

بررسی فراوانی باکتری بروسلا کنیس در سگ‌های سقط کرده در شیراز

بهنام پدرام^{۱*}، حسین فتاحی^۲، بهناز نیک افراز^۳، شقایق قناد^۴، حمید خرم^۵

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

۲- گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد کازرون، کازرون، ایران

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

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

۵- دانش آموخته دکتری تخصصی بیماریهای داخلی دامهای کوچک، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

*نویسنده مسئول: b1pedram@yahoo.com

چکیده

بیماری بروسلوز یک بیماری زئونوز جهانی است که به وسیله گونه‌های مختلف باکتری بروسلا ایجاد می‌گردد. در این مطالعه، حضور باکتری بروسلا در نمونه‌های سرمی و سواب واژن سگ‌های ارجاعی به کلینیک‌های دامپزشکی شیراز مورد بررسی قرار گرفت. به منظور انجام این پژوهش، نمونه خون و سواب واژن از ۵۰ قلاده سگ غیرعقیم ساکن شهر شیراز اخذ شد. از این تعداد، ۲۵ نمونه از مراکز پرورشی سگ‌ها در حوالی شیراز و ۲۵ نمونه از سگ‌های ارجاعی به کلینیک دام‌های کوچک در شیراز جمع‌آوری گردید. آزمایش سرولوژیک با استفاده از کیت ELISA IgG Brucella Canis انجام شد. از میان ۵۰ قلاده سگ، ۱۲ قلاده (۲۴٪) سرولوژی مثبت و ۳۸ قلاده (۷۶٪) منفی بودند. از بین سگ‌های ماده‌ای که جفت‌گیری داشتند، ۳۲ قلاده (۶۶٪) آبستن و ۱۷ قلاده (۳۴٪) غیرآبستن بودند. ۴۲ قلاده (۸۴٪) زایش موفق داشتند و ۸ قلاده فاقد زایش بودند. ۷ قلاده (۱۴٪) سابقه سقط جنین داشتند و در ۴۳ قلاده (۸۶٪) سقط مشاهده نشد. نوزادان ۷ سگ تلف شدند (۱۶/۲۸٪) و نوزادان ۳۶ سگ زنده ماندند (۸۳/۷۲٪). نوزادان ۲ سگ (۴/۶۵٪) دارای ناهنجاری مادرزادی بودند. نمونه‌های سواب واژن با روش Real-time PCR بررسی شدند و باکتری بروسلا در ۲ نمونه (۴٪) شناسایی گردید. یافته‌ها نشان می‌دهند که سگ‌ها می‌توانند یکی از مخازن بالقوه بیماری بروسلوز باشند.

واژه‌های کلیدی: بروسلوز کنیس، الیزا، سواب واژن، سگ

مقدمه

بروسلا کنیس (*Brucella canis*) یکی از گونه‌های پاتوژن جنس بروسلا است که عمدتاً در سگ‌ها بیماری‌زا بوده و در شرایط خاص می‌تواند به انسان نیز منتقل شود. سگ‌ها میزبان طبیعی بروسلا کنیس^۱ می‌باشند ولی این حیوان می‌تواند از طریق خوردن جفت و جنین‌های سقط شده عفونی دام‌های اهلی به بروسلا آبورتوس^۲، بروسلا ملی‌تنسیس^۳ و بروسلا سوئیس^۴ مبتلا شود (۱،۲).

این باکتری گرم‌منفی، هوازی و میله‌ای شکل، اغلب از طریق تماس مستقیم با ترشحات تولیدمثلی سگ‌های آلوده، منتقل می‌شود و یکی از عوامل اصلی سقط جنین در سگ‌ها به شمار می‌رود. منابع اصلی آلودگی شامل جنین‌های سقط‌شده، ترشحات واژینال، مایع منی، ادرار و خون هستند که می‌توانند از راه‌های مختلفی از جمله جفت‌گیری، لیسیدن ترشحات یا بلع بقایای جفت و جنین وارد بدن سگ سالم شوند (۵،۶). شیوع عفونت با بروسلا کنیس به عواملی مانند سن، نژاد، شرایط زندگی و موقعیت جغرافیایی بستگی دارد. سگ‌های خانگی نسبت به سگ‌های ولگرد شیوع کمتری دارند که ناشی از کنترل بهتر جمعیت است. عفونت معمولاً در مراکز پرورش باقی‌مانده و با جابجایی حیوانات به مناطق دیگر گسترش می‌یابد. نرخ شیوع در کشورها متفاوت است؛ از ۱ تا ۱۸ درصد در آمریکا و ژاپن، تا ۲۸ درصد در مکزیک و پرو. در جنوب

آمریکا نژادهایی مانند بیگل و لابرادور رتریور بیشتر درگیر هستند. مواردی از بیماری در اروپا، شمال آفریقا و چین نیز گزارش شده و حتی در سگ‌های وارداتی از کشورهایی با قرنطینه‌های سخت نیز دیده شده است. بنابراین غربالگری سگ‌های وارداتی از مناطق اندمیک ضروری است (۸). علائم بالینی بروسلوز در سگ‌ها متنوع بوده و بسته به جنس حیوان و مرحله بیماری متفاوت است. در ماده‌ها، سقط جنین معمولاً در اواخر آبستنی (هفته‌های ۷ تا ۹) رخ می‌دهد و ممکن است با ترشحات چرکی واژینال همراه باشد. همچنین ناباروری و زایمان توله‌های مرده یا ناتوان نیز از دیگر نشانه‌های بالینی در ماده‌ها محسوب می‌شود. در نرها، بیماری با التهاب بیضه‌ها (ارکیت)، اپیدیدیمیت و در نهایت آتروفی بیضه بروز می‌کند که اغلب منجر به ناباروری می‌شود. در موارد پیشرفته، بروسلا کنیس می‌تواند موجب دیسکواسپوندیلیت (التهاب دیسک بین‌مهره‌ای) گردد که با درد، لنگش و ناتوانی حرکتی همراه است. علائم عمومی نظیر بی‌حالی، کاهش اشتها، کاهش وزن و بزرگ شدن غدد لنفاوی نیز ممکن است مشاهده شود. در سگ‌های مبتلا به بروسلوز، خصوصاً گونه‌های غیر اختصاصی، ممکن است حیوان در عین آلودگی هیچ‌گونه علائمی را از خود نشان ندهد (۸،۹،۱۰).

تشخیص قطعی عفونت ناشی از بروسلا کنیس در سگ‌ها به طور معمول بر پایه روش‌های کشت باکتری و آزمون‌های

^۳- *B. melitensis*

^۴- *B. suis*

^۱- *B. Canis*

^۲- *B. abortus*

در سال ۱۹۸۶ ادسیون و همکاران بر روی شیوع آنتی‌بادی بروسلا آبورتوس و بروسلا کنیس در سگ‌ها و به روش آزمایش‌های رزینگال و آگلوتیناسیون در کشور نیجریه تحقیق کردند (۱۶).

در سال ۲۰۰۸ و ۲۰۰۹ یانگ در کشور چین شیوع بیماری بروسلا را در بین نژادهای مختلف و با آزمایش‌های رزینگال و آگلوتیناسیون در بین سگ‌های ولگرد بررسی کرد (۱۷).

در سال ۲۰۱۲ طی مطالعه دنتینجر و همکاران در نیویورک یک مورد ابتلا به بروسلا کنیس را در کودک ۳ ساله با علائم تب و اختلال تنفسی گزارش کردند. تشخیص از طریق کشت خون انجام شد و پس از درمان آنتی‌بیوتیکی بیمار بهبود یافت. سگ آلوده شناسایی و قرنطینه شد و ۳۱ نفر از کارکنان آزمایشگاه نیز در معرض آلودگی قرار داشتند (۱۸).

مواد و روش کار

این مطالعه از نوع مقطعی و در سال ۱۴۰۲ بر روی ۵۰ قلاده سگ ماده، عقیم‌نشده و ارجاع‌شده به کلینیک‌های دام کوچک شهر شیراز انجام شد. از هر حیوان حدود ۵ میلی‌لیتر خون و یک نمونه سواب واژینال تهیه گردید.

خون‌ها از ورید جاگولار یا سافن گرفته و در لوله‌های ژل‌دار (FL Medical, Italy) ریخته شدند. پس از لخته شدن کامل، نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۲۰۰۰ G در دستگاه سانتریفیوژ قرار گرفتند و سرم جدا شد. سرم هر نمونه

سرولوژیک انجام می‌گیرد. با توجه به سختی و زمان‌بر بودن کشت، آزمایش‌های سرولوژیک مانند تست آگلوتیناسیون سریع (RSAT)، تست آگلوتیناسیون با ۲-مرکاپتو اتانول (2ME-RSAT) و الیزا به عنوان روش‌های رایج‌تر، سریع‌تر و کاربردی‌تر برای شناسایی پادتن‌های ضد بروسلا در سرم حیوانات مشکوک مورد استفاده قرار می‌گیرد (۱۱). بروسلا کنیس از نظر بهداشت عمومی نیز اهمیت دارد، چرا که به‌عنوان یک پاتوژن زئونوز، توانایی انتقال به انسان را دارد. انتقال در انسان معمولاً از طریق تماس مستقیم با ترشحات یا نمونه‌های آلوده در محیط‌های آزمایشگاهی یا کلینیکی رخ می‌دهد و بیشتر افرادی که با سگ‌ها یا بافت‌های آلوده در تماس هستند (مانند دامپزشکان، تکنسین‌های آزمایشگاه و پرورش‌دهندگان سگ)، در معرض خطر قرار دارند. علائم بیماری در انسان معمولاً غیراختصاصی بوده و شامل تب مداوم یا متناوب، تعریق شبانه، درد عضلانی و مفصلی، خستگی مزمن و در مواردی نادر، دیسکواسپوندیلیت یا آرتریت می‌باشد.

ایران به عنوان یکی از مناطق اندمیک بروسلا مطرح است و علیرغم تلاش‌های زیاد در زمینه مبارزه با آن، هنوز به عنوان یک معضل بهداشتی و با شیوع بالا در اکثر استان‌های کشور مطرح است (۱۲، ۱۳). با توجه به نقش بروسلا کنیس در سگ‌ها و خطرات احتمالی برای انسان، توجه به پیشگیری، مدیریت و کنترل کنل‌های پرورش سگ یا کنل‌های آلوده از اهمیت بالایی برخوردار است (۱۴، ۱۵).

استخراج DNA از سواب‌های واژینال با استفاده از کیت GeneAll Exgene™ (Korea) طبق دستورالعمل سازنده انجام شد. واکنش Real-Time PCR با استفاده از Master mix آماده (Solis BioDyne، تکاپوزیست ایران) انجام گردید. ابتدا واکنش با DNA بروسلا/آبورتوس سویه واکسنی برای استاندارد سازی انجام شد. پنج رقت متوالی (10^{-1} تا 10^{-5}) تهیه و بررسی شد؛ اختلاف Cq بین رقت‌ها حدود ۳ سیکل مشاهده شد که نشان‌دهنده کارایی مناسب بود. سپس واکنش برای نمونه‌های DNA استخراج‌شده اجرا گردید که توالی پرایمرها در جدول ۱ آمده است.

وزن محصول (bp)	توالی	نام پرایمر
169	TCAATGCGATCAAGTCGG	BCSP31-F
	GCATCCTTACGCGCAA	BCSP31-R

جدول ۱: توالی پرایمرها

در لوله‌های ۰/۵ و ۱/۵ میلی‌لیتری شماره‌گذاری و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره شد.

برای ارزیابی IgG ضد *Brucella canis* از دو کیت الیزا (PISHTAZTEB, Iran) استفاده شد. ابتدا کلیه معرف‌ها از دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد به دمای محیط منتقل شدند. نمونه‌ها یخ‌زدایی و با ورتکس یکنواخت شدند. از هر نمونه ۱۰ میکرولیتر سرم برداشته و با ۴۰ میکرولیتر بافر رقیق‌کننده مخلوط شد. نمونه‌ها در پلیت الیزا همراه با کنترل مثبت و منفی مطابق دستورالعمل کیت قرار گرفتند و در گرمخانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند. سپس با استفاده از دستگاه ELx50 (Bio Tek, USA) پنج مرتبه با بافر شستشو، چاهک‌ها شسته شدند. سپس ۵۰ میکرولیتر آویدین HRP به چاهک‌ها اضافه و مجدداً انکوبه و شسته شد. در مرحله آخر، سوبسترای A و B و محلول توقف افزوده شد و جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه ELISA Reader (BioTek 800, USA) خوانده شد. تفسیر نتایج براساس دستور کیت انجام گرفت.

نمونه‌های سرمی مثبت در آزمون ELISA با آنتی‌ژن بروسلا/آبورتوس و بروسلا ملی تنسیس نیز توسط تست رزبنگال ارزیابی شدند. به میزان مساوی (۳۰ میکرولیتر) از آنتی‌ژن و سرم بر روی صفحه‌ی تمیز ریخته شد، سپس مخلوط و پس از ۴ دقیقه از نظر آگلوتیناسیون صورتی بررسی شد. تمام نمونه‌ها از نظر این دو آنتی‌ژن منفی گزارش شدند.

نحوه نگهداری	تعداد(قلاده)	فراوانی نسبی	نتیجه آزمون کای اسکوتر
سگ خانگی	۲۵	۵۰	$X^2=۰/۰۳^{ns}$ $Df=۱$ $P=۱/۰۰$
سگ ولگرد	۲۵	۵۰	
مجموع	۵۰	۱۰۰	

جدول ۳: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمودنی‌ها بر اساس نحوه نگهداری و مقایسه با آزمون کای اسکوتر

از نظر محل نگهداری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون کای اسکوتر در سطح احتمال یک درصد بین نگهداری داخل منزل و بیرون از منزل وجود داشت (جدول ۴)

محل نگهداری	تعداد(قلاده)	فراوانی نسبی	نتیجه آزمون کای اسکوتر
داخل منزل	۱۵	۳۰	$X^2=۷/۲۲$ $Df=۱$ $P=۰/۰۰۵$
بیرون منزل	۳۵	۷۰	
مجموع	۵۰	۱۰۰	

جدول ۴: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمودنی‌ها بر اساس محل نگهداری و مقایسه با آزمون کای اسکوتر

از نظر فاکتور سن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر اساس آزمون کای اسکوتر وجود داشت. بطوریکه بیشترین فراوانی مربوط به سن دو تا چهار سال (۶۰ درصد) و کمترین مربوط به کمتر از دو سال و چهار تا شش سال (۱۰ درصد) بود (نمودار ۱).

برنامه زمانی انجام Real-time PCR در جدول ۲ آمده است.

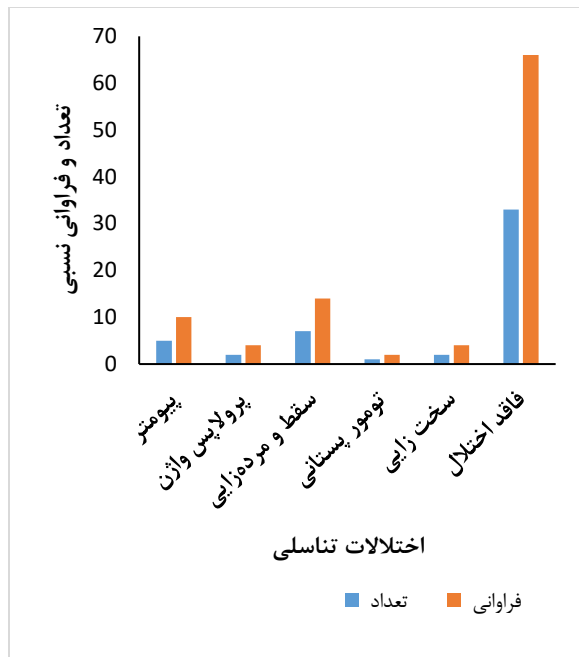
تعداد چرخه	زمان	دما (C)	مرحله
۱	۱۵ دقیقه	۹۵	پیش گرمایش
۳۵	۱۵ ثانیه	۹۵	دناتوراسیون
۳۵	۲۰	۶۰	اتصال پرایمر
۳۵	۲۰	۷۲	گسترش
۱	۱۰	۹۵	مرحله ذوب
۱	۱۰	۶۵	اتصال
۱	۱	۹۷	گسترش

جدول ۲: برنامه زمانی انجام Real-time PCR

تحلیل آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ انجام شد. برای مقایسه فراوانی تیتر مثبت بین گروه‌های مختلف، از آزمون کای دو و در موارد لزوم از آزمون دقیق فیشر استفاده گردید. مقایسه متغیرهای پیوسته بین دو گروه مثبت و منفی از نظر وجود آنتی‌بادی بروسلا با آزمون T پارامتریک انجام شد. سطح معنی‌داری در تمامی آزمون‌ها کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

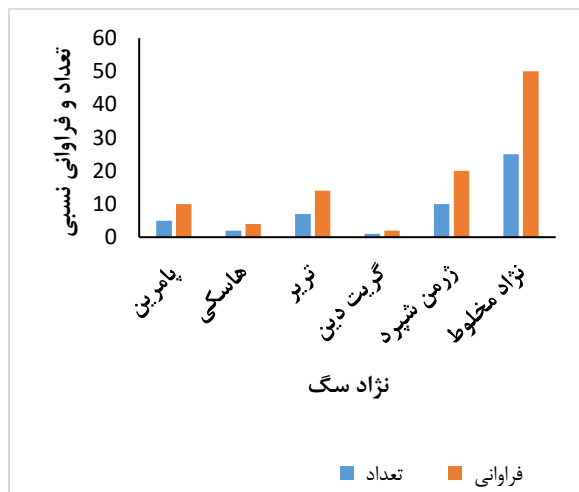
نتایج

براساس جدول ۳ از نظر نحوه نگهداری بین ۵۰ نمونه مورد بررسی از لحاظ خانگی (۵۰ درصد) و یا ولگرد بودن (۵۰ درصد)، بین دو گروه سگ اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون کای اسکوتر وجود نداشت.

