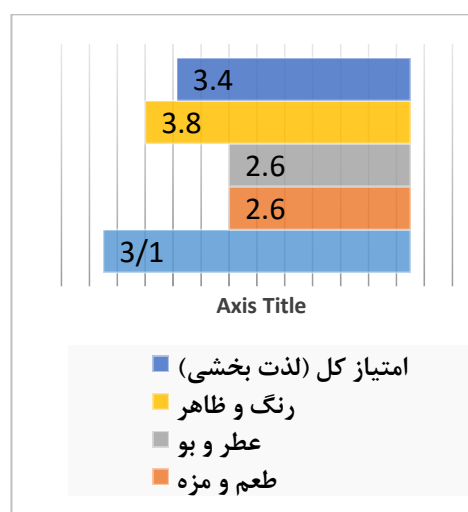
نمودار ۱- مقایسه چربی و سوماتیک

ارزیابی خواص ارگانولپتیک

با توجه به شرح چگونگی این ارزیابی در فصل مواد و روشها، امتیاز نمونه های گرفته شده از نظر خواص ارگانولپتیک (عطر و طعم شیر و ماست) توسط ۵ نفر ارزیاب کیفی شرکت لبنی از نمره ۱ تا ۵ داده شد. از مقایسه نمره ارزیابی شیر پاستوریزه بز با شیر پاستوریزه گاو مشخص میشود که نمره ارزیابی شیر پاستوریزه گاو بیشتر از شیر پاستوریزه بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار نمره ارزیابی شیر پاستوریزه گاو با شیر پاستوریزه بز نیست ($P > 0/05$)



نمودار ۵- مقایسه مقایسه عطر و طعم شیر بز و گاو



نمودار ۶- نمره ارزیابی حسی شیر پاستوریزه بز (نجدی)

تست الکل در شیر گاو را نسبت به ناپایداری آن در شیر بز تایید می کنند.

در مقاله ای رشمی آرورا و همکاران (۲۰۱۳) اعلام کردند که تفاوت معنی داری بین چربی و پروتئین شیر گاو و بز وجود ندارد و حتی این موارد در بز از گاو کمی پایین تر است.

در یک مطالعه جورج گاسپر و همکاران (۲۰۲۳) تفاوت معنی داری در میزان چربی و پروتئین شیر بز و گاو نیافتند ($P>0/05$). (چربی بز و گاو به ترتیب ۳.۹ و ۳.۳ و پروتئین شیر بز و گاو به ترتیب ۳.۴ و ۳.۳ گزارش گردید).

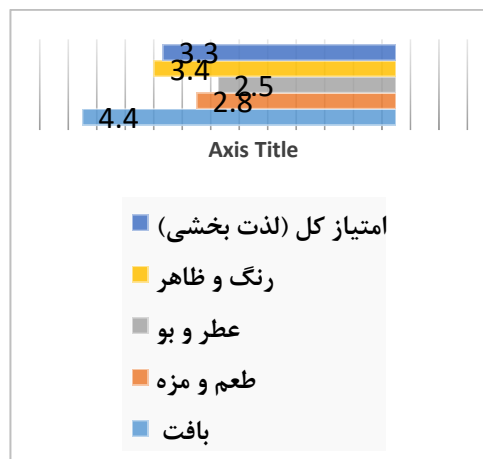
سکاراتیز استرچیدیزو همکاران، (۲۰۱۹) عنوان کردند که تفاوت معنی داری در برخی ماهها بخصوص فوریه و مارس در بالابودن چربی و پروتئین شیر بز نسبت به شیر گاو وجود دارد ($P<0/05$). ولی در باقی سال این تفاوت ناچیز بوده و معنی دار نمی باشد. ($P>0/05$)

در مطالعه انجام شده روی بزهای نجدی خوزستان نظر مقالات فوق با توجه به نتایج مطالعه حاضر مغایرت دارد. چربی و پروتئین و همچنین ماده خشک بالای شیر بز نسبت به شیر گاو هم از نظر صنعت و محصولات تولیدی آن حائز اهمیت فراوان است که در نتایج این مطالعه آمده است.

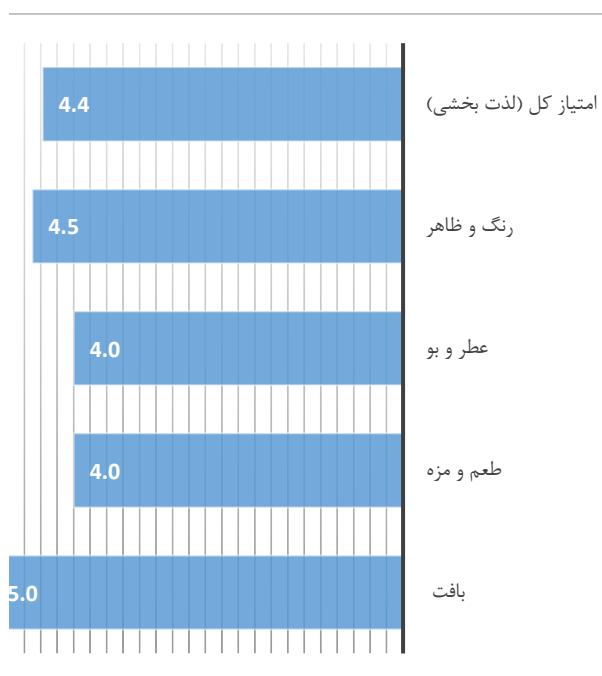
چربی ۴.۵۲ در شیر بز نزدی و ۳.۳۵ در شیر گاو صنعتی در این مطالعه ثابت میکند که تفاوت معنی داری بین چربی شیر بز و شیر گاو وجود ندارد ($P>0/05$). پروتئین ۳.۴۶ شیر بز درمقایسه با پروتئین گاو ۳.۲۱ نشان دهنده بالا بودن میزان پروتئین شیر بز نسبت به گاو است بدین ترتیب بین میزان پروتئین شیر بز با شیر گاو تفاوت معنی داری وجود دارد ($P<0/05$).

ازمقایسه ماده خشک شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که ماده خشک شیر گاو کمتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار چربی شیر گاو با شیر بز است. ($P<0/05$)

ازمقایسه اسیدیته شیر بز با شیر گاو مشخص میشود که اسیدیته شیر گاو بیشتر از شیر بز بوده و نشان دهنده اختلاف معنی دار اسیدیته شیر گاو با شیر بز است. ($P<0/05$)



نمودار ۷- نمره ارزیابی حسی ماست پاستوریزه بز (نجدی)



نمودار ۸- نمره ارزیابی حسی ماست پاستوریزه با شیر گاو

در جداول ۴-۱ و ۴-۲ در فصل چهارم به ترتیب مشخصات شیمیایی شیر بز و گاو آمده است که تفاوتها در این خصوص کاملاً مشخص بوده و بخصوص از نظر میزان اسیدیته (۱۳.۵ در بز و ۱۴.۵ در گاو) تفاوت معنی داری در میزان اسیدیته طبیعی شیر گاو با شیر بز وجود دارد. ($P<0/05$)

همچنین در تست الکل تفاوت کاملاً مشهود است. پایین بودن بار میکروبی در شیر گاو در جدول ۴-۴ پایدار بودن

چربی را کاهش داده است و با افزایش سوماتیک سل کانت میزان چربی شیر بز پایین تر می آید. واز این نظر بین افزایش غیر متعارف سوماتیک سل کانت و کاهش چربی شیر بز تفاوت معنی داری وجود دارد. ($P<0/05$)

بحث

موارد بالای ۸۰۰۰۰۰ سلول سوماتیکی به بالاتر کیفیت شیر بز از نظر خواص فیزیکی شیمیایی را تغییر داده و خواص ارگانولپتیکی را نیز مورد تاثیر قرار میدهد از جمله عدم انعقاد شیر جهت ماست در مدت زمان عادی سه ساعته و طعم نامطلوب شیر و ماست تهیه شده از این شیر که خود دلیلی بر این فرضیه است. در جدول ۴-۵ به علت بیماری ورم پستانی بزها توتال کانت میکروبی این شیرها دچار افزایش شدید و معنی داری شده است بطوریکه در جدول ۴-۶ مشخصات فیزیکی شیمیایی شیر بز را بطور کامل تحت تاثیر قرار نداده و آن را دگرگون نساخته است. تنها در مورد اسیدیته و تست الکل که شاخصه بالابودن بارمیکروبی و کهنگی شیر است مشخصات تغییر کرده است. تولید ماست نیز که بعلا تخلیه های آنزیمی سلولهای سوماتیک و بالابودن اسیدیته اولیه شیر بز دارای ورم پستان از نظر انعقاد زمان بیشتری را گذرانده و عطر و طعم نامطلوبی به ماست داده است (۲۹).