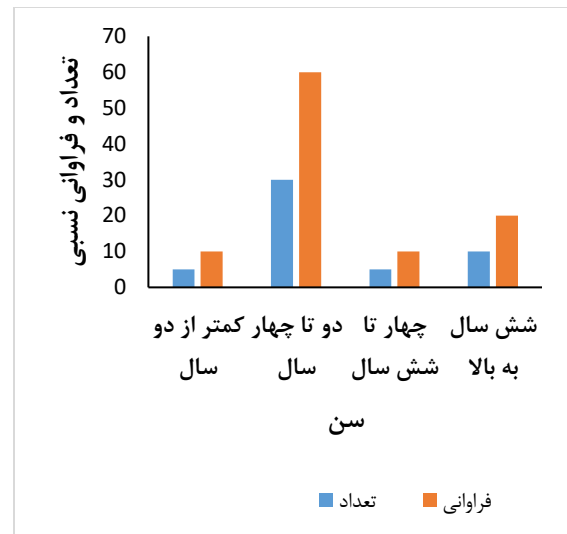


نمودار ۲: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمون‌های بر اساس اختلالات تناسلی

نتایج حاصل از بررسی نژادهای سگ نشان داد که در این پژوهش بیشترین نژاد سگ مربوط به نژاد مخلوط با فراوانی ۵۰ درصد و کمترین مربوط به نژاد گریت دین با فراوانی ۲ درصد می‌باشد (نمودار ۳).



نمودار ۳: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمون‌های بر اساس نژاد سگ



نمودار ۱: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمون‌های بر اساس سن

نتایج حاصل از وضعیت آبستنی نشان داد که فراوانی سگ‌های آبستن در این پژوهش بیشتر از سگ‌های غیر آبستن بوده و اختلاف معنی‌داری بین دو گروه آبستن و غیر آبستن با استفاده از آزمون کای اسکور در سطح احتمال ۵ درصد وجود داشت (جدول ۵).

وضعیت آبستنی	تعداد (فلاده)	فراوانی نسبی	نتیجه آزمون کای اسکور
سگ آبستن	۳۳	۶۶	$X^2=4/5$
سگ غیر آبستن	۱۷	۳۴	$Df=1$
مجموع	۵۰	۱۰۰	$P=0/024$

جدول ۵: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمون‌های بر اساس وضعیت آبستنی و مقایسه با آزمون کای اسکور

از لحاظ اختلالات تناسلی کمترین اختلال مربوط به تومور پستانی (۲ درصد) و بیشترین مربوط به گروه فاقد اختلال (۶۶ درصد) بود (نمودار ۲).

نتیجه‌ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد ارتباط جفت گیری بین جمعیت سروپازتو و سرونکاتو دیده نمی شود ($p=0/074$).

در مورد میزان ارتباط زایش موفق با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۵۰ قلاده سگ (سگ های ماده ای که جفت گیری داشتند) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۷).

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ‌هایی که زایش نداشتند	تعداد سگ‌هایی که زایش داشتند	
۱۲	۲ (٪۲۳)	۱۰ (٪۷۷)	سروپازتو ^a
۳۸	۶ (٪۲۷/۱)	۳۲ (٪۷۲/۹)	سرونکاتو ^a
۵۰	۸ (٪۱۰۰)	۴۲ (٪۱۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۷: مقایسه‌ی تعداد و درصد سگ‌های سروپازتو و سرونکاتو آزمایش شده از نظر سابقه ی زایش پس از جفت گیری

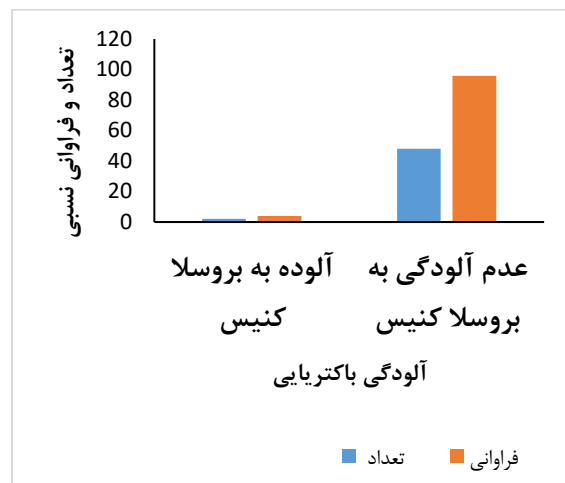
نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد زایمان موفق سگ ها بین جمعیت سروپازتو و سرونکاتو دیده نمی شود ($p=0/797$).

در مورد میزان وقوع سقط با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۵۰ قلاده سگ (سگ های ماده ای که جفت گیری داشتند) مورد ارزیابی قرار گرفتند. (جدول ۸)

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ‌هایی که سقط نداشتند	تعداد سگ‌هایی که سقط داشتند	
۱۶	۱۱ (٪۲۵/۵۸)	۵ (٪۷۱/۴۳)	سروپازتو ^a
۳۴	۳۲ (٪۷۴/۴۲)	۲ (٪۲۸/۵۷)	سرونکاتو ^b
۵۰	۴۳ (٪۱۰۰)	۷ (٪۱۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۸: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های سروپازتو و سرونکاتو آزمایش شده از نظر سابقه ی سقط

از نظر آلودگی به باکتری، نتایج حاصل از آزمون کای اسکوئر حاکی از معنی داری در سطح احتمال یک درصد بین دو گروه می‌باشد (نمودار ۴).



نمودار ۴: تعداد و درصد فراوانی نسبی آزمودنی‌ها بر اساس آلودگی باکتریایی بروسلا کنیس

در مورد میزان ارتباط جفت گیری با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۵۰ قلاده سگ (تمامی سگ‌های مورد مطالعه) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۶).

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ‌هایی که فقط یکبار جفت‌گیری داشتند	تعداد سگ‌هایی که بیش از یکبار جفت‌گیری داشتند	
۱۲	۱ (٪۱۴/۲۸)	۱۱ (٪۹۵/۷۲)	سروپازتو ^a
۳۸	۶ (٪۱۵/۷۹)	۳۲ (٪۸۴/۲۱)	سرونکاتو ^a
۵۰	۷ (٪۱۰۰)	۴۳ (٪۸۶/۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۶: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های سروپازتو و سرونکاتو آزمایش شده از نظر جفت گیری

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ با توله بدون ناهنجاری	تعداد سگ با توله ناهنجار	
۱۲	۱۲ (٪۳۰)	۰ (٪۰)	سروپازتیو ^a
۳۰	۲۸ (٪۷۰)	۲ (٪۱۰۰)	سرونگاتیو ^b
۴۲	۴۰ (٪۱۰۰)	۲ (٪۱۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۱۰: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های سروپازتیو و سرونگاتیو آزمایش شده از نظر ناهنجاری های مادرزادی در توله های آن ها

نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد تولد توله های دارای ناهنجاری های مادرزادی در سگ های سروپازتیو در مقابل سگ های سرونگاتیو وجود دارد (p=0/03).

در مورد میزان ارتباط عدم آبستن شدن با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۵۰ قلاده سگ (سگ های ماده ای که جفت گیری داشتند) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱۱).

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ هایی که آبستن می شوند	تعداد سگ هایی که آبستن نمیشوند	
۱۲	۲ (٪۶/۰۶)	۱۰ (٪۵۸/۸۲)	سروپازتیو ^a
۳۸	۳۱ (٪۹۳/۹۴)	۷ (٪۴۱/۱۸)	سرونگاتیو ^b
۵۰	۳۳ (٪۱۰۰)	۱۷ (٪۱۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۱۱: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های سروپازتیو و سرونگاتیو آزمایش شده از نظر باروری

نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد عدم باروری در سگ های سروپازتیو در مقابل سگ های سرونگاتیو وجود دارد (p=0/018).

نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد افزایش میزان سقط در سگ های سروپازتیو در مقابل سگ های سرونگاتیو وجود دارد (p=0/00).

در مورد میزان وقوع مرگ و میر توله ها پس از تولد با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۴۲ قلاده سگ (سگ های ماده ای که زایش داشتند) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۹).

تعداد کل در هر ردیف	تعداد سگ با توله زنده مانده	تعداد سگ یا توله تلف شده	
۱۶	۷ (٪۲۰)	۵ (٪۷۱/۴۳)	سروپازتیو ^a
۳۴	۲۸ (٪۸۰)	۶ (٪۲۸/۵۷)	سرونگاتیو ^b
۴۲	۳۵ (٪۱۰۰)	۷ (٪۱۰۰)	تعداد کل در هر ستون

جدول ۹: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های سروپازتیو و سرونگاتیو آزمایش شده از نظر وضعیت زنده مانده توله ها

نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد مرگ و میر توله ها در سگ های سروپازتیو در مقابل سگ های سرونگاتیو وجود دارد (p=0/00).

در مورد میزان وقوع ناهنجاری های مادرزادی در توله ها با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس، مجموعاً تعداد ۴۲ قلاده سگ (سگ های ماده ای که زایش داشتند) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱۰).

علیه بروسلا کنیس ۶/۶٪ اعلام شد. علائم مشاهده شده در این مرکز شامل سقط، ناهنجاری های مادرزادی هنگام تولد و ناباروری بود که تقریبا با نتایج مطالعه ما یکسان بود (۱۹).

بهبودی و همکاران در سال ۲۰۱۱ مطالعه ای با روش ICT (سنجش ایمونوکروماتوگرافی) بر روی ۲۱ قلاده سگ از یک مرکز پرورش در حوالی شیراز انجام دادند. میزان شیوع سرمی بروسلا کنیس در این مرکز ۵۷/۲٪ اعلام شد. همه ی موارد مثبت بزرگتر از ۲ سال بوده و ۷۵٪ از موارد مثبت را سگ های ماده تشکیل می دادند [20]. با توجه به محدود بودن جمعیت سگ های نمونه گیری شده توسط بهبودی و همکاران حصول درصد شیوع بالا و اختلاف با مطالعه ی حاضر دور از انتظار نیست.

مصلی نژاد و همکاران در سال ۲۰۱۳ بر روی ۲۴۳ قلاده سگ ارجاعی به بیمارستان دانشکده ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز که برای واکسیناسیون و یا سایر بیماری ها مراجعه کرده و به صورت تصادفی انتخاب شده بودند؛ آزمون ICT را انجام دادند. تعداد ۱۶ مورد مثبت و میزان شیوع سرمی آنتی بادی های علیه بروسلا کنیس در این جمعیت ۶/۸۵٪ محاسبه شد (۲۱).

اختلاف مشاهده شده در میزان فراوانی به دست آمده در مطالعه ی حاضر با مطالعه ی مصلی نژاد و همکاران (اهواز ۲۰۱۳) به دلیل جمعیت سگ های ارزیابی شده در این دو مطالعه است که در مطالعه ی حاضر بر روی جمعیت سگ

در مورد میزان ارتباط اختلالات تناسلی با حضور آنتی بادی بروسلا کنیس در سگ های ماده، مجموعا تعداد ۵۰ قلاده سگ (سگ های ماده) مورد ارزیابی قرار گرفتند (جدول ۱۲).

	تعداد سگ ماده با اختلال تناسلی	تعداد سگ ماده بدون اختلال تناسلی	تعداد کل در هر ردیف
سروپازتیو ^a	۱۲ (۷۰/۵۹٪)	۰ (۰٪)	۱۲
سرونگاتیو ^b	۵ (۲۹/۴۱٪)	۳۳ (۱۰۰٪)	۳۸
تعداد کل در هر ستون	۱۷ (۱۰۰٪)	۳۳ (۱۰۰٪)	۱۱۷

جدول ۱۲: مقایسه ی تعداد و درصد سگ های ماده ی سروپازتیو و سرونگاتیو آزمایش شده از نظر اختلالات تناسلی

نتیجه ی آزمون مربع کای در این مطالعه نشان داد که اختلاف معنی داری در مورد افزایش اختلالات تناسلی در سگ های ماده ی سروپازتیو در مقابل سگ های ماده ی سرونگاتیو وجود دارد ($p=0/001$).

کد نمونه	Cq
کنترل مثبت (رقت 10^{-1})	۱۶/۰۴
کنترل مثبت (رقت 10^{-2})	۱۹/۵۷
کنترل مثبت (رقت 10^{-3})	۲۳/۸۰
کنترل مثبت (رقت 10^{-4})	۲۷/۱۲
کنترل مثبت (رقت 10^{-5})	۳۱/۳۳

جدول ۱۳: نتایج Real-time PCR

بحث

در سال ۲۰۰۸ آزمایش هایی در یک مرکز نگهداری و پرورش سگ در ایالت ساسکاچوان کانادا توسط برنان و همکاران انجام شد. تعداد ۳۳ سگ در این مرکز ساکن بودند که با آزمایش IFA تعداد ۲۰ قلاده مثبت و شیوع سرمی آنتی بادی های

نتیجه گیری

در مجموع، نتایج این مطالعه با بخشی از مطالعات داخلی و بین‌المللی همخوان است و تأیید می‌کند که سگ‌ها می‌توانند به‌عنوان مخزن خاموش بروسلا کنیس عمل کرده و نقش مهمی در اپیدمیولوژی بروسلاز بازی کنند. با توجه به زئونوتیک بودن بیماری، انجام اقدامات کنترلی، عقیم‌سازی، غربالگری منظم، آموزش به صاحبان سگ و پایش مداوم بیماری می‌تواند نقش مؤثری در کاهش شیوع آن داشته باشد.

های غیر عقیم ساکن در مراکز پرورش و یا ارجاعی به بیمارستان‌ها و کلینیک‌های دام کوچک شهر شیراز کار شده ولی در مطالعه‌ی مصلی نژاد و همکاران نمونه‌های اخذ شده به صورت تصادفی از میان سگ‌های ارجاعی به بیمارستان دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز انتخاب شده که سالم یا بیمار بوده و احتمال عقیم بودن یا پایین بودن سن آن‌ها وجود داشته که خود باعث کاهش سابقه‌ی برخورد با عفونت می‌شود.

در مطالعه‌ای که در سال ۲۰۱۸ توسط اودو و همکاران در نیجریه بر روی ۳۴۷ قلاده سگ ارجاعی به بیمارستان انجام شد، میزان شیوع سرمی آنتی بادی‌های علیه بروسلا کنیس با روش ELISA برابر ۱۴/۵۷ درصد محاسبه شد. میزان شیوع سرمی این بیماری در بین سگ‌های بالغ ۸۴/۳ درصد و در میان توله‌ها ۱۵/۷ درصد ارزیابی شد. میزان ۷۸/۴ درصد از موارد مثبت نر و ۲۱/۶ درصد از موارد مثبت ماده بودند (۲۲). این مطالعه از نظر میزان شیوع سرمی آنتی بادی‌های علیه بروسلا کنیس با مطالعه‌ی حاضر مشابهت دارد.

نکته قابل توجه این است که تفاوت در نتایج مطالعات می‌تواند ناشی از نوع سگ‌های مورد بررسی (خانگی، ولگرد، نگهبان)، روش‌های آزمایشگاهی (PCR، ELISA، IFA، RSAT)، جمعیت نمونه، شرایط اقلیمی، وضعیت بهداشتی منطقه و حتی رفتارهای پرورشی و تغذیه‌ای باشد.

منابع

۱. احمدی، ملاح؛ دستمالچی ساعی، حبیب. اصول باکتری شناسی دامپزشکی، اصول باکتری شناسی دامپزشکی، تالیف جی. آر، کارتر و دالارچی، وایس. چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، ۱۳۸۷، صفحات ۲۶۲ - ۲۴۷.
۲. حسن آبادی، ن. رضایی، م، خلیلی، م: بررسی حضور باکتری جنس بروسلا در نمونه های سواب واژنی جمع آوری شده از سگ های ارجاعی به بیمارستان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان به روش PCR. پایان نامه دانشکده دامپزشکی کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، سال تحصیلی ۱۳۹۷.
۳. ذوقی، اسماعیل. "سیمای بالینی و آزمایشگاهی بروسلوز در انسان تا لیف ادوارد جی یانگ، میخائیل جی کوربل. چاپ اول، موسسه انتشاراتی سازمان نظام دامپزشکی، ۱۳۸۲، صفحات ۱۵۶ - ۹۴.
۴. شیمی، احمد. باکتری شناسی دامپزشکی و بیماری های باکتریایی، باکتری شناسی دامپزشکی و بیماری های باکتریایی، چاپ اول، موسسه نشر جهاد دانشگاهی، ۱۳۷۶، صفحات ۳۳۷ - ۳۰۷.
۵. قربانپور نجف آبادی، م. مصلی نژاد، ب، محمدیان، ن: جستجوی آنتی بادی ضد بروسلوز (بروسلا کنیس) در سگ های شهری و روستایی شهرستان اهواز به روش ایمنو کروماتوگرافی. پایان نامه دانشکده دامپزشکی اهواز، دانشگاه شهید چمران اهواز، سال تحصیلی ۱۳۸۹.
۶. مشهدی رفیعی، سیامک؛ آل داود، سید جاوید؛ نجار، محمدهادی. بررسی سرو اپیدمیو، وژی بروسلوز در سگ های بومی شهرستان نیشابور، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد واحد گرمسار، ۱۳۸۹، صفحات ۶ - ۱.
۷. میرشکاری، پ. سرچاهی، ع، مهری، م: بررسی مقدماتی سرولوژیکی بروسلا کنیس در شهرستان مشهد. پایان نامه دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، سال تحصیلی ۱۳۹۸.
8. Dahlbom, M.; Johnsson, M.; Myllys, V.; Taponen, J. and Andersson, M. (2009). Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reproduction Domestic Animals*, 44 (1): 128-131.
9. Dahlbom, M.; Johnsson, M.; Myllys, V.; Taponen, J. and Andersson, M. (2009). Seroprevalence of canine herpesvirus-1 and *Brucella canis* in Finnish breeding kennels with and without reproductive problems. *Reproduction Domestic Animals*, 44 (1): 128-131.

10. Christopher S, Umapathy B, Ravikumar K. Brucellosis: review on the recent trends in pathogenicity and laboratory diagnosis. *Journal of laboratory physicians*. 2010;2(2):55
11. Megid J, Mathias LA, Robles C. Clinical manifestations of brucellosis in domestic animals and humans. *The Open Veterinary Science Journal*. 2010:119-26.
12. Cosford KL. *Brucella canis*: An update on research and clinical management. *The Canadian Veterinary Journal*. 2018;59(1):74.
13. Adesiyun AA, Abdullahi SU, Adeyanju JB. Prevalence of *Brucella abortus* and *Brucella canis* antibodies in dogs in Nigeria. *J Small Anim Pract*. 1986 Jan;27(1):31–7.
14. Capasso L. Bacteria in two-millennia-old cheese, and related epizoonoses in Roman populations. *Journal of Infection*. 2002;45(2):122-7.
15. De Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, Rossetti CA, Adams LG. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of *Brucella*–Host Interactions. *The American journal of pathology*. 2015;185(6):1505-17.
16. Ruiz-Mesa J, Sanchez-Gonzalez J, Reguera J, Martin L, Lopez-Palmero S, Colmenero J. Rose Bengal test: diagnostic yield and use for the rapid diagnosis of human brucellosis in emergency departments in endemic areas. *Clinical microbiology and infection*. 2005;11(3):221-5.
17. Smits HL, Kadri SM. Brucellosis in India: a deceptive infectious disease. *Indian Journal of Medical Research*. 2005;122(5):375.
18. Keid LB, Soares RM, Vasconcellos SA, Chiebao D, Salgado V, Megid J, et al. A polymerase chain reaction for detection of *Brucella canis* in vaginal swabs of naturally infected bitches. *Theriogenology*. 2007;68(9):1260-70.56.
19. Franco MP, Mulder M, Gilman RH, Smits HL. Human brucellosis. *The Lancet infectious diseases*. 2007;7(12):775-86.
20. Dentinger CM, Jacob K, Lee LV, Mendez HA, Chotikanatis K, McDonough PL, et al. Human *Brucella canis* infection and subsequent laboratory exposures associated with a puppy, New York City, 2012. *Zoonoses and public health*. 2015;62(5):407-14.
21. Brown J, Blue J, Wooley R, Dreesen D, Carmichael L. A serologic survey of a population of Georgia dogs for *Brucella canis* and an evaluation of the slide agglutination test. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 1976;169(11):1214-6.