نتیجه گیری و بحث

بررسی امتیازات مربوط به عطر و بو، طعم و مزه و پذیرش کلی نشان داد ماست تهیه شده از شیر گاو به طور معنی داری امتیاز بیشتری نسبت به نمونه ماست بز دارد که توسط ارزیابان حسی ترجیح داده شد. با توجه به نتایج این تحقیق، تولید محصولات تخمیری با استفاده از ترکیب کردن شیر بز و گاو فرصتی مناسب برای پوشاندن طعم و مزه بز در ضمن حفظ ارزش تغذیه ای آن و ویژگی های حسی مطابق با ذائقه ی مصرف کننده می باشد (۲۳). در مطالعه انجام شده بر اساس نمودارهای نگارش شده که توسط تیم ارزیابان شرکت شیر پگاه خوزستان انجام شده است محبوبیت عطر و طعم شیر بز همانند شیر گاو نبوده و مشتریان و طرفداران خاص خود را دارد. شیر بز با توجه به خواص شیمیایی اثبات شده ارزش تغذیه ای بسیار بالایی داشته و میتواند بعنوان فراورده های لبنی مثل ماست برای

به طور خلاصه سه ویژگی متمایز کننده در شیر بز وجود دارد:

شیر بز مقادیر بالاتر SCC، از گوسفند یا گاو بطور طبیعی دارد.

غلظت سلولی CP (Cytoplasmic particles) و PMN (polymorph nuclear) در شیر بز بیشتر از شیر گوسفند و گاو است.

در غیاب ورم پستان، SCC در شیر بز می تواند بین ۲۷۰۰۰۰ و ۲۰۰۰۰۰۰ (سلول در میلی لیتر) متغیر باشد. در حالی که در شیر گاو و گوسفند بین ۱۰۰۰۰ تا ۲۰۰۰۰۰ (سلول در میلی لیتر) متغیر است.

در مطالعه انجام شده بالا بودن میزان سوماتیک سل کانت شیر بز بطور ذاتی در جدول شماره ۵ در مقایسه با شیر گاو که در جدول شماره ۶ آمده است و مطالب گفته شده در پیشینه مطالعه را تایید میکند و با مقالات گفته شده در این خصوص مطابقت دارد. در بزهای نژاد نجدی خوزستان میزان SCC بطور میانگین ۵۱۴۰۰۰ سلول در میلی لیتر می باشد. و در مقایسه با میانگین سوماتیکی شیر گاوهای صنعتی استان خوزستان که ۸۶۰۰۰ سلول در میلی لیتر می باشد تفاوت معنی داری دارد. ($P<0/05$).

بالابودن بارمیکروبی دلیل درستی جهت مقایسه نمی باشد چراکه نوع دوشش سنتی با دوشش صنعتی در شیرگاو تفاوت داشته ولذا این مورد جهت مقایسه دلیل منطقی ندارد.

با توجه به بالابودن میزان سوماتیک سل کانت شیر های بز سالم (متوسط ۵۱۴۰۰۰ سلول در میلی لیتر) میتوان این فرضیه را که در حالت عادی تعداد سلولهای سوماتیک در شیر بز بالاتر از شیر گاو و سایر نشخوار کنندگان کوچک است را اثبات کرد (۲۷).

بالا بودن تعداد سوماتیک سل های شیر بز تاثیری روی خواص فیزیکی شیمیایی شیر بز در حالت عادی و بدون بیماری ورم پستان ندارد. و در مطالعه انجام شده با وجود تعداد میانگین ۵۱۴۰۰۰ سلول در میلی لیتر در شیر بز نژاد نجدی خوزستان هیچ تغییری در مشخصات فیزیکی شیمیایی این شیر بوجود نیامده است (۲۴).

بالا بودن تعداد سوماتیک سل های شیر بز در موارد ورم پستانی تاثیر زیادی روی چربی شیر بز داشته بطوریکه

خود طرفداران زیادی داشته باشد. همچنین با توجه به نمره ارزیابی پایین شیر پاستوریزه بز در مقایسه با شیر پاستوریزه گاو میتواند جهت نزدیک شدن به نمره ارزیابی با محصولات فرعی مثل ماست و پنیر شیر بز تولید و به مشتریان عرضه گردد. همچنین میتواند بصورت پودری تهیه و برای خوراک حیوانات خانگی مورد استفاده قرار گیرد (۲۶).

شیر بز در تحقیقات میدانی صورت گرفته از نظر مصرف مشتریان محلی بعلت عطر و طعم خاص آن مورد استقبال کمتری برخوردار است و بیشتر جهت ماست و دوغ استفاده میشود و از این نظر برای این محصولات بدلیل انعقاد لاکتیکی سریع بهتر جواب داده و عطر و طعم مطلوب تری نسبت به شیر پاستوریزه آن به مصرف کننده میدهد. گرچه پس از ارزیابی علمی توسط کارشناسان مجرب تقریباً تفاوت قابل ملاحظه ای و معنی داری بین شیر پاستوریزه و ماست پاستوریزه شیر بز وجود ندارد (۲۷).

شیر پاستوریزه بز با شیر پاستوریزه گاو در این ارزیابی تفاوت معنی داری باهم ندارد ($P < 0/05$). ولی ماست پاستوریزه گاو با ماست پاستوریزه بز در این ارزیابی تفاوت معنی داری باهم دارد. ($P > 0/05$).

منابع

۱. استاندارد پایداری شیر خام و پاستوریزه - استاندارد ملی ۱۵۲۸
۲. استاندارد ملی ایران - شیر - تعیین چگالی (دانسیته) - روش آزمون شماره استاندارد ملی ۶۳۸، سال تصویب: ۱۴۰۰
۳. استاندارد ملی ایران - شیر و فراورده های آن - اندازه گیری آفلاتوکسین M1 - به روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا و خالص سازی با ستون های ایمونوآفینیتی - روش آزمون شماره ۳۴، سال تصویب: ۱۳۹۰
۴. استاندارد ملی ایران - شیر و فراورده های آن - تعیین مقدار اسیدیته و pH - روش آزمون، سال تصویب ۱۴۰۱، شماره استاندارد ملی ۲۸۵۲
۵. استاندارد ملی ایران - شیر و فراورده های آن - راهنمای عمومی استفاده از روش بوتیرومتریک برای اندازه گیری میزان چربی شماره استاندارد ملی ۱۱۵۳۸، سال تصویب: ۱۳۸۷
۶. حاجی فرجی، م. آقاجانی، ع. (۱۳۹۷). اهمیت و خواص شیر بز، سومین همایش ملی دانش و فناوری علوم کشاورزی، منابع طبیعی و محیط زیست.
۷. عالم زاده T ب. (۱۳۹۱). بز بومی خوزستان، بز نجدی موسسه / مرکز/ سازمان: نشر آموزش (مؤسسه آموزش و ترویج کشاورزی) ، تعداد صفحات ۱۰
۸. پاپی، ن. میرزایی، ف. (۱۳۹۸). معرفی بزهای بومی ایران ، وزارت جهاد کشاورزی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی موسسه تحقیقات علوم دامی کشور، ۱۳۲ صفحه
۹. راحله نژاد رزمجوی، ا. (۱۴۰۰). خصوصیات فیزیکوشیمیایی و حسی ماست مخلوط شیر بز مهابادی و شیر گاو هلشتاین ، / شماره ۱۳۱ ، تعداد صفحات ۱۵ / نشریه علوم دامی
۱۰. راستی دوست، ن. (۱۳۹۳). بررسی و مقایسه ی مواد مغذی شیر بز با شیر گاو، دومین همایش ملی پژوهش های کاربردی در علوم کشاورزی، تهران
۱۱. رحمتیان، ع. مهدیه، ح. (۱۴۰۱). فاکتورهای شیمیایی ، باقیمانده های سرب ، آفلاتوکسین ، سلولهای سوماتیکی و خواص ارگانو لپتیک شیر خام بزهای نژاد نجدی خوزستان ، خوزستان،
۱۲. شیر و فراورده های آن ۱۵۲۸. روش تشخیص ارزیابی احساسی طعم در مواد خوراکی استاندارد شماره ۲۴۴۲ - ارزیابی حسی ، روش شناسایی و روش بررسی حساسیت چشایی ۱۸۵۴۴
۱۳. نجف نجفی، مسعود. مقاله بررسی اثر تعداد سلول های سوماتیک بر ترکیبات شیر استان خراسان رضوی، فصلنامه علوم و صنایع غذایی ، دوره ۶ ، شماره ۲ ، ۱۳۸۸، ۸-۱
۱۴. ییلاق بیگی، ع. (۱۳۹۱). بررسی اثرات سطوح مختلف آفلاتوکسین جیره بر غلظت آفلاتوکسین شیر خام گام، عبدالله پور روح اله ، اسدزاده سکینه ، نصرتی مهران، همایش علوم دامی ایران
15. Alhussien, M.N.; Dang, A.K. Milk somatic cells, factors influencing their release, future prospects, and practical utility in dairy animals: An overview. *Vet. World* 2018, 11, 562–577.
16. Bagnicka, E.; Winnicka, A.; Józ'wik, A.; Rzewuska, M.; Strzałkowska, N.; Kósciuczuk, E.; Prusak, B.; Kaba, J.; Horban'czuk, J.; Krzyzewski, J. Relationship between somatic cell count and bacterial pathogens in goat milk. *Small Rumin. Res.* 2011, 100, 72–77.
17. Clark, S., & García, M. B. M. (2017). A 100-year review: Advances in goat milk research. *Journal of Dairy Science*, 100(12), 10026–10044.