-
22. Higgins R, Hoquet F, Bourque R, Gosselin Y. A serological survey for *Brucella canis* in dogs in the province of Quebec. *The Canadian Veterinary Journal*. 1979;20(11):315.

Investigation of the prevalence of *Brucella Canis* bacteria in aborted dogs in Shiraz

Behnam Pedram^{*1}, Hosein Fatahi², Behnaz Nikafriz³, Shaqayeq Qannad⁴, Hamid Khorram⁵

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
2. Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Kazerun Branch, Kazerun, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine graduate, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
4. Doctor of Veterinary Medicine student, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
5. Ph.D in Small Animal Internal Diseases, Islamic Azad University, Science and Research Branch, Tehran, Iran

***Corresponding author: b1pedram@yahoo.com**

Abstract

Brucellosis is a globally distributed zoonotic disease caused by various species of *Brucella*. This study aimed to investigate the presence of *Brucella* in serum and vaginal samples of non-neutered dogs in Shiraz. For this purpose, blood and vaginal swab samples were collected from 50 non-neutered dogs. Of these, 25 samples were taken from dog breeding centers around Shiraz and 25 from dogs referred to small animal clinics within the city. Serological analysis was performed using an IgG ELISA kit specific for *Brucella canis*. Among the sampled dogs, 12 (24%) were seropositive and 38 (76%) were seronegative. Of the mated female dogs, 32 (66%) were pregnant, while 17 (34%) were not. A total of 42 dogs (84%) gave birth, and 8 did not. Seven females (14%) had a history of abortion, and no abortion was observed in the remaining 43 (86%). Puppies of 7 dogs (16.28%) died, and puppies of 2 dogs (4.65%) had congenital anomalies. Vaginal swab samples were analyzed using Real-time PCR, and *Brucella* DNA was detected in 2 out of 50 samples (4%). According to these findings, dogs should be considered a potential reservoir of brucellosis. Detection of *Brucella* in vaginal samples highlights the need for more comprehensive surveillance in canine populations in this region.

Key words: *Brucella canis*, ELISA, Vagina soap, Dog

بررسی فنوتیپی و ژنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی علیه سویه های سالمونلا جدا شده از گوشت بوقلمون در استان اصفهان

سیده ام البنین قاسمیان^{۱*}، مجید غلامی آهنگران^۲، فرهاد لجم اورک^۳، زهرا صادقیان^۴

- ۱- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهبهان، بهبهان، ایران
- ۲- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران
- ۳- دانش آموخته دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر، شوشتر، ایران
- ۴- دانشجوی دکتری حرفه‌ای دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر شوشتر، ایران

*نویسنده مسئول: Ghasemian1249@yahoo.com

چکیده

این مطالعه با هدف شناسایی و تعیین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی سالمونلا در گوشت بوقلمون‌های کشتار شده انجام شد. از ۲۰۰ نمونه سوآب گرفته شده از ناحیه پشت گردن بوقلمون‌ها، ۱۶ مورد (۸٪) آلوده به سالمونلا تشخیص داده شد. شناسایی اولیه با روش‌های میکروبیولوژیکی و بیوشیمیایی و تأیید نهایی با PCR صورت گرفت که در آن همه ایزوله‌ها دارای باند ۲۸۴ جفت‌بازی مربوط به ژن *invA* بودند. همچنین ۱۴ ایزوله دارای ژن *FliC* مربوط به سروتیپ تی‌فی‌موریوم و ۲ ایزوله واجد ژن *Prot6E* مربوط به انتریتیدیس بودند. بیشترین مقاومت آنتی‌بیوتیکی در برابر اکسی‌تتراسایکلین (۵۰٪) و بیشترین حساسیت نسبت به جنتامایسین (۱۰۰٪) مشاهده شد. نتایج PCR نشان داد که ۳ سویه دارای ژن *SulI* (۱۸/۷۵٪) و ۵ سویه دارای ژن *qnrA* (۳۱/۲۵٪) هستند، در حالی که هیچ‌یک حامل ژن *Act(3)-IV* نبودند. تمام سویه‌های دارای ژن‌های *SulI* و *qnrA* در آزمون آنتی‌بیوگرام به ترتیب در برابر سولفانامید/تری‌متوپریم و انروفلوکساسین مقاومت نشان دادند. این نتایج بیانگر وجود سالمونلاهای مقاوم به آنتی‌بیوتیک در گوشت بوقلمون‌های عرضه شده در اصفهان است که می‌تواند هشدار برای سلامت عمومی باشد.

واژگان کلیدی: سالمونلا، گوشت بوقلمون، مقاومت آنتی‌بیوتیکی، ژن مقاومت، اصفهان

مقدمه

سالمونلا یکی از مهم‌ترین عوامل بیماری‌زای زئونوز در صنعت پرورش طیور به شمار می‌رود که به دلیل تنوع در بیماری‌زایی، گستردگی طیف میزبانی و ویژگی‌های فنوتیپی و ژنوتیپی متنوع، جایگاه ویژه‌ای در حوزه بهداشت دام و انسان دارد (۱). تاکنون بیش از ۲۷۰۰ سرووار از این باکتری شناسایی شده‌اند که بسیاری از آن‌ها از انسان به حیوان و بالعکس قابل انتقال بوده و در دسته عوامل بیماری‌زای مشترک قرار می‌گیرند (۲). بهترین راه تشخیص سالمونلوز در طیور، کشت میکروبی از احشای داخلی مانند کبد، روده و قلب است (۳). در کنار نقش مهم سالمونلا در کاهش بهره‌وری مزارع طیور و ایجاد خسارات اقتصادی، انتقال آن به انسان از طریق محصولات آلوده مانند گوشت طیور نیز خطرات جدی برای سلامت عمومی به همراه دارد (۳).

در حال حاضر، هرچند نظارت‌ها بر گله‌های مولد طیور توسط سازمان دامپزشکی کشور صورت می‌گیرد، اما این نظارت‌ها به طور کافی در مورد گله‌های بوقلمون گوشتی اعمال نمی‌شود (۳). با توجه به این که پرورش بوقلمون گوشتی در مدت زمان کوتاه انجام می‌شود (۴ تا ۵ ماه)، احتمال آلودگی گوشت این پرند در فرآیند پرورش و کشتار بالاست و اطلاعات محدودی درباره وضعیت آلودگی آن در دسترس است. لذا ضرورت دارد وضعیت آلودگی سالمونلایی در گوشت بوقلمون و همچنین الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به صورت دقیق بررسی شود تا بتوان با اتخاذ استراتژی‌های کنترلی مناسب از گسترش آلودگی جلوگیری کرد.

مرور پژوهش‌های گذشته نیز اهمیت این موضوع را تأیید می‌کند. تیغ و همکاران در سال ۲۰۱۵ میزان آلودگی بوقلمون‌های سیستان و بلوچستان را ۸۱۴ درصد گزارش کردند و مقاومت دارویی را نسبت به سفالکسین بالا دانستند (۴). روشن‌مرام در سال ۲۰۲۱ بیشترین مقاومت را نسبت به کلستین در بوقلمون‌های مناطق مختلف کشور ثبت کرد (۵). رحیمی و همکاران در مطالعه‌ای در اصفهان، ۷/۹ درصد

آلودگی را در گوشت بوقلمون گزارش کردند که بیشترین مقاومت به تتراسایکلین مربوط بود (۶). همچنین، عزیزپور در اردبیل و زاهدی در شهرکرد نیز شیوع بالای آلودگی سالمونلایی در فرآورده‌های طیور را بیان کردند (۱، ۷).

با توجه به خسارات اقتصادی، خطرات بهداشتی و گسترش مقاومت دارویی، بررسی دقیق سویه‌های سالمونلا در گوشت بوقلمون از نظر فنوتیپی و ژنوتیپی، نقشی کلیدی در بهبود برنامه‌های کنترلی و نظارتی خواهد داشت. منابع گوشت پرندگان از جمله بوقلمون، به دلیل تنوع و ارزش غذایی بالا، جایگاه قابل توجهی در سبد غذایی خانوارها دارند و بررسی اپیدمیولوژیک منظم و منطقه‌ای این منابع برای جلوگیری از انتقال عوامل بیماری‌زا به انسان ضروری است. (۸، ۱)

این مطالعه با هدف بررسی شیوع سالمونلا و مقاومت آنتی‌بیوتیکی آن به روش‌های فنوتیپی و ژنوتیپی در گوشت بوقلمون‌های عرضه‌شده در استان اصفهان طراحی شده است تا بتواند اطلاعات دقیق‌تری از الگوی مقاومت و میزان آلودگی در این گونه طیور ارائه دهد. نتایج این تحقیق می‌تواند در جهت بهینه‌سازی مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها و سیاست‌گذاری‌های بهداشتی کشور نقش مؤثری ایفا کند.

مواد و روش کار

در این مطالعه، از محیط‌های کشت اختصاصی شامل مک‌کانکی آگار (MacConkey Agar) و سالمونلا-شیگلا آگار (Salmonella Shigella Agar) ساخت شرکت Merck کشور آلمان استفاده شد. همچنین برای آماده‌سازی محیط‌ها و انجام مراحل شست‌وشو، از آب مقطر بهره گرفته شد.

از جمله تجهیزات و دستگاه‌های مورد استفاده در مراحل مختلف آزمایش می‌توان به انکوباتور، دستگاه ترموسایکلر PCR مدل Eppendorf ساخت آلمان و دستگاه ژل داکيومنتیشن ساخت شرکت Uvitech کشور انگلستان اشاره کرد.

شناخته شده سالمونلا مطابقت داشت. همچنین جهت تهیه محیط کشت مناسب برای استخراج DNA، از محیط Nutrient Broth استفاده گردید.

برای استخراج DNA ژنومی باکتری های جدا شده، روش Boiling به شرح زیر انجام شد: ایزوله های باکتریایی ابتدا به مدت ۲۴ ساعت در محیط Nutrient Broth در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد کشت داده و در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند. سپس ۵۰۰ میکرولیتر از محیط کشت در میکروتیوب های ۱/۵ میلی لیتری منتقل گردید. میکروتیوب ها به مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری جوشان قرار داده شدند. پس از لیز شدن باکتری ها، میکروتیوب ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت، ۳۰ میکرولیتر از محلول رویی به میکروتیوب جدید منتقل شدند.

برای شناسایی قطعی باکتری سالمونلا و تعیین تیپ های سرولوژیکی آن، واکنش های PCR طراحی و اجرا شد. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۵ میکرولیتر انجام گردید که شامل ۲۰ میکرولیتر از محلول PCR Buffer حاوی ۵۰۰ میکرومولار KCl و ۲۰۰ میکرومولار Tris-HC، ۱/۲۵ میکرولیتر dNTPs با غلظت ۱۰ میلی مول، ۱/۵ میکرولیتر MgCl₂ با غلظت ۵۰ میلی مول، ۱ میکرولیتر از هر پرایمر، ۰/۲ میکرولیتر آنزیم Taq DNA polymerase محصول شرکت (Fermentas) و ۵ میکرولیتر DNA استخراج شده بود. پرایمرهایی که ژن invA را مورد هدف قرار می دهند اختصاصی جنس سالمونلا و پرایمرهایی که ژن fliC و prot6E را مورد هدف قرار می دهند به ترتیب اختصاصی سرووارهای تایفی موریوم و انتریتیدیس می باشند.

این مطالعه در بازه زمانی اردیبهشت ۱۴۰۰ تا اردیبهشت ۱۴۰۱ انجام شد. در مجموع ۲۰۰ نمونه سوآب از قسمت پشتی گردن بوقلمون های کشتار شده، از فروشگاه های عرضه گوشت بوقلمون در شهر اصفهان جمع آوری شد. نمونه ها بلافاصله پس از برداشت، در محیط غنی سازی اختصاصی سالمونلا و در دمای ۴ درجه سانتی گراد نگهداری شدند تا برای مراحل بعدی آزمایش آماده شوند.

جهت جداسازی و شناسایی اولیه باکتری سالمونلا از نمونه های جمع آوری شده، سوآب ها ابتدا در لوله های حاوی محیط پپتون واتر تلقیح و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷-۳۸ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. سپس از محیط پیش غنی سازی، با سوآب تازه برداشت شده و به محیط حاوی سلنیت F منتقل گردید و انکوباسیون به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴۲ درجه سانتی گراد انجام شد. پس از غنی سازی، نمونه ها بر روی پلیت های حاوی MacConkey Agar کشت داده شدند و پلیت ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در انکوباتور قرار گرفتند. کلنی های مشکوک (شفاف، بدون تخمیر لاکتوز) توسط لوپ استریل برداشته شده و روی محیط سالمونلا-شیگلا آگار مجدداً کشت داده شدند. این محیط نیز به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شد. کلنی های مشکوک برای شناسایی نهایی به محیط های افتراقی منتقل شدند و آزمون های بیوشیمیایی لازم بر روی آن ها انجام گرفت. در محیط Lysine Iron Agar (LIA)، به دلیل دیکربوکسیلاسیون لیزین، رنگ ارغوانی ایجاد شد که نشان دهنده حضور باکتری سالمونلا است. در محیط Triple Sugar Iron Agar (TSI)، تخمیر گلوکز منجر به تغییر رنگ شیب به قرمز و ته لوله به زرد گردید و در برخی گونه ها، تولید H₂S باعث سیاه شدن محیط شد. در محیط Urea broth، عدم تخمیر اوره توسط سالمونلا موجب عدم تغییر رنگ محیط گردید. در آزمون های IMViC نیز الگوی بیوشیمیایی به صورت Indole منفی، MR مثبت، VP منفی و تست احبای سترات مثبت مشاهده شد که این نتایج با ویژگی های

مارکر DNA Ladder 100 bp جهت تعیین سائز باندها استفاده شد.

برای تعیین حساسیت فنوتیپی جدایه‌های *سالمونلا* نسبت به آنتی‌بیوتیک‌ها، از روش انتشار دیسک در محیط کشت روش کربی بوئر^۱ استفاده شد. در این روش، ابتدا جدایه‌ها در محیط مک‌کانکی آگار (MacConkey Agar) در دمای ۳۷ درجه سلسیوس به مدت ۲۴ ساعت کشت داده شدند. سپس ۴ تا ۵ پرگنه انتخابی از محیط مک‌کانکی آگار به درون لوله‌ای حاوی محیط کشت مایع TSB^۲ منتقل شده و به مدت ۳ ساعت در دمای ۳۷ درجه سلسیوس انکوبه شدند تا کدورتی معادل ۰/۵ مک‌فارلند حاصل شود.

سوسپانسیون به‌دست‌آمده با سواب استریل روی سطح محیط کشت مولر-هینتون آگار کشت خطی داده شد. سپس دیسک‌های حاوی آنتی‌بیوتیک (ساخت شرکت پاتن طب، ایران) شامل داروهای زیر بر روی محیط قرار گرفتند: انروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سولفانامید + تری متوپریم (سولتریم) (ترکیب ۷۵/۲۳ و ۲۵/۱ میکروگرم)، فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، اکسی‌تتراسایکلین (۳۰ میکروگرم)، لینکوسپکتین (ترکیب ۱۵ و ۲۰۰ میکروگرم)، داکسی‌سایکلین (۳۰ میکروگرم)، سیپروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، سفالکسین (۳۰ میکروگرم)، فسفومایسین (۲۰۰ میکروگرم)، سفوتاکسیم (۳۰ میکروگرم)، سفتریاکسون (۳۰ میکروگرم) و آموکسی‌کلاو (ترکیب ۲۰ و ۱۰ میکروگرم).

پس از قرار دادن دیسک‌ها، پلیت‌ها به مدت ۱۸ ساعت در دمای ۳۵ درجه سلسیوس انکوبه شدند. در پایان، قطر هاله عدم رشد باکتری اندازه‌گیری شده و نتایج به‌دست‌آمده طبق دستورالعمل‌های کمیته استانداردهای آزمایشگاهی کلینیکی (NCCLS) تفسیر شدند.

Primer Name	Primer sequence	Gene	Size of product (bp)
S139-F	GTGAAATTATCGCCACGTTTCGGGCAA	Inv A	284
S141-R	TCATCGCACCGTCAAAGGAACC		

جدول ۱: توالی پرایمرهای مورد استفاده جهت ردیابی سالمونلا

Primer Name	Primer sequence	Gene	Size of product (bp)
Fli15-F	CGGTGTTGCCAGGTTGGTAAT	fliC	559
Tym-R	ACTCTTGCTGGCGGTGCGACTT		
Prot6e-5-F	ATATCGTCGTTGCTGCTTCC	Prot6E	185
Prot6e-6-R	CATTGTTCCACCGTCACTTG		

جدول ۲: توالی پرایمرهای مورد استفاده برای شناسایی تیپ‌های سالمونلا

انجام واکنش در دستگاه ترموسایکلر مدل Eppendorf ساخت آلمان صورت گرفت و شرایط حرارتی آن به‌شرح زیر بود: آغازگر واکنش با دمای اولیه ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه، سپس ۳۵ سیکل شامل ۹۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه، ۵۶ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه برای ردیابی انتریتیدیس و ۶۰ درجه به مدت ۳۰ ثانیه برای ردیابی جنس سالمونلا و نیز گونه تیفی‌موریوم، ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و مرحله بسط نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه صورت می‌گیرد.