18. Comparative Aspects of Goat and Cow Milk, Rashmi Arora 1 , N Bhojak2 * Rajani Joshi3, International Journal of Engineering Science Invention ISSN (Online): 2319 – 6734, ISSN (Print): 2319 – 6726 www.ijesi.org Volume 2 Issue 1 || January. 2013 || PP.07-10
19. Comparative Nutrient Profiling of Retail Goat and Cow Milk, Sokratis Stergiadis 1,* , Natalja P. Nørskov 2 , Stig Purup 2 , Ian Givens and Michael R. F. Lee, Received: 20 August 2019.
20. Comparison of the nutrient composition of commercial dog milk replacers with that of dog milk J Am Vet Med Assoc. Author manuscript; available in PMC 2015 Jun Published in final edited form as: J Am Vet Med Assoc. 2014 Jun 15; 244(12): 1413-1422.
21. Contreras GA, Rodríguez JM (2011) Mastitis: comparative etiology and epidemiology. J Mammary Gland Biol Neoplasia 16: 339-356. [Crossref]
22. Cow vs goat milk in infant's nutrition: What is better?, Juraj Gašper*, Martina Miluchová, Michal Gábo, Article Details: Received: 2023-03-30, Accepted: 2023-06-14
23. Csapóné Riskó, T., & Csapó, Z. (2019). Goat keeping and goat milk products in human nutrition-review. Applied Studies in Agribusiness and Commerce, 13, 24–36.
24. Domingues PF, Lucheis SB, Serrão LS, Fernandes S, Contente APA, et al. (2006) Etiologia e sensibilidade bacteriana da mastite subclínica em ovelhas da raça Santa Inês. Ars Vet 22: 146-152.
25. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: a review Rocio Jimenez-Granado, Manuel Sanchez-Rodriguez, Cristina Arce and Vicente Rodriguez-Estevez, Spanish Journal of Agricultural Research 2015 12(1): 133-150, ISSN: 1695-971-X, eISSN: 2171-9292.
26. Fragkou IA, Boscós CM, Fthenakis GC (2014) Diagnosis of clinical or subclinical mastitis in ewes. Small Rumin Res 118: 86-92.
27. Fragkou IA, Boscós CM, Fthenakis GC (2014) Diagnosis of clinical or subclinical mastitis in ewes. Small Rumin Res 118: 86-92.
28. Haenlein, G.F.H. Goat milk in human nutrition. Small Rumin. Res. 2004, 51, 155–163.
29. Jimenez-Granado, R.; Sanchez-Rodriguez, M.; Arce, C.; Rodriguez-Estevez, V. Factors affecting somatic cell count in dairy goats: A review. Span. J. Agric. Res. 2014, 12, 133–150. [CrossRef]
30. Lindmark-Månsson, H., Bränning, C., Aldén, G. 2006. Relationship between somatic cell count, individual leukocyte populations and milk components in bovine udder quarter milk. Int. Dairy J. 16: 717–727

Study of somatic cell count and its relationship with chemical and organoleptic properties in raw milk of healthy and mastitis Najdi goats

Leila Nikravan^{1*}, Leila Derakhshan¹, Alireza Rahmatian², Alireza Salmani³, Fatemeh Homayoon³

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

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

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

*Corresponding author: 1757201157@iau.ir

Abstract

In examining the condition of raw milk of Najdi breed goats in Dezful, Shush and Fatolmobin region in terms of chemical and microbial parameters of raw milk; The results of the research have been evaluated in the standard partner laboratory of Pegah milk Khuzestan and other standard partner laboratories of Khuzestan. Mastitis is a complex disease that is caused by the relationship between the causative agent, the animal and its surrounding environment. It is an important animal health problem with many economic implications worldwide. The results obtained from the samples of more than 200 goats of the Najdi breed in the mentioned areas, and the somatic cells in the raw milk of healthy and mastitised Najdi goats were counted, as well as the effect of the amount of somatic cells in this area on the organoleptic and chemical properties, including fat, Protein, dry matter, density and freezing point as well as the amount of lead and aflatoxin have been measured and recorded. Staphylococcal mastitis is the main cause of intramammary infections in small ruminants. Staphylococcal mastitis is the main cause of intramammary infections in small ruminants. Staphylococcus aureus is the main common pathogen between humans and livestock, which requires the implementation of control programs in dairy farms. This research was carried out based on microbial and chemical tests using the measuring devices of the advanced food industry laboratories of Khuzestan province and provides a general and detailed overview of the raw milk of the Najdi goat breed in Khuzestan province

Keywords: Goat Milk, Organoleptic, Mastitis, Somatic Cells

بررسی میزان شیوع ژیا ردیا در سگ های شهر رشت

نریمان رئوفی^۱، سهراب رسولی^{۲*}

۱- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

۲- گروه علوم پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد ارومیه، دانشگاه آزاد اسلامی، ارومیه، ایران

*نویسنده مسئول Sohrab_rasoli@yahoo.com

چکیده

ژیا ردیا یک انگل تک یاخته ای است که دارای طیف وسیعی از میزبان هاست و پاتوژنی است که به طور رایج موجب اسهال در انسان و حیوانات می شود. تشخیص قطعی ژیا ردیا از طریق آزمایش مدفوع صورت می گیرد. بهترین راه پیشگیری در برابر این بیماری رعایت کردن بهداشت و شست و شوی مرتب دست ها می باشد. بررسی فراوانی شیوع ژیا ردیا در سگ های شهر رشت بر روی ۱۵۰ نمونه مدفوعی اخذ شده از سگ های نابالغ و بالغ در طول سال های ۱۴۰۲ و ۱۴۰۳، صورت پذیرفت که ۸۹ (۵۹.۳ درصد) نمونه آماری مورد مطالعه سگ نر و ۶۱ (۴۰.۷ درصد) سگ ماده بودند. تعداد ۸ نمونه مدفوعی (۵.۳۳ درصد) آلوده به انگل ژیا ردیا بودند. در سگ های مورد مطالعه ۱۸ قلابه (۰/۱۲ درصد) ۱ سال و پایین تر، ۳۶ قلابه (۰/۲۴ درصد) ۱-۲ ساله، ۳۵ قلابه (۳/۲۳ درصد) ۲-۳ ساله و ۶۱ قلابه (۷/۴۰ درصد) بیشتر از ۳ ساله بودند. از ۳۶ قلابه سگ ۱-۲ ساله تعداد ۲ قلابه (۰/۶/۵)، از ۳۵ قلابه سگ دارای سن ۲ تا ۳ سال تعداد ۳ قلابه (۰/۶/۸) و از ۶۱ قلابه سگ بالاتر از ۳ سال، تعداد ۳ قلابه (۰/۹/۴) دارای آلودگی به ژیا ردیا بودند. لیکن در توله سگ های ۱ ساله و پایین تر موردی از آلودگی به ژیا ردیا تشخیص داده نشد. از ۸۹ قلابه سگ نر، تعداد ۵ قلابه (۰/۶/۵) و از ۶۱ قلابه سگ ماده، تعداد ۳ قلابه (۰/۹/۴) دارای آلودگی به ژیا ردیا تشخیص داده شدند.

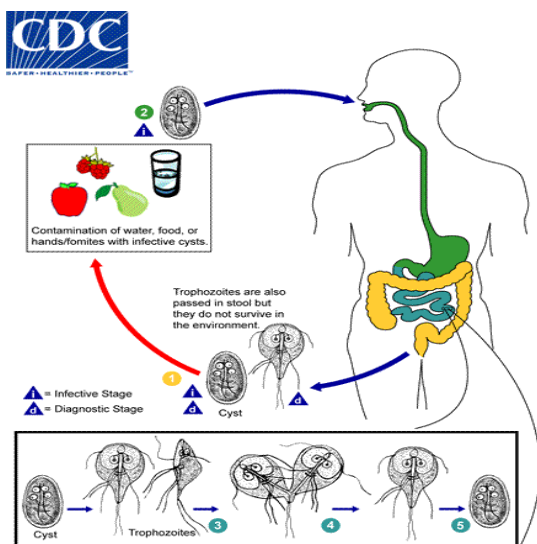
کلمات کلیدی: ژیا ردیا، سگ، رشت

مقدمه

ژیا ردیا یک انگل تک یاخته ای است که در سگ ها منجر به عفونت روده ای و بیماری ژیا ردیازیس می شود. ژیا ردیازیس یک بیماری زئونوز می باشد و از این رو، به اهمیت این تک یاخته بیشتر پی می بریم. لازم به ذکر است که انسان یا سگ مبتلا به ژیا ردیا، لزوماً علائم بالینی بروز نمی دهد و در موارد زیادی مشاهده شده که ژیا ردیازیس بدون بروز علائم بالینی بیمار را درگیر می کند. به طور سالانه، در کشور آمریکا، بیش از یک میلیون نفر مبتلا به این تک یاخته می شوند و لازم به ذکر است که تک یاخته ژیا ردیا، به عنوان رایج ترین بیماری انگل روده ای شناخته می شود. درصد بالایی از مبتلایان به این انگل، قابل درمان اند ولی بیماری ممکن است در توله ها، حیوانات مسن و آن دسته از حیوانات که از دارو های سرکوب سیستم ایمنی استفاده می شود و یا مشکلاتی در سیستم ایمنی دارند، پیامد های شدیدی به جا بگذارد و حتی کشنده باشد. (Jenny Alonge, ۲۰۲۴) این تک یاخته از طریق مدفوعی-دهانی منتقل می شود و به صورت تصادفی از طریق آب و غذای آلوده این انتقال صورت می گیرد. طبق مطالعه ای که بر روی ژیا ردیازیس در انسان انجام شده این نتیجه حاصل شد که خطر مبتلا شدن به این تک یاخته در کودکان بیشتر است و ۵۰ تا ۷۵ درصد کودکان علائم درمانگاهی از خود بروز نمی دهند. بقیه کودکان ممکن است اسهال حاد یا مزمن داشته باشند. (Alexander K C Leung, ۲۰۱۹) شیوع انگل ژیا ردیا به فاکتور های متعددی

بستگی دارد. شیوع این تک یاخته در کشور های توسعه یافته، ۲ درصد و در سایر کشور های آسیا، آفریقا و آمریکای لاتین، ۲۰ تا ۴۰ درصد تخمین زده شده است. در برخی بیماران ممکن است بیماری بدون بروز علائم بالینی رخ دهد. (Hörman A, ۲۰۰۴) بیماران ژیا ردیا مثبت ممکن است هیچ علامت بالینی نداشته باشند و یا اینکه علائمی نظیر اسهال شدید و عدم جذب مواد مغذی از روده باریک داشته باشند. به طور معمول، علائم ۹ تا ۱۵ روز بعد از ابتلا نمایان می شود. ولی ممکن است یک روز بعد از ابتلا به انگل نیز مشاهده علائم ژیا ردیازیس یاشیم. (CDC, ۲۰۱۷) در اغلب موارد، مدغوع چرب و بد بو است و حالت شناور دارد. گاز معده، درد های شکمی، استفراغ از دیگر علائم این بیماری است. عدم جذب مواد مغذی از روده به شکل مدفوع چرب، کاهش وزن، خستگی مفرط، خود را بروز می دهد. و در کودکان موجب عدم رشد و توسعه ذهنی می شود. (Despommier DD, ۲۰۲۰) برخی انسان ها، علائمی خارج از دستگاه گوارش مثل، خارش و قرمزی پوست، تورم چشم ها و مفاصل خواهند داشت. اگرچه رخداد این علائم نادر است. بیماران مبتلا به ژیا ردیا به طور معمول دچار نقصان در جذب لاکتوز، فولات، ویتامین ب۱۲، ویتامین آ می باشند. (CDC, ۲۰۲۱) کیست ژیا ردیا حدوداً ۳ ماه می تواند در آب سرد دوام بیاورد. تشخیص قطعی ژیا ردیا از طریق آزمایش مدفوع صورت می گیرد. بهترین راه پیشگیری در برابر این بیماری رعایت کردن بهداشت و شست و شوی مرتب دست

که علائم بالینی دیده نمی شود، ممکن است اختلال در جذب مواد غذایی همراه یا بدون تغییرات بافتی در دیواره روده رخ داده باشد. (Buret AG, ۲۰۰۸) انگل ژیا ردیا با مصرف آرژنین موضعی که اسید آمینه ضروری برای تولید نیتریک اکساید است (موجب کاهش گاز نیتریک اکساید و از این طریق از رشد خود محافظت می کند. نیتریک اکساید موجب کشته شدن انگل نمی شود ولی می تواند از رشد تروفوزوئیت ممانعت به عمل بیاورد. (Cotton JA, ۲۰۱۱)

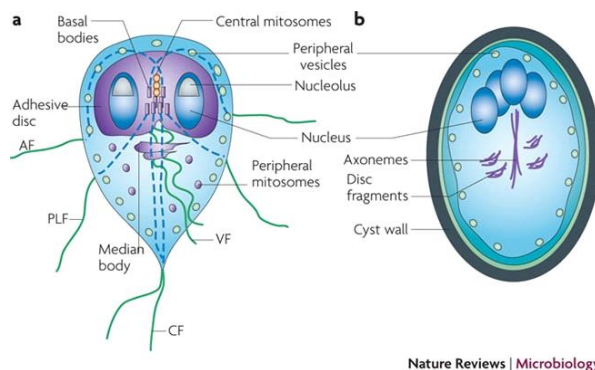


شکل ۲ - سیکل زندگی انگل ژیا ردیا در بدن انسان

ردیابی آنتی ژن در سطح ارگانیزم در نمونه های مدفوعی، تست انتخابی کنونی برای تشخیص ژیا ردیا است. (CDC, ۲۰۱۷) رنگ آمیزی تری کروم روی نمونه مدفوع، روش دیگر برای تشخیص ژیا ردیا است. (Immunocompromised or Travel History, ۲۰۱۴) سنجش ایمونوسوربنت پیوندی (ایزا) نیز برای تشخیص ژیا ردیا استفاده می شود (Rosenblatt JE, ۱۹۹۳).