محصولات PCR بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ حاوی اتیدیوم بروماید الکتروفورز شدند. الکتروفورز در ولتاژ ۸۰ ولت و در بافر TBE انجام گرفت. مشاهده و تصویربرداری از باندها با دستگاه UV Doc (Uvitech, U.K) انجام شد. از

^۱ - Kirby-Bauer

^۲ - Trypticase Soy Broth

نتایج و تحلیل داده ها

در این مطالعه، از مجموع ۲۰۰ نمونه سواب گرفته شده از ناحیه پشت گردن بوقلمون های کشتار شده، تعداد ۱۶ نمونه (۸ درصد) از طریق آزمون های میکروبیولوژیک و بیوشیمیایی آلوده به باکتری *سالمونلا* تشخیص داده شد. رشد این ایزوله ها به صورت کلنی های بی رنگ و شفاف بر روی محیط های مک کانکی و *سالمونلا*-شیگلا آگار مشاهده شد.

در آزمون TSI، نتایج به صورت تخمیر گلوکز (زرد) و عدم تخمیر لاکتوز (قرمز) و در برخی موارد تولید سولفید هیدروژن (رنگ سیاه) مشاهده گردید.

همچنین در محیط LIA، رنگ ارغوانی ناشی از دکربوکسیلاسیون لیزین به عنوان یکی از نشانه های تشخیصی *سالمونلا* دیده شد. در آزمون های بیوشیمیایی، اوره آز منفی، تست MR مثبت، VP منفی و تست احیای سیترات مثبت بود که با الگوی بیوشیمیایی شناخته شده *سالمونلا* مطابقت داشت.

برای شناسایی مولکولی، تمام ۱۶ ایزوله در واکنش PCR توانستند باند ۲۸۴ جفت بازی مربوط به ژن *invA*، که ژن اختصاصی جنس *سالمونلا* است، را تکثیر کنند. به منظور تعیین تیپ، ژن های *fliC* و *prot6E* نیز تکثیر شدند. نتایج نشان داد که ۱۴ ایزوله حاوی ژن *fliC* متعلق به سرووار تیپی موریوم (شکل ۱-پ) و ۲ ایزوله حاوی ژن *prot6E* متعلق به سرووار انتریتیدیس هستند (شکل ۱-ت)

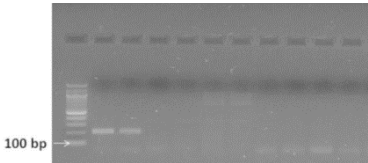
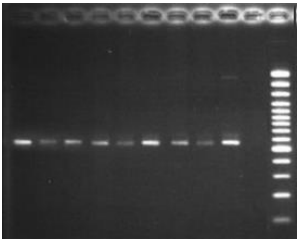
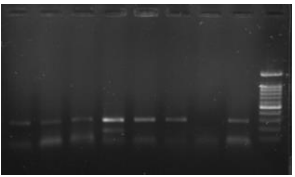
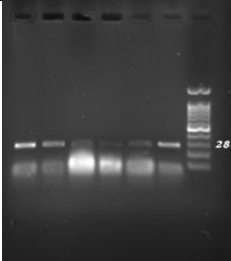
جهت شناسایی ژنوتیپی مقاومت آنتی بیوتیکی *سالمونلا*، ژن های مربوط به مقاومت نسبت به فلوروکینولون ها (*qnr*)، سولفانامیدها (*sul1*) و جنتامایسین (*aac-3-IV*) با روش PCR بررسی شدند. شرایط واکنش PCR شامل ۲۵ میکرولیتر حجم نهایی حاوی ۲.۵ میکرولیتر بافر ۱۰×، ۱.۵ میلی مول کلرید منیزیم، ۰.۲ میلی مول از هر dNTP، ۱۰۰ نانوگرم DNA الگو، ۰.۵ میکرومول از هر پرایمر، و یک واحد آنزیم Taq پلیمرز بود. برنامه حرارتی شامل واسرشت سازی اولیه در دمای ۹۵ درجه به مدت ۳ دقیقه، ۳۵ چرخه شامل واسرشت سازی در ۹۴ درجه برای ۶۰ ثانیه، همدماسازی در دمای اختصاصی هر ژن برای ۹۰ ثانیه، و گسترش در ۷۲ درجه برای ۶۰ ثانیه و مرحله نهایی گسترش در ۷۲ درجه به مدت ۱۰ دقیقه بود. نتایج PCR با ژل آگارز ۱.۵ درصد (۰/۳) گرم آگارز در ۲۵ میلی لیتر بافر TBE 1X حل شد، رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید و مستند سازی با دستگاه UV مورد بررسی قرار گرفتند.

اختصاصات پرایمرهای مورد استفاده برای ردیابی ژن های مقاومت آنتی بیوتیکی در جدول (۳) ارائه شده است.

آنتی بیوتیک	ژن مقاومت	توالی	اندازه محصول	دمای همسرش ت سازی	منبع
کینولون ها	<i>qnrA</i>	F:GGGTATGGATATTATTGATAAAG R:CTAATCCGGCAGCACTATTATA	۶۷۰	۵۰	۱۶
سولفانامیدها	<i>Sul 1</i>	F:TTCCGGCATTCTGAATCTCAC R:ATGATCTAACCCCTCGGTCTC	۸۲۲	۴۷	۳۵
جنتامایسین	<i>Aac(3)-IV</i>	F:CTTCAGGATGGCAAGTTGGT R:TCATCTCGTTCTCCGCTCAT	۲۸۶	۵۵	

جدول ۳: اختصاصات پرایمرهای مورد استفاده در شناسایی ژن های

مقاومت آنتی بیوتیکی

			
شکل ۱-ت: ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه ۱۸۵ جفت بازی ژن <i>Prot6E</i> سالمونلا انتریتیدیس (مربوط به ۲ نمونه مثبت سالمونلا انتریتیدیس و ۸ نمونه منفی)	شکل ۱-پ: ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه ۵۵۹ جفت بازی ژن <i>FliC</i> سالمونلا تیفی موریوم (مربوط به ۹ نمونه مثبت سالمونلا تیفی موریوم و یک نمونه کنترل منفی)	شکل ۱-ب: ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی ژن <i>invA</i> سالمونلا (مربوط به ۷ نمونه مثبت سالمونلا و یک نمونه کنترل منفی)	شکل ۱-الف: ژل الکتروفورز مربوط به تکثیر قطعه ۲۸۴ جفت بازی ژن <i>invA</i> سالمونلا (مربوط به ۶ نمونه مثبت سالمونلا)

جدول ۴: نتایج مربوط به شناسایی مولکولی ایزوله‌ها و تعیین تیپ سرولوژیکی آن‌ها

آنتی بیوتیک	مقاوم	نیمه مقاوم	حساس
انزوفلوکساسین	۷	۳	۶
سوزلریم	۸	۴	۴
فلورفنیکل	۱۰	۴	۲
داکسی سیکلین	۱۲	۳	۱
جنتامایسین	۱۶	۰	۰
اموکسی کلاو	۱۵	۱	۰
سیپروفلوکساسین	۱۱	۲	۳
سفالکسین	۱۴	۱	۱
سفوتاکسیم	۱۵	۱	۰
سفتریاکسون	۱۵	۱	۰
لینکواسپکین	۱۰	۳	۳
فسفومایسین	۱۴	۱	۱
اکسی تتراسایکلین	۴	۴	۸

برای ارزیابی فنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی ایزوله‌های سالمونلا با استفاده از روش انتشار دیسک کربی-باوئر نشان داد که بیشترین میزان مقاومت مربوط به اکسی‌تتراسایکلین (۵۰٪) و کمترین میزان مقاومت مربوط به جنتامایسین، آموکسی‌کلاو، سفوتاکسیم و سفتریاکسون بود که هیچگونه مقاومتی در برابر آن‌ها مشاهده نشد. همچنین، ۶/۲۵ درصد از ایزوله‌ها به ۹ نوع آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند، و بیشترین حساسیت نسبت به جنتامایسین (۱۰۰٪) گزارش شد.

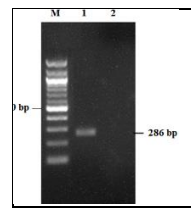
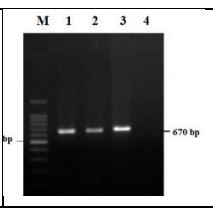
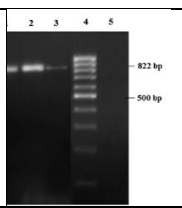
جدول ۵: نتایج مقاومت، حساسیت و نیمه‌مقاومت ایزوله‌ها به هر آنتی‌بیوتیک را به تفصیل نشان می‌دهد

ویژگی‌های کلنی‌ها در محیط‌های کشت اختصاصی نظیر مک‌کانکی و SS، به صورت پرگنه‌های بیرنگ و شفاف ظاهر شده و نتایج آزمایش‌های بیوشیمیایی و میکروبیولوژیک نیز تطابق کامل با خصوصیات شناخته‌شده سالمونلا نشان دادند. همچنین نتایج تست PCR بیانگر حضور قطعه ۲۸۴ جفت بازی مربوط به ژن *invA* در تمامی ایزوله‌ها بود، که وجود سالمونلا را به‌طور قطعی تأیید می‌کند. بررسی ژن‌های اختصاصی *FlicC* و *Prot6E* نیز نشان داد که ۱۴ ایزوله واجد ژن تیغی‌موریوم و ۲ ایزوله مربوط به سرووار انترتیدیس بودند.

میزان آلودگی مشاهده‌شده در این تحقیق با نتایج برخی مطالعات پیشین در ایران مشابهت دارد. برای مثال، جهان‌تیغ و همکاران (۲۰۱۵) میزان آلودگی ۱۴/۸٪ را در بوقلمون‌های استان سیستان و بلوچستان گزارش کردند، در حالی‌که رحیمی و همکاران (۲۰۱۱) این میزان را در اصفهان ۹/۷٪ اعلام نمودند (۶). همچنین روشن مرام (۲۰۲۱) در مطالعه‌ای بر روی محتویات گوارشی بوقلمون‌ها موفق به جداسازی ۷ سویه سالمونلا از میان ۴۵ نمونه شد (۵). در سایر مطالعات صورت‌گرفته بر روی طیور، میزان آلودگی در مرغ‌های گوشتی نیز بالا گزارش شده است؛ چنان‌که عزیزپور (۲۰۱۸) بیش از ۱۱٪ آلودگی را در اردبیل اعلام کرده است (۱) و زاهدی و همکاران (۱۳۹۶) این میزان را در شهرکرد بیش از ۳۰٪ گزارش نموده‌اند (۷).

در خصوص مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نتایج این مطالعه نشان داد که بیشترین مقاومت نسبت به اکسی‌تتراسایکلین (۵۰٪) و بیشترین حساسیت نسبت به جنتامایسین (۱۰۰٪) وجود دارد. عدم مقاومت نسبت به داروهایی مانند جنتامایسین، آموکسی‌کلاوانیک‌اسید، سفوتاکسیم و سفتریاکسون قابل توجه است. مقاومت بالای مشاهده‌شده نسبت به انروفلوکساسین می‌تواند ناشی از مصرف گسترده این دارو در فارم‌های طیور باشد؛ موضوعی که در مطالعات سایر کشورها نیز مطرح شده است (۹). این یافته‌ها با نتایج سایر تحقیقات داخلی نیز هم‌خوانی دارد؛ از جمله مطالعه جهان‌تیغ و

در ارزیابی ژنوتیپی مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نتایج حاصل از واکنش PCR نشان دادند که از میان ۱۶ ایزوله بررسی‌شده، ۳ سویه (۱۸.۷۵٪) حامل ژن *Sul1* (قطعه ۸۲۲ جفت بازی، شکل ۲-الف) و ۵ سویه (۳۱.۲۵٪) حامل ژن *qnrA* (قطعه ۶۷۰ جفت بازی، شکل ۲-ب) بودند. هیچ‌کدام از ایزوله‌ها موفق به تکثیر ژن *aac(3)-IV* (قطعه ۲۸۶ جفت بازی) نشدند (شکل ۲-پ).

		
شکل ۲-الف: الکتروفورز محصول PCR مربوط به تکثیر ژن <i>Sul1</i> (ستون ۱ تا ۳: نمونه‌های مثبت ۸۲۲ جفت بازی، ستون ۴: مارکر، ستون ۵: کنترل منفی).	شکل ۲-ب: الکتروفورز محصول PCR مربوط به تکثیر ژن <i>qnrA</i> (ستون ۱ تا ۳: نمونه‌های مثبت ۶۷۰ جفت بازی، ستون ۴: کنترل منفی).	شکل ۲-پ: الکتروفورز محصول PCR مربوط به تکثیر ژن <i>aac(3)-IV</i> (ستون ۱: کنترل مثبت ۲۸۶ جفت بازی، ستون ۲: کنترل منفی).

جدول ۶: نتایج مربوط به شناسایی ژن‌های مقاومت

آنتی‌بیوتیکی در ایزوله‌ها با استفاده از واکنش PCR

همچنین مشاهده شد که تمامی سویه‌های دارای ژن *Sul1* در آزمون فنوتیپی نسبت به سولفانامید+تری‌متوپریم مقاوم بودند و همین وضعیت برای ژن *qnrA* در برابر انروفلوکساسین نیز صادق بود. از مجموع ۴ سویه با فنوتیپ مقاوم به سولفانامید، ۳ سویه (۷۵٪) حاوی ژن *Sul1* بودند. همچنین، از میان ۶ سویه مقاوم به انروفلوکساسین، ۵ سویه (۸۳.۳٪) حامل ژن *qnrA* بودند.

بحث

در مطالعه حاضر، از مجموع ۲۰۰ نمونه سوآب جمع‌آوری‌شده از پشت گردن بوقلمون‌های کشتار شده، ۱۶ نمونه (۸٪) آلوده به باکتری سالمونلا تشخیص داده شد.

فلوروکینولون‌ها به دلیل اثربخشی بالا، مصرف گسترده‌ای در دامپزشکی دارند و مکانیسم‌های متعددی برای ایجاد مقاومت نسبت به آن‌ها مطرح شده است، از جمله جهش در ژن‌های کدکننده آنزیم‌های هدف و یا اکتساب پلاسمیدهای حاوی ژن *qnr* یا پمپ افلاکس (۲). نتایج تحقیق عبدی و همکاران (۱۳۹۷) نیز حضور ژن‌های *qnrB* و *qnrS* را در سالمونلا انتریتیدیس جداشده از مواد غذایی با شیوع بالا گزارش کردند (۱۴).

مطالعات متعددی در زمینه شناسایی الگوهای مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سالمونلا در ایران انجام شده است. به عنوان مثال، نقی‌زاده و مرادلی (۱۳۹۶) از بین ۶۰ ایزوله سالمونلا، وجود ژن‌های تترا (*tetA*، *tetB*، *tetC*) را در ۶۰٪ از ایزوله‌های مقاوم گزارش کردند (۱۵). همچنین، ارجمند اصل و امینی (۱۳۹۵) ژن‌های ویروالانس متعددی مانند *sopB*، *slyA*، *Phop/Q* و *stn* را در سالمونلا تیفی‌موریوم بررسی کرده و وجود آن‌ها را زنگ خطری برای انتقال افقی جزایر پاتوژنیستی بین سرووارهای مختلف اعلام نمودند (۱۶). مطالعه زینتی‌زاده و همکاران (۱۳۹۸) نیز نشان‌دهنده شیوع بالای ژن‌های *slyA*، *stn* و *Phop/Q* در سویه‌های بالینی بود (۱۷).

در مجموع، یافته‌های این تحقیق حاکی از شیوع قابل توجه سالمونلا در بوقلمون‌های کشتار شده و همچنین وجود مقاومت آنتی‌بیوتیکی گسترده، به‌ویژه نسبت به داروهای پرمصرف در صنعت طیور است. حضور ژن‌های مقاومت مانند *sul1* و *qnrA* می‌تواند به‌عنوان شاخصی برای خطر انتقال مقاومت دارویی به انسان تلقی شود. این موضوع اهمیت پایش مستمر و کنترل مصرف آنتی‌بیوتیک‌ها را در صنعت دامپزشکی بیش از پیش روشن می‌سازد.

نتیجه‌گیری نهایی

به‌طور کلی، این مطالعه نشان داد که مقاومت آنتی‌بیوتیکی در سویه‌های سالمونلا جداشده از گوشت بوقلمون بسیار گسترده است و مقاومت‌های بالایی نسبت به داروهای رایج در

همکاران (۲۰۱۵) که بیشترین مقاومت را نسبت به سفالکسین گزارش کرد (۴)، و تحقیق روشن‌مرام (۲۰۲۱) که کلاستین را مقاوم‌ترین دارو معرفی کرد (۵).

با بررسی ژن‌های مقاومت آنتی‌بیوتیکی، مشخص شد که ۱۸.۷۵٪ ایزوله‌ها حامل ژن *sul1* و ۳۱.۲۵٪ ایزوله‌ها حامل ژن *qnrA* بودند. هیچ‌کدام از ایزوله‌ها حامل ژن *aac(3)-IV* نبودند. تمامی سویه‌های دارای ژن *sul1* نسبت به سولفونامید و تری‌متوپریم، و تمامی سویه‌های حامل ژن *qnrA* نسبت به انروفلوکساسین مقاومت نشان دادند. با این حال، بین وجود ژن و بروز مقاومت فنوتیپی در همه موارد تطابق کامل مشاهده نشد. این یافته نشان‌دهنده آن است که مقاومت آنتی‌بیوتیکی تنها وابسته به وجود ژن نیست، بلکه بیان ژن و سایر عوامل نیز نقش دارند.

در مطالعات پیشین نیز نقش ژن‌های *sul1*، *sul2* و *sul3* در ایجاد مقاومت به سولفونامیدها در باکتری‌های گرم منفی نظیر سالمونلا و اشریشیا کلی مطرح شده است (۱۰). از سوی دیگر، ژن‌های *qnr* نیز نقش مهمی در ایجاد مقاومت به فلوروکینولون‌ها دارند و با محافظت از آنزیم‌های هدف دارو مانند *DNA gyrase* و *topo IV* باعث خنثی شدن اثر دارو می‌شوند (۱۱، ۱۲). ژن *sul1* که بخشی از اینتگرون کلاس I محسوب می‌شود، به‌عنوان رایج‌ترین ژن مقاومت در سالمونلا مطرح است (۱۳).