ها می باشد. (Minetti C, ۲۰۱۶) چرخه زندگی ژیا ردیا شامل فرم کیست و فرم تروفوزوئیت است. به محض اینکه فرم کیست وارد بدن یک میزبان شود، به فرم تروفوزوئیت در می آید. تروفوزوئیت به دیواره روده متصل می شود و مجدد به فرم کیست در می آیند و به این فرم از طریق مدفوع دفع می شود. البته فرم تروفوزوئیت نیز ممکن است در مدفوع یافت شود ولی صرفا ارزش تشخیصی دارد و نمی تواند در محیط زنده بماند. ورود تنها تعداد کمی از این کیست ها به بدن میزبان می تواند موجب عفونت شود. (Einarsson E, ۲۰۱۶)

ayeh S'Ma, ۲۰۱۶



Nature Reviews | Microbiology

شکل ۱- تصویر راست: کیست ژیا ردیا

تصویر چپ: تروفوزوئیت ژیا ردیا

اتصال فرم تروفوزوئیت به میکرو ویلی های روده موجب ممانعت از عملکرد آنزیم تجزیه کننده دی ساکارید به مونوساکارید می شود. این امر موجب تزايد جمعیت میکرو ارگانیزم های روده می شود و موجب علائمی می شود که در بیماری ژیا ردیا زیس شاهدشان هستیم. تغییر در ویلی های روده موجب عدم توانایی در جذب آب و ریزمغذی ها از روده می شود که نتیجه ی آن اسهال است. در موارد ژیا ردیا مثبت

به پیشنهاد مرکز کنترل و پیشگیری از بیماری (CDC) شست و شوی دست ها و پرهیز از مصرف آب و غذای آلوده بهترین راه پیشگیری است. (CDC, ۲۰۱۵) جوشاندن آب آلوده به ژلار دیا، موجب کشته شدن کیست های این انگل می شود. (United States Environment Protection Agency, ۲۰۱۳) افزودن کلر به آب تاثیری بر از بین بردن کیست های ژلار دیا ندارد ولی استفاده از ضد عفونی کننده های بر پایه ی ید می تواند کارساز باشد. (Dunn, ۲۰۱۹) اگر علائم بالینی پا بر جا بود و یا بیماری حاد شد، باید از دارو درمانی جهت درمان استفاده کرد. گروه نیترو ایمیدازول ها نظیر مترونیدازول، تینیدازول، سکنیدازول و اورنیدازول برای درمان تجویز می شود. (Barry MA, ۲۰۱۳) سازمان جهانی بهداشت و انجمن بیماری عفونی آمریکا، مترونیدازول و در کنار آن تینیدازول و نیتازوکسانید را به عنوان خط اول درمان پیشنهاد کرده است. (Guerrant RL, ۲۰۰۱) از این سه، تنها نیتازوکسانید و تینیدازول توسط سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای درمان ژلار دیا تایید شده است. (United States Food and Drug Administration, ۲۰۱۵) (United States Food and Drug Administration, ۲۰۰۷)

مواد و روش ها

نمونه های مدفوع مستقیماً از رکتوم جمع آوری شده و درون ظروف پلاستیکی حاوی فرمالین ۱۰ درصد به آزمایشگاه منتقل شده و مشخصات شامل جنس، سن، و قوام نمونه

مدفوع (طبیعی، نرم، اسهالی) ثبت شد. مراحل آماده سازی نمونه جهت بررسی به این شکل است که نمونه مدفوع با محلول نمکی یا محلول ید مخلوط می شود و روی یک لام شیشه ای قرار می گیرد. این محلول به تجزیه مواد مدفوع و قابل شناسایی شدن کیست ها و تروفوزوئیت ها در زیر میکروسکوپ کمک می کند. لام زیر میکروسکوپ با توان کم (X۱۰) برای یافتن کیست یا تروفوزوئیت ژلار دیا بررسی می شود. کیست ها بیضی یا گرد هستند. اندازه آن ها بین ۸ تا ۱۴ میکرومتر است و ظاهر دو جداره مشخص دارند. تروفوزوئیت ها گلابی شکل، بین ۱۰ تا ۲۰ میکرومتر و دارای دو هسته و تاژک هستند. از تکنیک رنگ آمیزی تریکروم جهت نمایان شدن بهتر کیست و تروفوزوئیت استفاده شده. مراحل رنگ آمیزی تریکروم مدفوع به شرح زیر می باشد: دو مرحله ی اصلی: الف) آماده سازی اسمیر. ب) رنگ آمیزی اسمیر.

الف) آماده سازی اسمیر

بخش کوچکی از نمونه را برداشته، با استفاده از یک اپلیکاتور یا براش، دو اسمیر را روی یک لام میکروسکوپ تمیز آماده می کنیم. بلافاصله اسمیر ها را در فیکساتور غوطه ور کرده و اجازه می دهیم حداقل ۳۰ دقیقه در آن بماند. اگر نمونه مایع باشد، چند قطره از مدفوع را با ۳ یا ۴ قطره PVA روی یک لام شیشه ای مخلوط می کنیم. لام چند ساعت در انکوباتور با دمای ۳۷ درجه سانتی گراد می ماند تا خشک شود.

ب) رنگ آمیزی اسمیر

پس از اینکه اسمیر ها به خوبی ثابت و خشک شدند . لام ها را به مدت ۳ دقیقه در اتیل الکل ۷۰ درصد قرار می دهیم . سپس لام ها را به مدت ۲ الی ۵ دقیقه در محلول ید الکل قرار داده و سپس لام را دو مرتبه با الکل ۷۰ درصد شست و شو می دهیم . یک بار ۵ دقیقه و بار دوم به مدت ۲ الی ۵ دقیقه . لام را به مدت ۱۰ دقیقه در محلول رنگ آمیزی تریکروم قرار می دهیم . پس از گذشت ۱۰ دقیقه ، لام را به مدت ۵ ثانیه در اتیل الکل ۹۰ درصد اسیدی شده قرار می دهیم . اسلاید ها را چندین بار در اتانول ۱۰۰ درصد فرو می بریم . سپس دو مرتبه در اتیل الکل ۱۰۰ درصد فرو می بریم . مراحل شفاف سازی با استفاده از زایلین را انجام داده و لامل را روی لام قرار می دهیم . بهتر است که رنگ آمیزی تریکروم مدفوع، با استفاده از روغن ایمرسیون، زیر میکروسکوپ بررسی شود.

نتایج

در بررسی نمونه های مدفوع ۱۵۰ قلاده سگ شهرستان رشت، تعداد ۸ نمونه (۵/۳ درصد) (فاصله ی اطمینان ۱/۷-۸/۹٪ ۹۵ درصد) (۱۴۲ نمونه ۹۴/۷ درصد) (فاصله ی اطمینان ۹۱/۱-۹۸/۳٪ ۹۵ درصد) از نظر آلودگی به ژیا ردیا منفی گزارش گردیدند. از سگ های مورد مطالعه ۸۹ قلاده (۵۹/۳ درصد) سگ نر و ۶۱ قلاده (۴۰/۷ درصد) سگ ماده بودند. ۱۸ قلاده (۱۲/۰ درصد) ۱ سال و پایین تر، ۳۶ قلاده (۲۴/۰ درصد) ۱-۲ ساله، ۳۵ قلاده (۲۳/۳ درصد)

۲-۳ ساله و ۶۱ قلاده (۴۰/۷ درصد) بیشتر از ۳ ساله بودند. از ۳۶ قلاده سگ ۱-۲ ساله تعداد ۲ قلاده (۵/۶٪)، از ۳۵ قلاده سگ دارای سن ۲ تا ۳ سال تعداد ۳ قلاده (۸/۶٪) و از ۶۱ قلاده سگ بالاتر از ۳ سال، تعداد ۳ قلاده (۴/۹٪) دارای آلودگی به ژیا ردیا بودند. لیکن در توله سگ های ۱ ساله و پایین تر موردی از آلودگی به ژیا ردیا تشخیص داده نشد.

جدول ۱ - بررسی ارتباط فراوانی شیوع ژیا ردیازیس و سن سگ های شهرستان رشت

سن	ژیا ردیازیس		مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	p-Value
	مثبت	منفی			
۱ سال و پایین تر	۰ (۰٪)	۱۰۰ (۰٪)	۷۶۵/۱	۳	۷۵۰/۰
۱-۲ سال	۵ (۶٪)	۹۴ (۴٪)			
۲-۳ سال	۲ (۶٪)	۳۴ (۴٪)			
بیشتر از ۳ سال	۳ (۳٪)	۳۲ (۴٪)			
	۴ (۹٪)	۹۵ (۱٪)			

از ۸۹ قلاده سگ نر، تعداد ۵ قلاده (۵/۶٪) و از ۶۱ قلاده سگ ماده، تعداد ۳ قلاده (۴/۹٪) دارای آلودگی به ژیا ردیا تشخیص داده شدند.

جدول ۲- بررسی ارتباط فراوانی ژیاردیازیس و جنسیت

سگ‌های شهرستان رشت

جنسیت	ژیاردیازیس		مقدار شاخص کای دو	درجه آزادی	P-Value
	مثبت	منفی			
نر	۵/۶ (۵٪)	۹۴/۴ (۸۴٪)	۰۳۵/۰	۱	۸۵۱/۰
ماده	۴/۹ (۳٪)	۹۵/۱ (۵۸٪)			

بحث

تک یاخته ژیاردیا، انگلی ژئونوز می باشد که می تواند از سگ ها و سایر حیوانات به انسان منتقل شود. این بررسی با هدف تعیین میزان آلودگی سگ های شهر رشت به این تک یاخته صورت پذیرفت. فراوانی شیوع ژیاردیازیس در سگ های شهر رشت و بر روی ۱۵۰ نمونه مدفوعی اخذ شده، از سگ های نا بالغ و بالغ، در طول سال های ۱۴۰۲ و ۱۴۰۳، انجام شد که نتایج توصیفی و تحلیلی حاصل از این بررسی به شرح زیر می باشد:

با توجه به نتایج ارائه شده در جدول شماره (۱-۴) از سگ های مورد مطالعه ۸۹ قلابه (۵۹/۳ درصد) سگ نر و ۶۱ قلابه (۴۰/۷ درصد) سگ ماده بودند.

نتایج حاکی است که در سگ های مورد مطالعه ۱۸ قلابه (۱۲/۰ درصد) ۱ سال و پایین تر، ۳۶ قلابه (۲۴/۰ درصد) ۱-۲ ساله، ۳۵ قلابه (۲۳/۳ درصد) ۲-۳ ساله و ۶۱ قلابه (۴۰/۷ درصد) بیشتر از ۳ ساله بودند. (جدول ۲-۴)

در بررسی نمونه های مدفوع ۱۵۰ قلابه سگ شهرستان رشت، تعداد ۸ نمونه (۵/۳ درصد) (فاصله ی اطمینان ۹۵٪/۱۷-۸/۹ درصد) آلوده به ژیاردیا بوده و تعداد ۱۴۲ نمونه (۹۴/۷ درصد) (فاصله ی اطمینان ۹۵٪/۹۸/۳-۹۱/۱ درصد) به از نظر آلودگی به ژیاردیا منفی گزارش گردیدند. نمودار شماره (۱-۴).

طبق جدول شماره ۳-۴ از ۳۶ قلابه سگ ۱-۲ ساله تعداد ۲ قلابه (۵/۶٪)، از ۳۵ قلابه سگ دارای سن ۲ تا ۳ سال تعداد ۳ قلابه (۸/۶٪) و از ۶۱ قلابه سگ بالاتر از ۳ سال، تعداد ۳ قلابه (۴/۹٪) دارای آلودگی به ژیاردیا بودند. لیکن در توله سگ های ۱ ساله و پایین تر موردی از آلودگی به ژیاردیا تشخیص داده نشد.

نتایج ارائه شده در جدول شماره ۴-۴ حاکی است از ۸۹ قلابه سگ نر، تعداد ۵ قلابه (۵/۶٪) و از ۶۱ قلابه سگ ماده، تعداد ۳ قلابه (۴/۹٪) دارای آلودگی به ژیاردیا تشخیص داده شدند.

بر اساس مطالعه ای که در سال ۱۳۹۰ بر روی سگ های ولگرد استان ایلام انجام شد، از ۱۱۲ نمونه ی مدفوع بررسی شده، به طور کلی ۴۶ مورد (۴۱ درصد) آلوده به انگل تک یاخته و ۲۱ مورد (۱۸.۷۵ درصد) آلوده به تک یاخته ژیاردیا بودند. (سیامک کاکه خانی، ۱۳۹۰)

مطالعه ای دیگر در سال ۱۳۹۸ روی ۲۰۰ نمونه ی مدفوعی از سگ های ولگرد و نگهبان در شهر مهاباد صورت گرفت که ۹ قلابه (۵.۴ درصد) و ۳۱ قلابه (۵.۱۵ درصد) از سگ

آلودگی به ژیا ردیا کانیس در سگ و شغال به ترتیب ۵ درصد و ۵.۷ درصد و ژیا ردیا فلیس در روباه ۲۲.۷ درصد بود. در گرگ ژیا ردیا کانیس ملاحظه نشد. آلودگی با سارکوسیستیس در شغال و گرگ ۴۱.۴ درصد و در روباه ۱۸.۴ درصد بود. آلودگی توام ژیا ردیا و سارکوسیستیس در گرگ ۴۰ درصد، شغال ۳۲.۵ درصد، سگ ۲۸.۶ درصد و روباه ۹.۱ درصد بود (محسن اربابی، ۱۳۸۰).

در مطالعه ای که روی ۵۰ قلاده سگ ولگرد شهرستان تبریز، در سال ۱۳۹۵، از نظر شیوع انگل ژیا ردیا و کریپتوسپوری دیوم صورت گرفت، به ترتیب ۹ مورد (۱۸ درصد) و ۴ مورد (۸ درصد) مبتلا به ژیا ردیا و کریپتوسپوری دیوم بودند (پیمان رئوف، ۱۳۹۶).

طبق بررسی که در تمامی نواحی کشور کانادا صورت گرفت، به تمامی درمانگاه های دامپزشکی کانادا درخواست داده شد که جهت تحقیق و بررسی وضعیت شیوع ژیا ردیا در این کشور همکاری کنند. و در این مطالعه، بیمارانی که با علائم مشابه عفونت با ژیا ردیا مثل اسهال و استفراغ و از تست تشخیص ژیا ردیا استفاده شد. و برای یافتن کیست ژیا ردیا در مدفوع، اسمیر مدفوع تهیه شد. روش آماده سازی اسمیر مدفوع به این گونه است که نمونه ی کوچکی از مدفوع را روی اسلاید شیشه ای قرار داده و قطره ای سالین روی آن ریخته، آن را گسترش داده و مقداری از محلول لوگل یدین روی آن میریزیم. از ۱۳۴ درمانگاه در این کشور، تعداد ۱۸۷۱ سگ مورد بررسی قرار گرفته شدند. بدون استفاده از اسمیر

های مذکور به ترتیب مبتلا به انگل های کریپتوسپوری دیوم و ژیا ردیا بودند. بیشترین موارد مبتلا به انگل ژیا ردیا مربوط به سن ۶ الی ۱۲ ماه بود (علی حیات روحی، ۱۳۹۸).

در سال ۱۳۸۵ بر روی سگ های خانگی شهرستان اصفهان مطالعه ای صورت گرفت که در این بررسی، از ۱۲۰ قلاده سگ، ۴ قلاده (۳.۳۳ درصد) مبتلا به انگل ژیا ردیا بودند که یک مورد ماده و زیر یکسال و دو مورد نر و بین یک تا دو ساله بودند (داریوش شیرانی، ۱۳۸۵).

در سال ۱۳۹۲ علی پزشکی، مصطفی رضائیان، میترا زارع بوانی در بررسی تشابه ژن tpi در تک یاخته ی ژیا ردیا در گربه وانسان از روش PCR-RFLP استفاده کردند، که به دو روش مستقیم و روش تغلیظی فرمل-ا تربر روی مدفوع گربه انجام شد. نتیجه ی این بررسی بدین صورت بود که تشابه ژنومی بین ژیا ردیا انسانی و گربه ای وجود داشته و احتمال زئونوز بودن این تک یاخته وجود دارد. (علی پزشکی، ۱۳۹۲)

در سال ۱۳۹۱ سکینه بیگی، سعیدرضا نورالهی فرد در بررسی میزان شیوع تک یاخته ژیا ردیا در گربه های شهر کرمان با استفاده از رنگ آمیزی تری کروم به این نتیجه رسیدند که در ۵ درصد از نمونه ها آلودگی به تک یاخته ژیا ردیا مشاهده شد. رابطه معنی داری بین آلودگی تک یاخته ای ژیا ردیا با جنس و سن مشاهده نشد. (سکینه بیگی، ۱۳۹۱)

مطالعه ای بین سال های ۱۳۷۷ تا ۱۳۷۹ در کاشان بر روی ۱۴۲ گوسفند که شامل ۷۰ قلاده سگ، ۴۰ قلاده شغال، ۲۲ قلاده روباه، ۱۰ قلاده گرگ میشد، صورت گرفت.