مطالعه حاضر نشان داد که گرچه وجود ژن *sul1* نقش مهمی در بروز مقاومت دارد، اما در برخی ایزوله‌های مقاوم، این ژن حضور نداشت؛ که احتمال نقش داشتن ژن‌های دیگری مانند *sul2* و *sul3* را مطرح می‌کند. همچنین ردیابی همزمان ژن *qnr* در اکثر ایزوله‌های مقاوم به کینولون‌ها، مؤید نقش تعیین‌کننده این ژن در مقاومت دارویی است. با این حال، بررسی فنوتیپی مقاومت همچنان از حساسیت بالاتری نسبت به ردیابی ژنوتیپی برخوردار است و برای مطالعات اپیدمیولوژیک پیشنهاد می‌شود.

صنعت پرورش طیور وجود دارد. این مقاومت بالا دو نگرانی عمده ایجاد می‌کند: اول، کاهش کارایی آنتی‌بیوتیک‌ها در کنترل بیماری‌های عفونی طیور که می‌تواند منجر به تلفات و افزایش هزینه‌های درمانی شود؛ دوم، انتقال ژن‌های مقاومت به پاتوژن‌های انسانی که درمان بیماری‌های عفونی در انسان را پیچیده کرده و تهدیدی برای بهداشت عمومی به‌شمار می‌رود.

بنابراین، توصیه می‌شود در موارد ابتلا به بیماری‌های عفونی، حتماً تست حساسیت آنتی‌بیوتیکی انجام شده و داروی مناسب بر اساس آن انتخاب شود. همچنین، رعایت دوز، مدت مصرف و اجتناب از مصرف داروهای انسانی در صنعت طیور از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است.

منابع

- ۱- ارجمند اصل م، امینی ک. شناسایی مولکولی ژن های ویروالانس در سویه های بالینی سالمونلا تیفی موریوم به روش Multiplex-PCR و تعیین مقاومت آنتی بیوتیکی آنها . دوماه نامه علمی - پژوهشی فیض. ۱۳۹۵؛ ۲۰ (۴): ۳۸۲-۳۷۶.
- ۲- اکبری مهر جعفر (۱۳۸۹). تعیین گروه های سرمی سالمونلا های جدا شده از طیور و شناسایی ژن hila به روش PCR. مجله علمی پژوهشی زیست فناوری میکروبی دانشگاه آزاد اسلامی، دوره دوم، شماره ششم، صفحه ۳۳-۳۸.
- ۳- حسنی طباطبایی عبدالمحمد ، فیروزی، رویا.(۱۳۸۰). بیماری های باکتریایی دام. انتشارات دانشگاه تهران، صفحه ۵۰۸.
- ۴- دادرس حبیب ا...، اساسی کرامت و عالی مهر منوچهر(۱۳۸۳). راهنمای بیماری های پرندگان. انتشارات دانشگاه شیراز، صفحات ۱۸۳-۱۸۹.
- ۵- زاهدی مهشید، رحیمی ابراهیم، زاهدی مریم، ممتاز حسن، شجاعی حسن. بررسی شیوع آلودگی سالمونلا اینترتیدیس و سالمونلا تیفی موریوم در گوشت های عرضه شده در شهرکرد سال ۱۳۹۳. مجله دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد. ۱۳۹۶؛ ۱۹ (۲): ۹۷-۸۸.
- ۶- زینتی زاده م، خیرخواه ب، رنجبر زیدآبادی ح، معصومعلی نژاد ز، قاسمی ه. شناسایی ژن های سالمونلا تیفی موریوم و مقاومت آنتی بیوتیکی آن در نمونه های بالینی. مجله پژوهش سلامت. ۱۳۹۸؛ ۵ (۱): ۷-۱.
- ۷- عبدی ه، امینی ک، طباطبایی بفرویی ا. ۱۳۹۷. بررسی وجود ژنهای مقاومت به کینولون در سویه های سالمونلا انتریتیدیس جدا شده از نمونه های غذایی به روش Multiplex-PCR. دانشگاه علوم پزشکی سبزوار. ۲۵، ۲: ۱-۶.
- ۸- نقی زاده س، مرادلی غ. تعیین الگوی مقاومت آنتی بیوتیکی سویه های سالمونلا انتریتیدیس جداسازی شده از منابع غذایی و شناسایی ژنهای مقاومت به تتراسایکلین (tetA/B/C). مجله میکروب شناسی پزشکی ایران. ۱۳۹۶؛ ۱۱ (۴): ۶۴-۶۹.
- 9- Cattoir V, Nordmann P. (2009). Plasmid mediated quinolone resistance in gram negative bacterial species: an update. Curr Med Chem. 16(8): 1028-46. doi: 10.2174/092986709787581879.
- 10-Hooper, D.C., Jacoby, G.A. (2015). Mechanisms of drug resistance: quinolone resistance. Annals of the New York Academy of Sciences, 1354(1), 12.

- 11-Jahantigh, M., Jafari, S.M., Rashki, A. and Salari, S. (2015) Prevalence and Antibiotic Resistance of *Salmonella* spp. in Turkey. *Open Journal of Medical Microbiology*, 5, 113-117
- 12-Miles, T; McLaughlin, W and Brown, P (2006). Antimicrobial resistance of *Escherichia coli* isolates from broiler chickens and humans. *BMC Vet. Res.*, 2: 2-7. DOI: 10.1186/1746-6148-2-7.
- 13-Rahimi, E., Amiri, M., Kazemeini, H. and Elbagi, M. 2010. prevalence and antimicrobial resistance of salmonella isolated from retail raw turkey, ostrich, and partridge meat in iran. *Bulgarian Journal of Veterinary Medicine*.13,1: 23.
- 14-Roshanmaram Kondori, P., Parvandar Asadollahi, K., Bozorgmehri Fard, M., Torabi, M., Mirzazadeh, S. (2021). Study of salmonella infection in broiler turkey carcasses in some provinces in Iran; molecular detection and antimicrobial susceptibility pattern. *International Journal of Molecular and Clinical Microbiology*, 11(1), 1423-1430.
- 15- Soltan Dallal MM, Taremi M, Modarressi Sh, Zolfagharian K, Zolfagharian K, Zali MR. Determining the Prevalence of *Salmonella* serotypes Obtained from Meat & Chicken Samples and Their Antibiotic Resistance Pattern in Tehran. *Pajoohande*. 2007; 12 (3) :245-252..
- 16-Taddele, Menghistu, H., Rathore, R., Dhama, K., and Kumar Agarwal, R.(2011)Isolation, Identification and Polymerase Chain Reaction (PCR) Detection of *Salmonella* Species from Field Materials of Poultry Origin. *International Journal of Microbiology Research*, 2: 135-142.
- 17-Tran, J. H., Jacoby, G. A., & Hooper, D. C. (2005). Interaction of the plasmid-encoded quinolone resistance protein Qnr with *Escherichia coli* DNA gyrase. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 49(1), 118-125.

Phenotypic and Genotypic Evaluation of Antibiotic Resistance in *Salmonella* Strains Isolated from Turkey Meat in Isfahan Province

Seyede Omolbanin Ghasemian^{1*}, Majid Gholami Ahangaran², Farhad Lajam Ourak², Zahra Sadeghian³

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Behbahan Branch, Behbahan, Iran
2. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Shahrekord Branch, Shahrekord, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine graduate, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
4. Doctor of Veterinary Medicine student, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

***Corresponding author: Ghasemian1249yahoo.com**

Abstract

This study was conducted to identify and determine the antibiotic resistance patterns of *Salmonella* in the meat of slaughtered turkeys. Out of 200 swab samples collected from the back of the neck of turkeys, 16 samples (8%) were identified as *Salmonella*-positive. Initial identification was performed using microbiological and biochemical methods, and final confirmation was carried out by PCR, in which all isolates produced a 284 bp band corresponding to the *invA* gene. Additionally, 14 isolates carried the *FliC* gene related to *S. Typhimurium*, and 2 isolates carried the *Prot6E* gene associated with *S. Enteritidis*. The highest antibiotic resistance was observed against oxytetracycline (50%), while the highest sensitivity was recorded against gentamicin (100%). PCR results revealed that 3 isolates (18.75%) harbored the *sul1* gene and 5 isolates (31.25%) carried the *qnrA* gene; none of the isolates contained the *aac(3)-IV* gene. All isolates carrying *sul1* and *qnrA* were phenotypically resistant to sulfonamide/trimethoprim and enrofloxacin, respectively. These findings indicate the presence of antibiotic-resistant *Salmonella* strains in turkey meat distributed in Isfahan, which may pose a potential threat to public health.

Keywords: *Salmonella*, Antibiotic resistance, Turkey meat, PCR, Isfahan

بررسی مقایسه ای شیوع آلودگی تک یاخته ای *انتاموبا هیستولیتیکا* در سگ های خانگی

بهنام پدرام^{۱*}، رضا نقی ها نجف آبادی^۲، محمد محبی^۳، زهرا صادقیان^۴، فاطمه همایون^۴

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

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

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

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

*نویسنده مسئول: b1peram@yahoo.com

چکیده

با افزایش تعامل انسان و حیوانات خانگی، به ویژه سگ ها، بررسی بیماری های مشترک بین آن ها اهمیت روزافزونی یافته است. از جمله این بیماری ها، آلودگی به *Entamoeba histolytica* به عنوان یکی از عوامل مهم عفونت های تک یاخته ای، مورد توجه ویژه قرار گرفته است. مطالعه حاضر با هدف ارزیابی و مقایسه میزان شیوع این آلودگی در سگ های خانگی، با بهره گیری از دو روش گسترش مستقیم و واکنش زنجیره ای پلیمرز (PCR) انجام شد. در این تحقیق، ۲۵ نمونه مدفوع از سگ های خانگی با سنین و جنسیت متفاوت جمع آوری و از نظر حضور انگل مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج حاصل از بررسی میکروسکوپی نشان داد که ۷ نمونه مشکوک به آلودگی بودند، اما آزمون PCR اختلاف معناداری میان نمونه های مشکوک و سایر نمونه ها گزارش نکرد. یافته ها حاکی از آن است که شیوع آلودگی به *E. histolytica* در جمعیت مورد مطالعه قابل توجه نبوده و روش PCR، به عنوان روشی دقیق تر و اختصاصی تر، می تواند در تشخیص مطمئن تر این انگل مؤثر واقع شود. نتایج این پژوهش می تواند در بهبود راهکارهای پیشگیری، تشخیص و کنترل بیماری های زئونوز مفید باشد.

واژه های کلیدی: *Entamoeba histolytica*، سگ خانگی، انگل، آلودگی تک یاخته ای، PCR

مقدمه

حیوانات خانگی نقش مهمی در زندگی و سلامت انسان ایفا می‌کنند و بهبود وضعیت سلامتی آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است (۱). تعامل میان انسان و حیوان، می‌تواند اثرات مثبتی بر سلامت و رفاه انسان‌ها داشته باشد (۲). انسان‌ها مدت‌هاست متوجه شده‌اند که سگ‌ها می‌توانند از طرق مختلف برای دستیابی به اهداف مهم مفید باشند. این از اولین تعاملات شامل اهداف مشترک اجتناب از شکارچیان و به دست آوردن غذا، تا گنجاندن اخیر سگ‌ها در زمینه‌های مختلف از جمله محیط‌های درمانی و آموزشی مشهود است (۳). سگ‌ها با قدمتی حدود ۲۰ میلیون سال، توانسته‌اند با زندگی انسان‌ها در سراسر جهان سازگار شوند و امروزه علاوه بر نقش‌های تفریحی، جایگاه مهمی در ارتقای سلامت جسمی، روانی و اجتماعی انسان‌ها، به‌ویژه کودکان، دارند (۴،۵). ویژگی‌های رفتاری چون اطاعت‌پذیری و توانایی درک روان‌شناسی انسان، موجب پذیرش گسترده‌تر سگ‌ها به‌عنوان حیوان خانگی شده است (۶،۷). در بسیاری از کشورها، جدای از اهداف تفریحی یا همراهی، از سگ‌ها برای خدمت در بخش دفاع کشور نیز استفاده می‌شود، جایی که آنها نقشی محوری برای کشف جنایات و جنایتکاران دارند (۸).

با وجود شواهد گسترده درباره فواید سگ‌ها برای انسان، کمتر به تأثیر وضعیت سلامت سگ‌ها بر زندگی انسان پرداخته شده است. این در حالی است که اهمیت سلامت

حیوانات روزبه‌روز بیش‌تر مورد توجه قرار می‌گیرد، چرا که ارتباط تنگاتنگی میان سلامت حیوانات و ارتقای سلامت عمومی انسان‌ها وجود دارد (۹). سگ‌ها یکی از رایج‌ترین حیوانات خانگی هستند که علاوه بر نقش عاطفی، در اپیدمیولوژی بیماری‌های مشترک انسان و حیوان نقش قابل توجهی ایفا می‌کنند (۱۰، ۱۱). بیماری‌های تک‌یاخته‌ای انگلی نشان‌دهنده طیف قابل توجهی از بیماری‌های عفونی است که همه گونه‌های جانوری از جمله انسان را تهدید می‌کند (۱۲). در این میان، بیماری‌های تک‌یاخته‌ای روده‌ای از مشکلات مهم در سگ‌ها محسوب می‌شوند که به‌دلیل روش‌های متعدد انتقال از طریق آب و غذا، از شیوع بالایی برخوردارند (۱۳).

یکی از مهم‌ترین این بیماری‌ها آمیبیازیس است که ناشی از *Entamoeba histolytica* بوده و می‌تواند از عفونت بدون علامت تا بیماری‌های تهاجمی چون کولیت آمیبی و آبسه کبدی متغیر باشد (۱۴). مطالعات مختلف، وجود گونه‌های بیماری‌زای آنتاموبا را در سگ‌ها تأیید کرده‌اند. به‌عنوان نمونه، محمد و همکاران (۲۰۲۳) در عراق آلودگی میکروسکوپی و مولکولی *E. histolytica* را در ۴۲.۸٪ از سگ‌های خانگی گزارش کردند، که ۵۰٪ از آن‌ها با آزمون PCR نیز مثبت بودند. همچنین مشخص شد آلودگی در سگ‌های نر و در ماه‌های خاصی از سال شیوع بالاتری دارد. عباس و همکاران نیز در مصر، شیوع ۹/۸٪ این انگل را در بین انگل‌های روده‌ای مشترک با انسان در سگ‌ها گزارش کردند. مطالعات مشابه در تایوان، چین، مالزی و ایران نیز شواهدی

مواد و روش کار	از حضور و شیوع <i>Entamoeba</i> در سگ‌ها ارائه کرده‌اند و بر
در این مطالعه توصیفی مقطعی، با هدف بررسی آلودگی به انگل <i>Entamoeba histolytica</i> در سگ‌های خانگی، مجموعاً ۲۵ نمونه مدفوع (هر کدام به وزن ۱۰ تا ۱۵ گرم) از سگ‌های خانگی در سنین مختلف و از هر دو جنس، طی بازه زمانی مهر ۱۴۰۲ تا بهمن ۱۴۰۲ جمع‌آوری شد. نمونه‌گیری به‌صورت هفتگی و از مناطق مختلف استان خوزستان انجام گردید. هدف از این نمونه‌گیری، تعیین شیوع آلودگی به <i>Entamoeba histolytica</i> با استفاده از روش‌های میکروسکوپی اسمیر مستقیم و روش‌های مولکولی بود.	لزوم بررسی این انگل از منظر زئونوز تأکید دارند (۲۴-۱۵) مطالعات نشان داده‌اند که سگ‌ها ممکن است مخزن یا ناقل مکانیکی آمیبیاز انسانی باشند. همچنین اطلاعاتی درباره شیوع، عوامل خطر بالقوه و ارتباط مشترک عفونت آنتموبا بین انسان و حیوان ارائه شد و بر لزوم مطالعات بیشتر برای درک انتقال و اهمیت بهداشتی این انگل تأکید گردید (۲۵). افتراق <i>E. histolytica</i> پاتوژن از گونه غیرپاتوژن <i>E. dispar</i> به‌علت شباهت‌های مورفولوژیکی، نیازمند روش‌های پیشرفته تشخیصی همچون الایزا با آنتی‌بادی‌های مونوکلونال یا PCR است. (۲۶، ۲۵، ۱۴، ۱۳)
برای بررسی انگل‌شناسی، از روش فلوتاسیون استفاده شد. این روش بر اساس تفاوت در وزن مخصوص تخم‌های انگل است. محلول‌های شناورسازی شامل سولفات روی، NaCl و Sheather's می باشد. از روش شناورسازی قندی شیت (Sheather's sugar flotation) جهت تغلیظ نمونه‌ها به‌منظور تشخیص اووسیست‌ها استفاده شد. محلول قندی با وزن مخصوص میانگین ۱.۲۰ تهیه گردید. حدود ۱ تا ۲ میلی لیتر از سوسپانسیون مدفوع که قبلاً از صافی گاز دو لایه عبور داده شده بود تا موکوس و ذرات اضافی جدا شوند، به لوله سانتریفیوژ منتقل و تا سه چهارم حجم آن با محلول قندی پر شد. پس از مخلوط کردن کامل، لوله به مدت ۳ دقیقه در ۵۰۰g سانتریفیوژ گردید. اووسیست‌های جمع‌آوری شده از لایه سطحی، دو تا سه مرتبه با سرم فیزیولوژی شسته شده و	PCR به‌عنوان یک روش حساس و دقیق، امکان شناسایی قطعات خاص DNA را فراهم ساخته و در تشخیص عفونت‌های انگلی و مطالعه اپیدمیولوژی بیماری‌های زئونوز کاربرد گسترده‌ای دارد (۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۰). با توجه به اهمیت بیماری‌های مشترک انسان و حیوان و نقش سگ‌ها در انتقال عوامل زئونوز، مطالعه حاضر با هدف مقایسه شیوع آلودگی <i>Entamoeba histolytica</i> در سگ‌های خانگی با دو روش گسترش مستقیم و PCR طراحی گردیده است. با توجه به اهمیت بیماری‌های مشترک انسان و حیوان و نقش سگ‌ها در انتقال عوامل زئونوز، مطالعه حاضر با هدف مقایسه شیوع آلودگی آنتموبا هیستولیتیکا در سگ‌های خانگی با دو روش گسترش مستقیم و PCR طراحی گردیده است.

تمیز انتقال داده شد. هم حجم فاز شفاف جدا شده روی لوله محلول کلروفرم- ایزوآمیل الکل (۲۴:۱) اضافه و لوله به آرامی سر و ته شده، سپس در ۱۰۰۰g به مدت یک دقیقه سانتریفیوژ (جهت حذف مولکولهای فنل) گردید. مایع رویی به لوله تمیزی انتقال داده شده و سپس ۵۰ میکرولیتر سدیم استات ۳ مولار به همراه ۱۰۰۰ میکرولیتر اتانول رسد به آن اضافه شد. اتانول باعث آگیری نمونه و رسوب DNA میگردد. لوله حاوی DNA به مدت ۲۰ دقیقه در فریزر-۷۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. سپس به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۵۰۰g در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ گردید. محلول رویی را دور ریخته، سپس با اتانول ۷۰ درصد به مدت چند ثانیه با سرعت بالا سانتریفیوژ شد تا رسوب شستشو داده شود. اتانول بطور کامل خالی شده و درب لوله ۵-۱۰ دقیقه باز گذاشته شد تا اتانول تبخیر گردد. سپس رسوب خشک شده در ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر آب مقطر به خوبی حل گردید و محلول حاصل تا هنگام استفاده جهت PCR در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد.

برای جداسازی و تأیید انگل‌های *Entamoeba histolytica* گونه‌های آن، واکنش‌های PCR با پرایمرهای اختصاصی انجام شد. پرایمرها به صورت لیوفیلیزه از شرکت MacroGen (کره) تهیه و در آب با خلوص بالا حل شدند تا غلظت نهایی ۱۰۰ پیکومول/میکرولیتر به عنوان آغازگر حاصل شود. این پرایمرها تا زمان استفاده، در غلظت

سپس با میکروسکوپ نوری در بزرگنمایی‌های ۱۰×، ۴۰× و ۱۰۰× مورد بررسی قرار گرفتند. نمونه‌های مثبت از نظر وجود اووسیست، در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد برای آنالیز مولکولی بعدی نگهداری شدند.

استخراج DNA ژنومی از اووسیست‌های تغلیظ و شسته شده با استفاده از روش فنل-کلروفرم-ایزوآمیل الکل بر اساس دستور بوم و همکاران^۱ انجام شد. حدود ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه تغلیظ شده به داخل میکروتیوب ۱.۵ میلی‌لیتری منتقل و به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. پس از دور ریختن مایع رویی، ۲۵۰ میکرولیتر از بافر لیز کننده (lysis buffer) افزوده و به خوبی مخلوط شد. سپس با ۱۴۰۰g به مدت ۳ دقیقه سانتریفیوژ و مایع رویی دور ریخته شد. ۵۰۰ میکرولیتر از بافر لیز کننده اضافه و کاملاً با رسوب مخلوط شد. سپس سوسپانسیون ۱۰ مرتبه در نیتروژن مایع منجمد و در بن ماری ۶۰ درجه سانتیگراد (جهت سست شدن دیواره سلول) ذوب گردید. سپس ۲۰ میکرولیتر پروتئیناز K از محلول ذخیره (۱ml/mg) به لوله اضافه شده و کاملاً مخلوط و به مدت یک شب در دمای ۵۵ درجه سانتیگراد (جهت هضم پروتئینها و اتصالات بین سلولی) انکوبه شد. پس از آن ۵۰۰ میکرولیتر محلول فنل-کلروفرم-ایزوآمیل الکل (۲۵:۲۴:۱) به لوله اضافه کرده و لوله به آرامی یک دقیقه سر و ته شد. سپس به مدت یک دقیقه در ۱۰۰۰g سانتریفیوژ شده، آنگاه مایع رویی برداشته و به لوله

محصول PCR با الکتروفورز در ژل آگارز ۱٪ و رنگ آمیزی با اتیدیوم بروماید بررسی شد و نتایج زیر نور UV مشاهده گردید.

تجهیزات و مواد مصرفی کلیدی مورد استفاده در این مطالعه شامل ظروف جمع آوری مدفوع، محلول شناورسازی قندی شتر، میکروسکوپ نوری، نرمال سالین، پیپت پاستور، نیتروژن مایع، اتانول، سدیم استات، معرف های Master Mix، پرایمرهای Forward و Reverse، ترموسایکلر، سانتیفریوژ، سیستم PCR ریل تایم، هیتر بلاک، تانک الکتروفورز، منبع تغذیه برق، میکروپیپت و دستگاه ترانس ایلومیناتور بود.

تمام تحلیل های آماری با استفاده از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه (One-way ANOVA) و پس از آن آزمون تعقیبی توکی (Tukey's post hoc test) انجام شد. داده ها به صورت میانگین $\pm$ خطای استاندارد میانگین (SEM) ارائه گردید. مقادیر $p < 0.05$ از نظر آماری معنادار تلقی شدند. ترسیم نمودارها با نرم افزار Microsoft Excel انجام شد.

۰.۵ پیکومول در ۲۰ میکرولیتر واکنش PCR در دمای ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

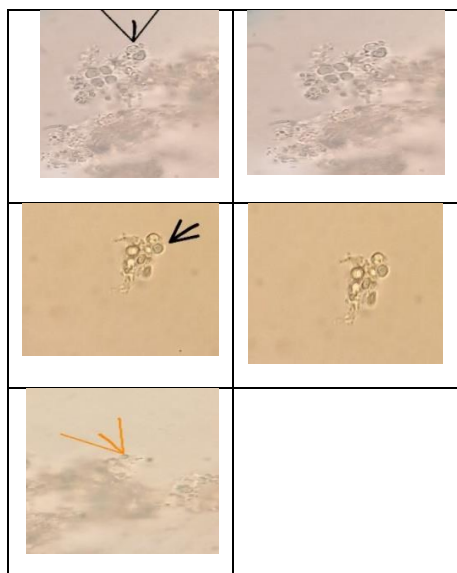
مستر میکس توسط AccuPower® PCR PreMix تهیه شد. محتویات لوله پیش مخلوط شامل ۱ واحد آنزیم Taq پلیمرز، ۲۵۰ میکرومول dNTPs، ۱۰ میلی مول Tris-HCl، ۳۰ میلی مول KCl، ۱.۵ میلی مول $MgCl_2$ ، پایدارکننده و رنگ بود. واکنش PCR در حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر شامل ۲ میکرولیتر DNA استخراج شده، ۱۰ میکرولیتر مسטר میکس و ۱ میکرولیتر از هر پرایمر (فوروارد و ریورس) انجام شد.

واکنش PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر ساخت شرکت Mygenecompany (کره جنوبی) بر اساس برنامه حرارتی زیر انجام شد: ابتدا دناتوراسیون اولیه در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گرفت. سپس ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون در دمای ۹۴ درجه سانتی گراد به مدت ۳۵ ثانیه، مرحله اتصال آغازگرها (Annealing) در دمای ۶۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ ثانیه، و مرحله طویل سازی (Extension) در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۴۵ ثانیه انجام شد. در پایان، یک مرحله کشش نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی گراد به مدت ۵ دقیقه انجام گردید.

شکل زیر نمای میکروسکوپی نمونه‌های مشکوک به انگل را نشان می‌دهد. بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مدفوع نشان داد که از میان ۲۵ نمونه بررسی‌شده، ۷ نمونه (۲۸٪) دارای ویژگی‌های مشکوک به آلودگی بودند.

از میان نمونه‌های مشکوک، ۴ مورد (۵۷٪) مربوط به سگ‌های ماده و ۳ مورد (۴۳٪) مربوط به سگ‌های نر بودند. همچنین، ۴ نمونه (۵۷٪) از این موارد مشکوک متعلق به سگ‌های بومی بودند.

در کل، ۱۵ نمونه (۶۰٪) از مجموع نمونه‌ها مربوط به سگ‌های نر و ۱۰ نمونه (۴۰٪) به سگ‌های ماده اختصاص داشت. از نظر سنی، ۱۴ مورد (۵۶٪) از سگ‌ها ۲ ساله یا کمتر و ۱۱ مورد (۴۴٪) بالای ۲ سال بودند. همچنین، ۱۱ نمونه (۴۴٪) از سگ‌ها دارای منشأ بومی گزارش شدند.



شکل ۱: بررسی میکروسکوپی نمونه‌های مشکوک به انگل

نام انگل	توالی پرایمر	سایز قطعه تکثیر شده (bp)
آتاموبیا هیستولیتیکا	5'TAAGATGCACGAGAGCGAAA3' (forward primer)	۹۰۰
	5'GTACAAAGGGCAGGGACGTA3' (reverse primer)	

جدول ۱: پرایمرها به همراه سکانس و سایز

نتایج

شماره نمونه	جنس	سن	جنسیت
۱	بومی	۴ ساله	نر
۲	بومی	۳ ساله	نر
۳	بومی	۲ ساله	نر
۴	بومی	۵ ماهه	نر
۵	بومی	۶ ماهه	ماده
۶	بومی	۳ ساله	ماده
۷	بومی	۲ ساله	نر
۸	دوبرمن	۵ ساله	نر
۹	بومی	۳ ساله	ماده
۱۰	میکس باست هونه و اسپیتنر	۴ ساله	نر
۱۱	اسپیتنر	۲ ساله	نر
۱۲	شیتزو	۴ ساله	ماده
۱۳	میکس گلدن و اشپینر	۴ ساله	نر
۱۴	ژرمن بلک	۷ ساله	نر
۱۵	حمایتی	۲ ساله	نر
۱۶	پیتبول	۴ ساله	نر
۱۷	شیتزو	۲ ساله	ماده
۱۸	امریکن بولی	۱ سال و ۵ ماه	ماده
۱۹	شیتزو تریر	۱ ساله	نر
۲۰	شیتزو کراس	۱ سال و نیم	ماده
۲۱	شیتزو	۴ ماهه	ماده
۲۲	هاسکی	۸ ماهه	نر
۲۳	بومی	۲ ساله	ماده
۲۴	ژرمن	۳ ساله	ماده
۲۵	بومی	۱ ساله	نر

جدول ۲: مشخصات سگ‌های مورد بررسی

است. وجود IgE و IgG اختصاصی و واکنش‌های آنافیلاکتیک، نشانگر نقش سیستم ایمنی در روند بیماری است (۴۰)

در این مطالعه، با استفاده از دو روش مستقیم میکروسکوپی و PCR، به بررسی آلودگی *E. histolytica* در سگ‌های خانگی پرداختیم. با وجود مشکوک بودن برخی نمونه‌ها در بررسی میکروسکوپی، تمامی آن‌ها در تست PCR منفی گزارش شدند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که شیوع این انگل در سگ‌های مورد بررسی پایین است و PCR دقت بالاتری در تشخیص دارد. مطالعات پیشین نیز نشان داده‌اند که تشخیص میکروسکوپی نمی‌تواند گونه‌های مختلف *Entamoeba* را از هم تفکیک کند (۴۱، ۴۲)، در حالی که روش PCR، به‌ویژه با استفاده از تکنیک‌های جدید، حساسیت و اختصاصیت بالاتری دارد و ابزار مناسبی برای تشخیص قطعی *E. histolytica* در نمونه‌های مدفوع محسوب می‌شود (۴۳، ۴۴)

نتیجه‌گیری نهایی

شیوع *E. histolytica* در سگ‌های خانگی پایین گزارش شد و هیچ یک از نتایج بررسی‌ها از نظر آماری معنادار نبود. روش PCR به‌عنوان ابزار تشخیص دقیق‌تر، توانست نتایج مشکوک میکروسکوپی را رد کند.

نتایج بررسی میکروسکوپی نشان داد که از بین ۷ نمونه مشکوک، همگی از نظر PCR منفی بودند.

شکل ژل نمونه‌های مشکوک به همراه کنترل منفی و مثبت و لدر را نشان داد.

بحث و نتیجه‌گیری

E. histolytica یک انگل فرصت‌طلب است که می‌تواند باعث بیماری‌های رودهای و خارج‌روده‌ای در انسان شود (۳۱، ۳۲). عفونت معمولاً از طریق راه دهانی-مدفوعی منتقل شده و کیست آن در شرایط محیطی سخت زنده می‌ماند (۳۴). گرچه بیشتر موارد بدون علامت هستند، ولی عفونت‌های تهاجمی می‌توانند خطرناک و حتی کشنده باشند (۳۵). در درمان، داروهای نیتروایمیدازول رایج هستند، اما می‌توانند عوارض سمی ایجاد کنند (۳۶).

آمیبیازیس در سراسر جهان انتشار دارد، اما عفونت در کشورهای در حال توسعه گرمسیری و نیمه گرمسیری شایع‌تر است. عفونت‌ها در یتیم‌خانه‌ها، مؤسسات اصلاحی، پناهگاه‌ها، و زندان‌ها با افرادی که به صورت گروهی زندگی می‌کنند، مستعد بروز می‌شوند. یا مهاجران از مناطق اندمیک در معرض خطر بالاتری هستند (۳۷). ارتباط نزدیک انسان با حیوانات خانگی، به‌ویژه سگ‌ها، می‌تواند انتقال مشترک بیماری‌های انگلی را تسهیل کند (۳۸، ۳۹)

اگرچه پاسخ‌های ایمنی در برابر این انگل در میزبان ایجاد می‌شود، شواهدی از ایمنی بلندمدت در انسان مشاهده نشده

منابع

۱. اصفهانی عا، قربانی غ، آثاری ش. میزان شیوع انگلهای روده‌ای در پرسنل نیروی دریایی سپاه پاسداران در سال

۱۳۸۵. طب نظامی. ۲۰۲۲؛۸(۳):۱۹۷-۲۰۳.

2. Abbas I, Baghdadi HB, Rizk MA. Gastrointestinal Parasites of Dogs in Egypt: An Update on the Prevalence in Dakahlia Governorate and a Meta-Analysis for the Published Data from the Country. 2023;13(3).
3. Ai S, Zhang Z, Wang X, Zhang Q, Yin W, Duan Z. The first survey and molecular identification of *Entamoeba* spp. in farm animals on Qinghai-Tibetan Plateau of China. *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*. 2021;75:101607.
4. Bustin SA. Absolute quantification of mRNA using real-time reverse transcription polymerase chain reaction assays. *Journal of molecular endocrinology*. 2000;25(2):169-93.
5. Clark CG. Methods for the investigation of diversity in *Entamoeba histolytica*. *Archives of medical research*. 2006;37(2):258-62.
6. Clark CG. Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene meeting at Manson House, London, 19 February 1998. Amoebic disease. *Entamoeba dispar*, an organism reborn. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 1998;92(4):361-4.
7. Cui Z, Li J, Chen Y, Zhang L. Molecular epidemiology, evolution, and phylogeny of *Entamoeba* spp. *Infection, Genetics and Evolution*. 2019;75:104018.
8. Delialioglu N, Aslan G, Sozen M, Babur C, Kanik A, Emekdas G. Detection of *Entamoeba histolytica/Entamoeba dispar* in stool specimens by using enzyme-linked immunosorbent assay. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2004;99(7):769-72.
9. Dohoo IR, McDonell WN, Rhodes C, Elazhary YL. Veterinary research and human health. *The Canadian Veterinary Journal*. 1998;39(9):548.
10. Dos Santos Zanetti A, Malheiros AF. Diversity, geographical distribution, and prevalence of *Entamoeba* spp. in Brazil: a systematic review and meta-analysis. 2021;28:17.
11. Duranton C, Rödel HG, Bedossa T, Belkhir S. Inverse sex effects on performance of domestic dogs (*Canis familiaris*) in a repeated problem-solving task. *Journal of Comparative Psychology*. 2015;129(1):84.
12. Gee NR, Rodriguez KE, Fine AH, Trammell JP. Dogs Support Human Health and Well-Being: A Biopsychosocial Approach. *Front Vet Sci*. 2021;8:630465.
13. Gillespie S, Bradbury RS. A Survey of Intestinal Parasites of Domestic Dogs in Central Queensland. *Trop Med Infect Dis*. 2017;2(4).
14. Haque R, Ali I, Akther S, Petri Jr WA. Comparison of PCR, isoenzyme analysis, and antigen detection for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *Journal of clinical microbiology*. 1998;36(2):449-52.

15. Haque R, Huston CD, Hughes M, Houpt E, Petri Jr WA. Amebiasis. *New England journal of medicine*. 2003;348(16):1565-73.
16. Haque R, Kress K, Wood S, Jackson TF, Lyerly D, Wilkins T, et al. Diagnosis of pathogenic *Entamoeba histolytica* infection using a stool ELISA based on monoclonal antibodies to the galactose-specific adhesin. *Journal of Infectious Diseases*. 1993;167(1):247-9.
17. Hashemzade Farhang h. Evaluation of the prevalence of intestinal protozoa in dogs of Tabriz city. *Veterinary Clinical Pathology The QuaPCRerly Scientific Journal*. 2018;12(2 (46) Summer):105-11.
18. Hashemzadeh Farhang H. Evaluation of the prevalence of intestinal protozoa in dogs of Tabriz city. *Veterinary Clinical Pathology* 2018;12(46):105-11.
19. Huggett J, Dheda K, Bustin S, Zumla A. PCR-PCR normalisation; strategies and considerations. *Genes and immunity*. 2005;6(4):279-84.
20. Islam O, Khatun S, Azad S, Famous M, Uddin M. Prevalence of different diseases of dogs recorded at central veterinary hospital, dhaka, bangladesh. *Res J Vet Pract*. 2019;7(9):53-7.
21. Kareem Kadhim D, Abdulsalam Hraija B, Aqeel G. Molecular-Genotyping Detection of *Entamoeba histolytica* in Diarrheic Patients. *Arch Razi Inst*. 2023;78(1):337-43.
22. Khodadadi A, Hamidi Nia MHN, Ghaforian M, Mohammadi Asl J. Evaluation of PCR Efficiency by the Use of Two Strategies: Standard Curve and Linear Regression. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2012;11(1):85-95.
23. Kow-Tong C, Chien-Jen C, Chiu J-P. A school waterborne outbreak involving both *Shigella sonnei* and *Entamoeba histolytica*. *Journal of environmental health*. 2001;64(4):9.
24. Lin F-H, Chen B-C, Chou Y-C, Chien W-C, Chung C-H, Hsieh C-J, et al. The Epidemiology of *Entamoeba histolytica* Infection and Its Associated Risk Factors among Domestic and ImpoPCRed Patients in Taiwan during the 2011–2020 Period. *Medicina*. 2022;58(6):820.
25. Lin FH, Chen BC, Chou YC, Chien WC, Chung CH, Hsieh CJ, et al. The Epidemiology of *Entamoeba histolytica* Infection and Its Associated Risk Factors among Domestic and ImpoPCRed Patients in Taiwan during the 2011-2020 Period. *Medicina (Kaunas)*. 2022;58(6).
26. Lorenzini G, Tasca T, De Carli GA. Prevalence of intestinal parasites in dogs and cats under veterinary care in PoPCRo Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil. *Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science*. 2007;44(2):137-45.
27. MacGregor P, Nene V, Nisbet RER. Tackling protozoan parasites of cattle in sub-Saharan Africa. *PLoS Pathogens*. 2021;17(10):e1009955.
28. Mackay IM, Arden KE, Nitsche A. PCR in virology. *Nucleic acids research*. 2002;30(6):1292-305.
29. MaPCRins CF, Soares JP, CoPCRinhas A, Silva L, Cardoso L, Pires MA, et al. Pet's influence on humans' daily physical activity and mental health: a meta-analysis. *Front Public Health*. 2023;11:1196199.
30. McDowall S, Hazel SJ, Cobb M, Hamilton-Bruce A. Understanding the Role of Therapy Dogs in Human Health Promotion. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(10).