توسط میکروسکوپ فلورسانس از ۳۴۸ سگ مذکور ،
۸۵ مورد ژياردیا مثبت تلقی شدند (۲۴.۴ درصد) . اطلاعات
مربوط به ۷۱ سگ در دسترس نبود . (Manuel
AdellAledón , ۲۰۱۸)

طبق مطالعه ای که در استرالیا بر روی ۳۳۳ سگ و
۲۲۶ گربه صورت گرفت ، ۲۱ درصد از سگ ها و ۱۴ درصد از
گربه ها به انگل ژياردیا مبتلا بوده اند . ارتباطی بین جنسیت
و نژاد و آلودگی با انگل ژياردیا یافت نشد ولی در سگ های
جوان بیشتر آلودگی با ژياردیا مشاهده شد . (J M Swan
, ۱۹۸۶)

طبق بررسی که در کشور آمریکا بر روی سگ ها و گربه
هایی که با علائم اسهال و استفراغ به کلینیک دامپزشکی
مراجعه کردند ، با استفاده از کیت تشخیص ژياردیا Idexx
Snap ، نتیجه زیر حاصل شد :

از ۱۶۱۱۴ سگ و ۴۹۷۸ گربه که مورد بررسی قرار
گرفتند ، ۱۵.۶ درصد از سگ ها و ۱۰.۸ درصد گربه های
مذکور مبتلا به ژياردیا بودند . (E P Carlin D , ۲۰۰۶)
بر اساس مطالعه ای که بر روی ۲۰۰ نمونه ی مدفوع
گربه های شهرستان سمنان در سال های ۱۳۹۹ و ۱۴۰۰
صورت گرفت ، نتایج زیر به دست آمد :

مدفوعی و با روش snap test ، آنتی ژن مدفوعی در
۲۴۱ مورد (۱۳ درصد) جمعیت مذکور یافت شد . زمانی که
علاوه بر این تست از اسمیر مدفوعی استفاده شد ، این عدد
به ۲۹۹ مورد (۱۶ درصد) رسید . در ۱۷.۱ درصد از سگ های
مبتلا ، استفراغ مشاهده شد . عفونت حاد در ۵۷.۲ درصد سگ
ها وجود داشت و عفونت مزمن که علائم بالینی آن بیش از
یک هفته ادامه داشته ، در ۲۸.۴ درصد از سگ های ژياردیا
مثبت ، مشاهده شد . (Olson .Merle E , ۲۰۱۰)

در مطالعه ی دیگر در کشور اسپانیا ، که ما بین سال
های ۲۰۱۴ تا ۲۰۱۶ روی ۳۴۸ نمونه ی مدفوع بررسی صورت
گرفت ، این نمونه ها مربوط به ۲۱۸ سگ از پناهگاه ها ،
۲۴ سگ که برای توله کشی مورد استفاده قرار می گرفتند ،
۶۸ سگ شکاری ، ۲۴ سگ شپرد ، و ۱۴ سگ خانگی بوده .
اطلاعاتی نظیر جنسیت ، وضعیت و منطقه جغرافیایی مربوطه
آن سگ گزارش شد . ولی فاکتور سن به علت نبود اطلاعات
کافی درمورد سگ های مذکور ، در این مطالعه مورد بررسی
قرار نگرفت . نمونه ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه
سانتی گراد نگهداری شد و بخشی از هر نمونه در ۵ تا ۱۰
میلی لیتر محلول نرمال سالین ۱۰ درصد و تا زمان بررسی
توسط میکروسکوپ فلورسانس نگهداری شد . و بخش دیگر
در اتانول ۷۰ درصد نگهداری شد و برای آنالیز های مولکولی
به مراکز تحقیقاتی انگل شناسی فرستاده شد .

۱۳ نمونه به ژياردیا (۶.۵ درصد) و ۹ نمونه به
کریپتوسپوریديوم (۴.۵ درصد) مبتلا بودند . از ۴۱ قلاده گربه

تبریز کمتر است. برخلاف مطالعه ای که بر روی سگ های شهر مهاباد انجام شد و بیشترین میزان آلودگی در سنین بین ۶ تا ۱۲ ماه گزارش شد، در این مطالعه در سگ های کمتر از یکسال، آلودگی یافت نشد.

نتیجه گیری و پیشنهاد ها

از آن جایی که بیماری ژیاوردیازیس یک بیماری زئونوز محسوب می شود، جهت جلوگیری از ابتلای انسان ضروری است که نکات بهداشتی رعایت شود. چکاپ و معاینه سالیانه سگ های خانگی، امتناع از تغذیه سگ ها با گوشت های مشکوک و خوب پخته نشده (آبدار) (و یا خام از مواردی است که باید توسط صاحبین حیوانات خانگی مورد توجه قرار گیرد و از آن جایی که انگل ژیاوردیا از طریق آب آلوده نیز منتقل می شود، صاحبین حیوانات خانگی باید نسبت به آبی که در اختیار آن ها قرار می دهند، اهتمام بورزند.

در سن ۱ تا ۲ سالگی، ۳ قلاده، از ۵۷ قلاده گربه در سن ۲ تا ۳ سالگی، ۴ قلاده، از ۸۳ قلاده گربه بالای ۳ سال، ۶ قلاده آلوده به انگل ژیاوردیا بودند (البرز خسروی، ۱۴۰۱).

با مطالعه نتایج حاصله از این بررسی می توان به ارتباط میان سن و آلودگی سگ ها پی برد. از آن جایی که میان سگ های جوان کمتر از ۱ سال، آلودگی ژیاوردیا یافت نشد، احتمالاً با افزایش سن، احتمال در معرض انگل قرار گرفتن و آلودگی این انگل بیشتر خواهد بود. رابطه معناداری میان جنسیت و آلودگی با این انگل مشاهده نشد. میزان آلودگی در استان ایلام، شهر مهاباد، شهرستان اصفهان، شهر کاشان، شهرستان تبریز، به ترتیب ۱۸.۷۵ درصد، ۵.۱۵ درصد، ۳.۳۳ درصد، ۵ درصد و ۸ درصد بوده است. بررسی آلودگی انگل ژیاوردیا میان سگ های شهر رشت حاکی از آن است که میزان آلودگی در شهر رشت نسبت به شهرستان اصفهان بیشتر و نسبت به استان ایلام، شهر مهاباد، شهر کاشان و شهرستان

منابع :