31. Morf L, Singh U. *Entamoeba histolytica*: a snapshot of current research and methods for genetic analysis. *Curr Opin Microbiol*. 2012;15(4):469-75.
32. Nagata N, Shimbo T, Akiyama J, Nakashima R, Nishimura S, Yada T, et al. Risk factors for intestinal invasive amebiasis in Japan, 2003–2009. *Emerging infectious diseases*. 2012;18(5):717.
33. Ngui R, Hassan N-A, Nordin NMS, Mohd-Shaharuddin N, Chang LY, Teh CSJ, et al. Copro-molecular study of *Entamoeba* infection among the indigenous community in Malaysia: A first repoPCR on the species-specific prevalence of *Entamoeba* in dogs. *Acta Tropica*. 2020;204:105334.
34. Ngui R, Hassan N-A, Nordin NMS, Mohd-Shaharuddin N, Chang LY, Teh CSJ, et al. Copro-molecular study of *Entamoeba* infection among the indigenous community in Malaysia: A first repoPCR on the species-specific prevalence of *Entamoeba* in dogs. *Acta Tropica*. 2020;204:105334.
35. Obradović N, Lagueux É, Latulippe K, Provencher V. Understanding the Benefits, Challenges, and the Role of Pet Ownership in the Daily Lives of Community-Dwelling Older Adults: A Case Study. *Animals (Basel)*. 2021;11(9).
36. Petri WA, Singh U. Diagnosis and management of amebiasis. *Clinical infectious diseases*. 1999;29(5):1117-25.
37. Petri WA, Singh U. Diagnosis and management of amebiasis. *Clinical infectious diseases*. 1999;29(5):1117-25.
38. RobePCRson I, Irwin P, Lymbery A, Thompson R. The role of companion animals in the emergence of parasitic zoonoses. *International journal for parasitology*. 2000;30(12-13):1369-77.
39. Roy S, Kabir M, Mondal D, Ali IK, Petri WA, Jr., Haque R. PCRassay for diagnosis of *Entamoeba histolytica* infection. *J Clin Microbiol*. 2005;43(5):2168-72.
40. Russul bassim mohammed NIJ. Microscopic and Molecular Detection of *Entamoeba* species in Domastic dogs in Al-Diwaniyah Province. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*. 2023;10(3):4415-24.
41. Schuster FL, Visvesvara GS. Amebae and ciliated protozoa as causal agents of waterborne zoonotic disease. *Veterinary parasitology*. 2004;126(1-2):91-120.
42. Sharma M. *Dogs, Breeding, Nutrition, Diagnosis, and Health Management*: CBS Publishers & Distributors; 1996.
43. Trissl D. Immunology of *Entamoeba histolytica* in human and animal hosts. *Rev Infect Dis*. 1982;4(6):1154-84.
44. Uddin MM, Talukder H, Islam O, Asaduzzaman M, Das M, Ahsan MI, et al. Magnitudes of diseases in dogs vary among different levels of age, gender, breed, and season: A hospital-based, retrospective cross-sectional study. *Heliyon*. 2021;7(11):e08287.

Comparative Study on the Prevalence of *Entamoeba Histolytica* Protozoan Infection in Domestic Dogs

Behnam Pedram^{1*}, Reza Naghiha Najafabadi², Mohammad Mohbbi³, Zahra Sadeghian⁴, Fatemeh Homayoon⁴

1. Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
2. Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran
3. Doctor of Veterinary Medicine graduate, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
4. Doctor of Veterinary Medicine student, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran

*Corresponding author: b1pedram@yahoo.com

Abstract

With the increasing interaction between humans and domestic animals, especially dogs, the investigation of zoonotic diseases has gained growing importance. Among these diseases, infection with *Entamoeba histolytica* as one of the significant causes of protozoan infections has received special attention. The present study was conducted with the aim of evaluating and comparing the prevalence of this infection in domestic dogs using two methods: direct smear and polymerase chain reaction (PCR). In this study, 25 fecal samples were collected from domestic dogs of different ages and sexes and examined for the presence of the parasite. Microscopic examination showed that 7 samples were suspected of infection; however, the PCR test did not report any significant difference between the suspected samples and other samples. The findings indicate that the prevalence of *E. histolytica* infection in the studied population was not considerable, and PCR, as a more precise and specific method, can be effective in the more reliable diagnosis of this parasite. The results of this research can be useful in improving strategies for prevention, diagnosis, and control of zoonotic diseases.

Keywords: *Entamoeba histolytica*, domestic dog, parasite, protozoan infection, PCR

بررسی شیوع سرمی توکسوپلازما گوندئی در گوسفندان و بزهای شهرستان بندر ترکمن

سیده ام البنین قاسمیان^{۱*}، طه عرازگلدی زاده^۲، شقایق قناد^۳، حمیدرضا پیش بین^۳

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

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

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

*نویسنده مسئول: Ghasemian1249@yahoo.com

چکیده

توکسوپلاسموز بیماری‌ای است که توسط تک‌یاخته توکسوپلازما گوندئی ایجاد می‌شود و به دلیل ایجاد مرگ زودرس جنین، سقط، مومیایی شدن جنین، مرده‌زایی و مرگ‌ومیر نوزادان از اهمیت اقتصادی بالایی در دام‌های اهلی، به‌ویژه گوسفند و بز، برخوردار است. در استان گلستان نیز همانند سایر نقاط کشور، شیوع بالای توکسوپلاسموز در این دام‌ها مشاهده می‌شود و از آنجا که گوشت این دام‌ها منبع مهم پروتئینی است، آموزش و اطلاع‌رسانی جهت پیشگیری از بیماری ضروری است. هدف مطالعه حاضر، بررسی شیوع سرمی توکسوپلازما گوندئی در گوسفند و بز در شهرستان بندر ترکمن بود. بدین منظور نمونه‌های خونی جمع‌آوری و پس از جداسازی سرم، از کیت الایزای غیرمستقیم شرکت IDVET برای تشخیص آنتی‌بادی IgG اختصاصی ضد انگل استفاده شد. نتایج نشان داد ۱۵/۴٪ گوسفندان و ۹/۱٪ بزها آلوده بودند. اگرچه آلودگی در دام‌های ماده بیشتر بود، این تفاوت از نظر آماری معنادار نبود. شیوع بیماری با افزایش سن دام بیشتر شد و بیشترین میزان آلودگی در دام‌های بالای ۳۶ ماه مشاهده گردید. نژاد دام‌ها تأثیری در میزان آلودگی نداشت. این یافته‌ها نشان می‌دهد حیوانات اهلی می‌توانند نقش مهمی در انتقال بیماری به انسان داشته باشند و کنترل، پیشگیری و درمان دام‌ها باید مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: توکسوپلاسموز، توکسوپلازما گوندئی، گوسفند، بز، الایزا، بندر ترکمن

مقدمه

توکسوپلاسموز بیماری‌ای زئونوز و جهانی است که توسط انگل تک‌یاخته‌ای درون سلولی توکسوپلازما گوندئی ایجاد می‌شود (۱،۲). این انگل، عضوی از شاخه Apicomplexa و راسته Coccidia است و یک انگل اجباری درون سلولی محسوب می‌شود (۳،۴). توکسوپلازما گوندئی پنج شکل عفونی دارد: اووسیست، اسپوروزوایت، تاکی‌زوایت، برادی‌زوایت و کیست (۴).

میزبان نهایی این انگل گربه است که از طریق مصرف اندام‌های آلوده یا بلع اووسیست‌های هاگ‌دار موجود در غذا و آب آلوده، آلوده می‌شود (۱). چرخه زندگی انگل به گربه وابسته است و شیوع آن در گربه‌های روستایی و ولگرد بیشتر از گربه‌های خانگی و شهری است (۶).

شیوع توکسوپلاسموز تحت تأثیر عوامل اقلیمی و محیطی است؛ به طوری که در نواحی گرم، مرطوب و سطح پایین، شیوع بیشتری دارد (۷). حلزون‌ها، شپش‌ها، کرم‌های خاکی و حشرات مدفوع‌خوار مانند سوسک و مگس می‌توانند ناقل اووسیست‌ها باشند و آن‌ها را به گیاهان و خاک منتقل کنند (۸). انتقال بیماری از طریق مصرف گوشت خام یا نیم‌پز آلوده (خصوصاً گوشت گوسفند) و نیز تماس با خاک، گیاهان یا آب آلوده صورت می‌گیرد. انتقال عمودی نیز در مواردی رخ می‌دهد، به‌ویژه در عفونت حاد در دوران بارداری که میزان انتقال و شدت بیماری به سن بارداری بستگی دارد و در مقابل،

عفونت مزمن یا تحت‌بالینی خطر انتقال به جنین را به‌طور چشم‌گیری کاهش می‌دهد. همچنین انگل در شیر نیز دیده شده، ولی با پاستوریزه کردن یا جوشاندن از بین می‌رود (۹). توکسوپلازما گوندئی از عوامل مهم سقط جنین‌های عفونی در دام‌های اهلی است. شدت عفونت با عواملی مانند دوز انگل، زمینه‌های ژنتیکی، جنس و وضعیت ایمنی میزبان مرتبط است. این انگل توانایی آلوده کردن تقریباً همه سلول‌های هسته‌دار را دارد، اما سلول‌های هدف ترجیحی آن مونوسیت‌ها، ماکروفاژها و سلول‌های عضلانی هستند (۸). در عفونت شدید، نکرور در روده یا غدد لنفاوی ممکن است منجر به مرگ میزبان شود (۹).

در انسان‌های دارای سیستم ایمنی سالم، بیماری معمولاً بدون علامت و خودمحدودشونده است. شایع‌ترین تظاهر آن لنفادنوپاتی گردنی است. علائم دیگر مانند سردرد، خستگی، تب، درد عضلانی، گلودرد و در موارد نادر، عوارضی مانند آنسفالیت، پنومونی، میوکاردیت، هپاتیت و پلی‌میوزیت نیز گزارش شده است (۱۱).

تشخیص بیماری با روش‌هایی مانند سرولوژی، PCR، جداسازی ارگانیسم و شناسایی بافتی تاکی‌زوایت‌ها صورت می‌گیرد (۱۲). درمان متداول شامل ترکیب پریمتامین و تری‌سولفاپیریمیدین‌ها به همراه اسید فولینیک برای کاهش عوارض جانبی است. در بیماران مبتلا به ایدز، کلیندامایسین به‌صورت وریدی کاربرد دارد (۱۳)

تونوها و همکاران در سال ۲۰۱۹ در بنین، با استفاده از روش الایزا غیر مستقیم، میزان آلودگی را ۵۳٪ در بزها و ۱/۴٪ در گوسفندان یک مزرعه خانوادگی گزارش کردند. این یافته ها حاکی از پراکندگی وسیع این انگل در گونه های مختلف و مناطق جغرافیایی گوناگون است (۱۸).

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی ۷۸ گوسفند و ۲۲ بز انجام شد. خونگیری از ورید وداچ با استفاده از سوزن، هولدر و لوله خلاء انجام گردید. نمونه های اخذ شده در لوله های ۱۰ میلی لیتری بلافاصله در مجاورت یخ به آزمایشگاه انگل شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر منتقل شدند.

برای جداسازی سرم، نمونه ها به مدت ۶ دقیقه با سرعت ۳۲۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. سرم جدا شده تا زمان انجام آزمایش الایزا در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی گراد نگهداری شد.

برای بررسی وجود آنتی بادی IgG اختصاصی علیه توکسوپلاسما گوندئی در نمونه های سرم از کیت الایزای شرکت IDIEXX Laboratories، IDIEXX Toxotest Ab به شماره سریال Lot: HT645 استفاده شد.

این کیت بر اساس روش الایزای غیرمستقیم طراحی شده و روشی سریع، حساس و اختصاصی جهت تشخیص آلودگی در نشخوارکنندگان کوچک محسوب می شود. در این روش،

راهکارهای پیشگیری شامل مصرف گوشت کاملاً پخته (بالای ۶۶ درجه)، شستشوی کامل میوه و سبزی، پرهیز از مصرف شیر و تخم مرغ خام، رعایت بهداشت فردی در تماس با خاک و گوشت خام، استفاده از دستکش در باغبانی و اجتناب از تماس با گربه و مدفوع آن، به ویژه برای زنان باردار است. همچنین کنترل ناقلان مکانیکی مانند مگس و سوسک و بررسی خون های اهدایی از نظر آلودگی ضروری است (۱۳).

خان محمدی و همکاران در بررسی گوسفندان شهرستان تبریز با استفاده از تست سابین فلدمن دای و آگلوتیناسیون لاتکس، به ترتیب میزان شیوع ۵۶/۴٪ و ۵۶/۸٪ را گزارش کردند (۱۴).

مطالعه ای که در استان قزوین در سال ۲۰۱۹ بر روی گوسفند و بز به لحاظ شیوع سرمی توکسوپلاسما گوندئی انجام شده بود نشان داد، ۳۳٪ از گوسفندان و ۳۶/۴۱٪ از بزها واجد IgG ضد توکسوپلاسما هستند (۱۵).

در استان های مازندران و گیلان با متوسط بارش سالانه بالا، میزان شیوع این انگل ۲۰ تا ۹۰ درصد و در استان کرمان، میزان شیوع انگل توکسوپلاسما ۷/۲۴ درصد گزارش شده است (۱۶).

در پرتغال با استفاده از روش آگلوتیناسیون اصلاح شده (MAT)، میزان شیوع سرمی توکسوپلاسما را در ۳۳/۶٪ گوسفندان و در حدود ۱۸/۵٪ بزها شناسایی کردند (۱۷).

حیوان آلودگی	گوسفند	بز	سطح معنی داری
نتیجه	۲۱/۶۲ ± ۲۴/۶۵	۱۸/۹۶ ± ۲۱/۲۳	۰/۵۰ ^{NS}

جدول ۲: مقایسه میانگین آلودگی در حیوان های مختلف

در این مطالعه، آلودگی در دام های ماده بیشتر از آلودگی در دام نر بود اما این اختلاف معنی دار نبود (جدول ۳).

جنس آلودگی	نر	ماده
منفی	۲۲ (۸۸٪)	۶۲ (۸۲/۷٪)
مشکوک	۱ (۴٪)	۱ (۱/۳٪)
مثبت	۲ (۸٪)	۱۲ (۱۶٪)
سطح معنی داری	۰/۴۵ ^{NS}	

جدول ۳: مقایسه فراوانی (درصد) جنس های مختلف

جنس آلودگی	نر	ماده	سطح معنی داری
نتیجه	۲۰/۲۴ ± ۱۹/۹	۲۵/۱۲ ± ۲۱/۴	۰/۳۲ ^{NS}

جدول ۴: مقایسه میانگین آلودگی در جنس های مختلف

در این مطالعه با افزایش سن، آلودگی به توکسوپلازما افزایش می یابد و بیشترین افزایش مربوط به دام های بالای ۳۶ ماه بود (جدول ۵).

سن (ماه) آلودگی	۰-۱۲	۱۳-۲۴	۲۵-۳۶	۳۶<
منفی	۲۴ (۹۲/۳٪)	۲۴ (۸۲/۸٪)	۲۴ (۸۲/۸٪)	۱۲ (۷۵٪)
مشکوک	۰ (۰٪)	۱ (۳/۴٪)	۰ (۰٪)	۱ (۶/۲٪)
مثبت	۲ (۷/۷٪)	۴ (۱۳/۸٪)	۵ (۱۷/۳٪)	۳ (۱۸/۸٪)
سطح معنی داری	۰/۶۵ ^{NS}			

جدول ۵: مقایسه فراوانی (درصد) سن های مختلف

آنتی ژن غیرفعال شده ی *T. gondii* به سطح چاهک های صفحات میکروتیتر متصل است. با افزودن نمونه های سرمی، آنتی بادی های اختصاصی در صورت وجود، با آنتی ژن اتصال یافته و کمپلکس آنتی ژن-آنتی بادی تشکیل می شود. پس از شستشو، کونژوگه اختصاصی (IgG ضد نشخوارکننده متصل به آنزیم پراکسیداز) افزوده شده و با افزودن بستر کروموژن، واکنش رنگی متناسب با میزان آنتی بادی ایجاد می گردد. میزان جذب نوری چاهک ها در طول موج ۴۵۰ نانومتر قرائت شده و نسبت جذب نوری نمونه به کنترل مثبت (S/P%) محاسبه گردید. به منظور تجزیه و تحلیل داده ها از بسته نرم افزاری SPSS نسخه ۲۳ استفاده شد. برای بررسی پارامترهای مختلف حاصل از مطالعه، از آزمون آماری نظیر آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و جهت تعیین اختلاف بین گروه ها از آزمون کای اسکور استفاده شد. سطح معنی داری کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج بدست آمده در جدول ۱ بیانگر آن بود که ۱۵/۴٪ از گوسفندان و ۹/۱٪ از بزها به توکسوپلازما آلوده بودند.

حیوان آلودگی	گوسفند	بز
منفی	۶۵ (۸۳/۳٪)	۱۹ (۸۶/۴٪)
مشکوک	۱ (۱/۳٪)	۱ (۴/۵٪)
مثبت	۱۲ (۱۵/۴٪)	۲ (۹/۱٪)
سطح معنی داری	۰/۴۹ ^{NS}	

جدول ۱: مقایسه فراوانی (درصد) حیوان های مختلف

Toxoplasma gondii بودند. این یافته‌ها با نتایج مطالعه‌ی هاشم زاده فرهنگ و همکاران که به بررسی شیوع سرولوژیک توکسوپلاسموزیس در گوسفندان و بزهای شهرستان تبریز به روش الایزا پرداختند، همخوانی دارد. آنان نیز گزارش کردند که بین میزان آلودگی در دو گونه‌ی گوسفند و بز اختلاف معنی‌داری وجود دارد (۱۹).

مطالعه‌ی هاشمی (۱۳۹۳) در استان لرستان که با استفاده از روش‌های ELISA و ایمونوفلورسانس غیرمستقیم بر روی گاو، گوسفند و بز انجام شد نیز نشان داد که میزان آلودگی در گوسفندان بیشتر از سایر گونه‌ها بوده و این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار است. همچنین، آلودگی در جنس ماده بیشتر از نر گزارش شده است. این نتایج با یافته‌های مطالعه حاضر که نشان‌دهنده‌ی بالاتر بودن آلودگی در دام‌های ماده نسبت به نر است، مطابقت دارد (۲۰).