۱. کاکه خانی، سیامک، بهرامی، علی محمد، احمدی اسبچین، سلمان، و زمان دوستی، علی. (۱۳۹۰). مطالعه آلودگی های تک یاخته ای (ژیاردیا، انتاموبا، آیزوسپورا و کریپتوسپوریدیوم (در سگ های ولگرد استان ایلام. آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی) دامپزشکی تبریز (۳)، ۵۳ (پیاپی ۱۹)، SID. ۱۳۳۰-۱۳۲۵
۲. حیات روحی، علی، و صدقیان، محمد. (۱۳۹۸). بررسی میزان شیوع کریپتوسپوریدیوم و ژیا ردیا در سگ های گله و نگهبان مناطق روستایی اطراف مهاباد. آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی (دامپزشکی تبریز)، ۱۳ (۳ (پیاپی ۵۱))، SID. ۲۴۳-۲۳۵
۳. شیرانی، داریوش، خلیلی، محمدرضا، و مشگی، بهنام. (۱۳۸۵). بررسی فراوانی آلودگی به ژیا ردیا در سگهای خانگی شهرستان اصفهان. مجله تحقیقات دامپزشکی (دانشگاه تهران)، ۶۱ (۲)، SID. ۱۶۱-۱۶۳
۴. پزشکی، علی، رضاییان، مصطفی، و زارع یوانی، میترا. (۱۳۹۲). بررسی تشابه ژن tpi در ژیا ردیای گربه و انسان با استفاده از روش PCR-RFLP. مجله دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی اردبیل، ۱۳ (۲)، ۱۶۵-۱۷۳. (پیاپی ۴۸)، SID
۵. سکینه بیگی، پایان نامه بررسی انگل های تک یاخته ای دستگاه گوارش گربه های ولگرد شهر کرمان، ۱۳۹۱
۶. اربابی، محسن، درودگر، عباس، هوشیار، حسین، و اسدی، محمدعلی. (۱۳۸۰). بررسی آلودگی به ژیا ردیا و سارکوسیستیس در سگ سانان منطقه کاشان طی سالهای ۱۳۷۷-۷۹. فیض، ۵ (۳ (پی در پی ۱۹))، SID. ۸۳-۸۹
۷. البرز خسروی، پایان نامه بررسی میزان شیوع کریپتوسپوریدیوم و ژیا ردیا در گربه های شهرستان سمنان، ۱۴۰۱
۸. پیمان رئوفی، شیوع آلودگی به ژیا ردیا و کریپتوسپوریدیوم در سگ های بی سرپرست شهرستان تبریز، ۱۳۹۶
۹. Olson ME, Leonard NJ, Strout J. Prevalence and diagnosis of Giardia infection in dogs and cats using a fecal antigen test and fecal smear. Can Vet J. ۲۰۱۰ Jun;۵۱(۶):۶۴۰-۲. PMID : ۲۰۸۰۸۵۷۸ ;PMCID: PMC۲۸۷۱۳۶۵.
۱۰. Adell-Aledón M, Köster PC, de Lucio A, Puente P, Hernández-de-Mingo M, Sánchez-Thevenet P, Dea-Ayuela MA, Carmena D. Occurrence and molecular epidemiology of Giardia duodenalis infection in dog populations in eastern Spain. BMC Vet Res. ۲۰۱۸ Jan ۲۲;۱۴(۱):۲۶. doi: ۱۰.۱۱۸۶/5۱۲۹۱۷-۰۱۸-۱۳۵۳-Z. PMID: ۲۹۳۵۷۸۵۰; PMCID: PMC۵۷۷۸۶۲۹.
۱۱. Swan JM, Thompson RC. The prevalence of Giardia in dogs and cats in Perth, Western Australia. Aust Vet J. ۱۹۸۶ Apr; ۶۳(۴):۱۱۰-۲. doi: ۱۰.۱۱۱۱/j.۱۷۵۱-۰۸۱۳.۱۹۸۶.tb.۰۷۶۷۶.x. PMID: ۳۷۴۱۲۷۳.

۱۲. Carlin EP, Bowman DD, Scarlett JM, Garrett J, Lorentzen L. Prevalence of Giardia in symptomatic dogs and cats throughout the United States as determined by the IDEXX SNAP Giardia test. Vet Ther. ۲۰۰۶ Fall;۷(۳):۱۹۹-۲۰۶. PMID: ۱۷۰۳۹۴۴۲.
۱۳. Jenny Alonge, DVM on Mar. ۲۰, ۲۰۲۴. Giardia in dogs. Petmd
۱۴. Alexander K C Leung, Amy A M Leung, Alex H C Wong, Consolato M Sergi, Joseph K M Kam, Giardiasis: An Overview. (۲۰۱۹)
۱۵. Hörman A, Korpela H, Wedel H, Sutinen J, Hanninen M (۲۰۰۴). "Meta-analysis in assessment of the prevalence and annual incidence of Giardia spp. and Cryptosporidium spp. infections in humans in the Nordic countries"
۱۶. Giardiasis". cdc.gov. December ۹, ۲۰۱۷
۱۷. Giardia. Illness and symptoms". CDC. ۲۶ February ۲۰۲۱
۱۸. Despommier DD, Griffin DO, Gwadz RW, Hotez PJ, Knirsch CA. "III. Eukaryotic Parasites". Parasitic Diseases (۶ ed.). NY: Parasites Without Borders. pp. ۱۱-۱۷. Archived from the original on ۷ March ۲۰۲۰.
۱۹. Minetti C, Chalmers RM, Beeching NJ, Probert C, Lamden K (October ۲۰۱۶). "Giardiasis"
۲۰. Einarsson E, Ma'ayeh S, Svärd SG (December ۲۰۱۶). "An up-date on Giardia and giardiasis"
۲۱. Buret AG (September ۲۰۰۸). "Pathophysiology of enteric infections with Giardia duodenalis"
۲۲. Cotton JA, Beatty JK, Buret AG (August ۲۰۱۱). "Host parasite interactions and pathophysiology in Giardia infections"
۲۳. CDC (July ۱۵, ۲۰۱۵). "Sources of Infection & Risk Factors". Parasites – Giardia. Archived
۲۴. Rosenblatt JE, Sloan LM, Schneider SK (May-June ۱۹۹۳). "Evaluation of an enzyme-linked immunosorbent assay for the detection of Giardia lamblia in stool specimens"
۲۵. Emergency Disinfection of Drinking Water". United States Environment Protection Agency. ۲۰۱۳-۰۲-۲۰. Archived from the original on ۲۳ June ۲۰۱۵
۲۶. Dunn, Noel; Juergens, Andrew L. (۲۰۱۹), "Giardiasis"
۲۷. Parasites - Giardia, Prevention & Control". Centers for Disease Control and Prevention. CDC. Archived from the original on ۳۰ April ۲۰۱۵
۲۸. Stool Specimens - Detection of Parasite Antigens". CDC. Archived from the original on ۲۰۱۷-۰۶-۱۷
۲۹. Guerrant RL, Van Gilder T, Steiner TS, Thielman NM, Slutsker L, Tauxe RV, et al. (February ۲۰۰۱). "Practice guidelines for the management of infectious diarrhea"
۳۰. Barry MA, Weatherhead JE, Hotez PJ, Woc-Colburn L (April ۲۰۱۳). "Childhood parasitic infections endemic to the United States"
۳۱. Ova and Parasite Exam, Fecal (Immunocompromised or Travel History)". Archived from the original on ۲۰۱۴-۱۰-۲۹
۳۲. Metronidazole Prescribing Information" (PDF). United States Food and Drug Administration. Pfizer. June ۲۰۱۵

Survey on prevalence of Giardia in dogs of Rasht

Nariman Raoufi^۱, Sohrab Rasouli^{۲*}

^۱-Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

^۲-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia Branch, Islamic Azad University, Urmia, Iran

*Corresponding author: sohrab_rasoli@yahoo.com

Abstract:

Giardia is a protozoan parasite that has a wide range of hosts and is a pathogen that commonly causes diarrhea in humans and animals. Definitive diagnosis of giardia is done through stool test. The best way to prevent this disease is to observe hygiene and wash hands regularly. The prevalence of giardia in dogs in Rasht was investigated on ۱۵۰ fecal samples taken from immature and adult dogs during the years ۱۴۰۲ and ۱۴۰۳, ۸۹ (۵۹,۳ percent) of the statistical sample studied were male dogs and ۶۱ (۴۰,۷ percent) were female dogs. ۸ stool samples (۵,۳۳ percent) were infected with Giardia parasite. In the studied dogs, ۱۸ dogs (۱۲,۰ percent) are ۱ year old and below, ۳۶ dogs (۲۴,۰ percent) are ۱-۲ years old, ۳۰ dogs (۲۰,۰ percent) are ۲-۳ years old, and ۵۶ dogs (۳۷,۷ percent) were more than ۳ years old. Out of ۳۶ of dogs ۱-۲ years old, ۲ dogs (۵,۶٪), ۳ dogs out of ۳۰ dogs aged ۲ to ۳ years (۸,۶٪), and ۳ dogs out of ۶۱ dogs over ۳ years old. (۴,۹٪) were infected with Giardia. However, no cases of Giardia infection were detected in puppies ۱ year old and below. Out of ۸۹ male dogs, ۰ dogs (۰,۰٪) and ۳ dogs (۳,۳٪) out of ۶۱ female dogs were found to be infected with Giardia.

Keywords : Giardia ,Dog, Rasht