به‌طور مشابه، در مطالعه‌ی سخن‌آفرین و همکاران (۱۳۹۸)، بیشترین میزان آلودگی در گوسفند (۷/۲۴٪)، سپس در گاو (۷/۱۶٪) و در نهایت در بز (۳٪) مشاهده شد. همچنین، ۹/۲۲٪ از دام‌های ماده و ۷/۸٪ از دام‌های نر سرم مثبت بودند که این اختلاف نیز از نظر آماری معنی‌دار گزارش شد. این نتایج از نظر الگوی توزیع آلودگی در گونه‌ها و جنسیت با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌راستا هستند (۲۱).

در مطالعه‌ای که توسط شیخیان و همکاران (۲۰۱۳) در استان لرستان انجام شد، میزان شیوع سرمی در گاو ۱۱/۹ درصد و

نژاد	انحراف معیار $\pm$ میانگین
۰-۱۲	$۱۷/۰۹ \pm ۱۹/۱۹$
۱۳-۲۴	$۱۹/۵۹ \pm ۲۵/۲۴$
۲۵-۳۶	$۲۲/۵۹ \pm ۲۳/۷۶$
۳۶<	$۲۶/۱۹ \pm ۲۹/۳۸$
سطح معنی داری	$۰/۴۸^{NS}$

جدول ۶: مقایسه میانگین آلودگی در سن‌های مختلف

نتایج بدست آمده در جدول ۷ نشان داد که در گوسفندان و بزها، نژاد تأثیری بر میزان آلودگی به توکسوپلاسموز ندارد.

نژاد / آلودگی	بز	بختیاری	قزل افشار	اتابای	شال
منفی	(۸۶/۴٪) ۱۹	(۸۱/۲٪) ۱۳	(۸۱/۱٪) ۳۰	(۸۲/۴٪) ۱۴	(۱۰۰٪) ۸
مشکوک	(۴/۵٪) ۱	(۰٪) ۰	(۰٪) ۰	(۵/۹٪) ۱	(۰٪) ۰
مثبت	(۹/۱٪) ۲	(۱۸/۸٪) ۳	(۱۸/۹٪) ۷	(۱۱/۸٪) ۲	(۰٪) ۰
سطح معنی داری	$۰/۶۵^{NS}$				

جدول ۷: مقایسه فراوانی (درصد) نژاد های مختلف

نژاد	انحراف معیار $\pm$ میانگین
بز	$۱۸/۹۶ \pm ۲۱/۲۳$
بختیاری	$۲۳/۸۸ \pm ۲۴/۶۳$
قزل افشار	$۲۲/۲۱ \pm ۲۶/۶۸$
اتابای	$۲۲/۸۸ \pm ۲۴/۷۱$
شال	$۷/۹۴ \pm ۱۵/۲۵$
سطح معنی داری	$۰/۶۷^{NS}$

جدول ۸: مقایسه میانگین توکسوپلاسموز در نژادهای مختلف

بحث و نتیجه گیری

نتایج بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که ۱۵/۴٪ از گوسفندان و ۹/۱٪ از بزها دارای آلودگی سرمی به

در گوسفندان ۱۶/۱ درصد گزارش گردید که از میزان شیوع مشاهده شده در مطالعه‌ی حاضر کمتر بود.

همچنین در مطالعه‌ای که در کشور چین توسط وانگ و همکاران (۲۰۱۱) با استفاده از روش هم‌آگلوتیناسیون غیرمستقیم بر روی بزها و گوسفندان انجام گرفت، میزان آلودگی به ترتیب ۹/۷ درصد در بزها و ۱۷/۶ درصد در گوسفندان گزارش شد که نتایج آن نیز با یافته‌های مطالعه‌ی ما قابل مقایسه است (۲۲).

نتیجه گیری نهایی

یافته‌های بدست آمده در مطالعه حاضر نشان داد که ۱۵/۴٪ از گوسفندان و ۹/۱٪ از بزها به توکسوپلازما گوندئی آلوده بودند. همچنین اگرچه آلودگی در دام‌های ماده بیشتر از دام‌های نر بود، اما این اختلاف معنی‌دار نبود. نتایج همچنین بیانگر آن بود که با افزایش سن، میزان آلودگی افزایش می‌یابد و بالاترین میزان آلودگی در دام‌های بالای ۳۶ ماه مشاهده شد. علاوه بر این نژاد در هر هردو گونه گوسفند و بز نژاد تاثیر معناداری بر میزان آلودگی به توکسوپلازما نداشت.

منابع

۱. جلالی ن. ۱۳۸۵. ترجمه انگل شناسی پزشکی مارکل. چاپ اول، انتشارات تیمورزاده، ۱۳۸۵؛ صفحات ۲۰۴-۱۳۹.
۲. خانمحمدی م، صدقیان م، هاشم زاده فرهنگ ح. (۱۳۹۰). بررسی سرولوژی آنتی بادی ضد توکسو پلاسما گوندی در گوسفندان شهرستان تبریز (آذربایجان شرقی)، به روش ساین فلدمن دای تست و آگلوتیناسیون لاتکس در سال ۱۳۸۹-۱۳۸۸، میکروبیولوژی دامپزشکی، ۷ (۱): ۲۵-۳۰.
۳. ذوقی الف. ۱۳۷۲. ترجمه توکسوپلاسموز در انسان و حیوانات، تألیف جی. پی. دویی. چاپ اول، انتشارات دفتر نشر فرهنگ اسلامی، ۱۳۷۲؛ صفحات ۶۹-۵.
۴. سخن آفرین ط، آسمار م، مسیح ع. ۱۳۹۸. بررسی سرولوژیکی دام‌های کشتارگاهی شهرستان رشت از نظر آلودگی به انگل توکسوپلاسما با استفاده از روش آگلوتیناسیون تغییر یافته (MAT)، نشریه علمی میکروبیولوژی دامپزشکی، ۱۵ (۲): ۱۱۱-۱۱۸.
۵. هاشم زاده فرهنگ ح، نوذری ن، موذنی ف. ۱۳۸۹. بررسی میزان شیوع سرولوژیک توکسوپلاسموزیس در گوسفندان و بزهای شهرستان تبریز به روش الایزا، مجله آسیب شناسی درمانگاهی دامپزشکی، ۴ (۱): ۷۵۳-۷۵۷.
۶. هاشمی س. ۱۳۹۳. بررسی میزان شیوع سرمی توکسوپلاسموز در گاو، گوسفند و بز با استفاده از روش های الایزا و ایمونوفلورسانس آنتی بادی غیر مستقیم در استان لرستان، پژوهش های بالینی دام های بزرگ (دامپزشکی)، ۷ (۲): ۴۹-۵۵.
7. Akuffo H, Linder E, Ljungstrom I, et al. (2003). Parasites of the Colder Climates. First Edition, London, Taylor & Francis,; pp: 132-148.
8. Attias, M., Teixeira, D.E., Benchimol, M. et al. (2020). The life-cycle of *Toxoplasma gondii* reviewed using animations. Parasites Vectors 13, 588.
9. De Souza W, Attias M. (2015). New views of the *Toxoplasma gondii* parasitophorous vacuole as revealed by helium ion microscopy (HIM). J Struct Biol.;191:76-85.
10. Dubey JP, Lago EG, Gennari SM, Su C, Jones JL. (2012). Toxoplasmosis in humans and animals in Brazil: high prevalence, high burden of disease, and epidemiology. Parasitol.;139:1375-424.
11. Dubey, J. P. (2002). A review of toxoplasmosis in wild birds. Veterinary parasitology, 106(2), 121-153.
12. Frenkel JK, Dubey JP, Beattie CP. (2006). Toxoplasmosis of animals and man. J Parasitol.;75:816.
13. Hill D, Dubey JP. (2002). *Toxoplasma gondii*: transmission, diagnosis and prevention. Clin Microbiol Infect.;8:634-40.
14. Izadyar, N., Abd Nikfarjam, B., Esmacili Rastaghi, A. R., Alizadeh, S. A., Heydarian, P., & Saraei, M. (2019). A serologic study on *Toxoplasma gondii* infection in slaughtered sheep and goats in Qazvin Province, Iran. Tropical animal health and production, 51(5), 1289-1293.
15. Kasper DL, Braunwald E, Fauci AS, et al. (2005). Harrison's Principles of Internal Medicine. 16th Edition, McGraw-Hill, Med Publish Div,; pp: 1243-1248.

16. Lopes, A. P., Dubey, J. P., Neto, F., Rodrigues, A., Martins, T., Rodrigues, M., & Cardoso, L. (2013). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in cattle, sheep, goats and pigs from the North of Portugal for human consumption. *Veterinary parasitology*, 193(1-3), 266-269.
17. Olsen A, Berg R, Tagel M, Must K, Deksne G, Enemark HL. (2019). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in domestic pigs, sheep, cattle, wild boars, and moose in the Nordic-Baltic region: a systematic review and meta-analysis. *Parasite Epidemiol Control*.;5:e 00100.
18. Robert-Gangneux F, Dardé ML. (2012). Epidemiology of and diagnostic strategies for toxoplasmosis. *Clin Microbiol Rev.*; 25:264–96.
19. Sharif M, Sarvi S, Shokri A, Hosseini Teshnizi S, Rahimi MT, Mizani A. *Toxoplasma gondii* infection among sheep and goats in Iran: a systematic review and meta-analysis. *Parasitol Res.* 2015; 114:1–16.
20. Stelzer S, Basso W, Benavides Silván J, Ortega-Mora LM, Maksimov P, Gethmann J, Conraths FJ, Schares G. (2019). *Toxoplasma gondii* infection and toxoplasmosis in farm animals: risk factors and economic impact. *Food Waterborne Parasitol.*;15:e00037.
21. Tonouhewa, A. B. N., Akpo, Y., Sherasiya, A., Sessou, P., Adinci, J. M., Aplogan, G. L., ... & Farougou, S. (2019). A serological survey of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goat from Benin, West-Africa. *Journal of parasitic diseases*, 43(3), 343-349.
22. Wang, C. R., Qiu, J. H., Gao, J. F., Liu, L. M., Wang, C., Liu, Q., ... & Zhu, X. Q. (2011). Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* infection in sheep and goats in northeastern China. *Small Ruminant Research*, 97(1-3), 130-133.

Seroprevalence of *Toxoplasma gondii* in Sheep and Goats in Bandar-e Torkman

Seyedeh Ommolbanin Ghasemian^{*1}, Taha Arazgoldizadeh², Shaqayeq Qannad³, Hamid Reza Pishbin³

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

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

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

***Corresponding author: Ghasemian1249yahoo.com**

Abstract:

Toxoplasmosis, caused by the protozoan *Toxoplasma gondii*, is of considerable economic importance in domestic animals, especially sheep and goats, due to early fetal death, abortion, mummification, stillbirth, and neonatal mortality. In Golestan province, as in other parts of the country, toxoplasmosis is highly prevalent in these animals, and since their meat is an important source of protein, public education and awareness are necessary for disease prevention. This study aimed to investigate the seroprevalence of *T. gondii* in sheep and goats in Bandar Turkmen. For this purpose, blood samples were collected, and after serum separation, the indirect ELISA kit from IDVET was used to detect specific anti-parasite IgG antibodies. The results showed that 15.4% of sheep and 9.1% of goats were infected. Although infection was more common in females, the difference was not statistically significant. The prevalence of toxoplasmosis increased with age, with the highest rate observed in animals over 36 months. Additionally, breed had no effect on the infection rate in sheep and goats. The serological prevalence observed in Bandar Turkmen indicates that domestic animals may play a significant role in the transmission of the disease to humans. Therefore, control, prevention, and treatment of livestock should be considered.

Keywords: Toxoplasmosis, *Toxoplasma gondii*, sheep, goat, Eliza, Bandar-e Torkman

بررسی مقایسه ای اندازه گیری میزان اشک به وسیله ی فنول رد ترید تست و شرمز تیر تست در گربه‌های پرشین نابالغ

سید مرتضی رزاقی منش^{۱*}، سیده ام البنین قاسمیان^۲، مریم کمی پور^۳، سبا بنیادی دهکردی^۴، آوا ابریشم کار^۵

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

۲- گروه دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد بهبهان، بهبهان، ایران

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

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

۵- دانشجوی علوم زیست شناسی جانوری دانشگاه گوئلف، انتاریو، کانادا

*نویسنده مسئول: Morteza_vet@yahoo.com

چکیده

این مطالعه به بررسی اثربخشی تست نخ قرمز فنل (PRT) و تست اشک شرمز (STT) در ارزیابی تولید اشک در گربه‌های نابالغ ایرانی می‌پردازد. لایه اشکی برای محافظت از سطح چشم ضروری است و ارزیابی دقیق تولید اشک در علم چشم پزشکی در حیطة دامپزشکی، به ویژه برای نژادهایی مانند گربه ایرانی که مستعد ابتلا به اختلالات چشمی هستند، حیاتی است. تعداد ۲۰ بچه گربه‌ی ایرانی با سن ۱ تا ۱۲ ماه و وزن بین $1.5 \text{ kg} \pm 300 \text{ gr}$ تا $3.5 \text{ kg} \pm 300 \text{ gr}$ وارد مطالعه شدند و به طور تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی مورد مطالعه برای تست شرمز و تست نخ قرمز فنل تقسیم‌بندی شدند. نتایج نشان می‌دهد که هر دو آزمون در سنجش میزان تولید اشک مؤثر هستند. با این حال، PRT درجه بالاتری از سهولت در تجویز و سطوح تحریک کمتری را برای گربه‌ها نشان داد. ارتباط معنی داری بین سطوح تولید اشک و سن بچه گربه‌ها پیدا شد و همچنین آزمون PRT حساسیت و ویژگی بیشتری از آزمون STT نشان داد. این یافته‌ها اطلاعات ارزشمندی را برای دامپزشکان در مورد انتخاب روش‌های مناسب برای ارزیابی تولید اشک در گربه‌های ایرانی فراهم می‌کند. این تحقیق بر اهمیت تشخیص زودهنگام و مدیریت اختلالات سطح چشم تأکید می‌کند که در نهایت به بهبود نتایج بالینی برای این نژاد کمک می‌کند. این مطالعه دانش موجود در مطالعه بیماری‌های چشمی را با برجسته کردن کاربردهای عملی تست‌های تشخیصی مناسب برای گربه‌های ایرانی غنی می‌کند.

واژگان کلیدی: تست شرمز، تست نخ فنل رد، اشک، بچه گربه پرشین

مقدمه

تصادفی به دو گروه ۱۰ تایی مورد مطالعه برای تست شرم و تست نخ قرمز فنل تقسیم شدند.

ارزیابی تولید اشک تست اشک شرم (STT)
STT به شرح زیر انجام شد:

۱. یک نوار استاندارد STT (نوارهای تست اشک Schirmer, Showa Yakuhin Kako Co., Ltd, توکیو، ژاپن) در بریدگی خم شد تا یک شکل قلاب مانند ایجاد کند.

۲. انتهای گرد نوار به آرامی در قسمت تحتانی ملتحمه هر چشم بدون بیهوشی قرار داده شد.

۳. در طول دوره آزمایش یک دقیقه‌ای چشم‌ها بسته شد.

۴. پس از یک دقیقه، نوار برداشته شد و طول خیس شدن اندازه‌گیری و بر حسب میلی متر ثبت شد.

تست نخ قرمز فنل (PRT)

تست PRT به شرح زیر انجام شد:

۱. نوار (Zone-Quick, Showa Yakuhin Kako Co., Ltd., Tokyo, Japan) بدون بیهوشی در زیر پلک پائینی هر چشم قرار داده شد.

۲. پلک‌ها به آرامی بسته شد و نوار به مدت ۱۵ ثانیه در جای خود باقی ماند.

۳. تغییر رنگ روی نوار با استفاده از رنگ سنج اندازه‌گیری و بر حسب میلی متر ثبت شد.

لایه اشکی یک جزء حیاتی از سطح چشم است که نقش حیاتی در محافظت از چشم، لغزندگی و حفظ سطح انکساری صاف دارد (۱). ارزیابی تولید اشک یک ابزار تشخیصی مهم در معاینه چشم در حیطه‌ی دامپزشکی است، زیرا ناهنجاری‌ها در عملکرد لایه اشکی می‌تواند منجر به اختلالات مختلف سطح چشم شود (۲). دو تست متداول برای ارزیابی تولید اشک در گربه‌ها، تست اشک شرم (STT) و تست نخ قرمز فنل (PRT) است (۳). میزان تولید اشک در تست شرم (STT) را با قرار دادن یک نوار کاغذی استاندارد در قسمت پایین ملتحمه و اندازه‌گیری طول خیس شدن آن پس از یک دوره زمانی مشخص اندازه‌گیری می‌شود (۴). آزمایش PRT از یک نخ آغشته به رنگ قرمز فنل استفاده می‌شود که در تماس با اشک تغییر رنگ می‌دهد و امکان ارزیابی کمی تولید اشک را فراهم می‌کند (۵). در حالی که هر دو تست STT و PRT در بیماران گربه سان مورد استفاده قرار می‌گیرند، تحقیقات محدودی را برای مقایسه عملکرد آنها به خصوص در بچه گربه‌های نژاد ایرانی (پرشین) فراهم می‌سازد (۳). گربه پرشین نژاد محبوبی است، اما مستعد ابتلا به اختلالات سطح چشمی مختلف است که ممکن است بر عملکرد لایه اشکی تأثیر بگذارد (۲). درک کاربرد تست‌های تشخیصی در این نژاد، به ویژه در مرحله نابالغی گربه که بسیاری از مشکلات چشمی برای اولین بار ظاهر می‌شوند، می‌تواند نتایج بالینی مهمی داشته باشد (۶).

مواد و روش کار

طراحی مطالعه

این یک کارآزمایی بالینی آینده نگر، تصادفی بود که تست شرم (STT) و تست نخ قرمز فنل (PRT) را در ارزیابی تولید اشک در بچه گربه‌های سالم ایرانی مقایسه کرد. ۲۰ بچه گربه ایرانی با سن ۱ تا ۱۲ ماه و وزن $300 \pm 1.5 \text{ kg}$ gr تا $300 \pm 3.5 \text{ kg}$ gr وارد مطالعه شدند. بچه گربه‌ها به طور

تحلیل آماری

برای تمامی متغیرها آمار توصیفی محاسبه شد. برای مقایسه مقادیر STT و PRT در هر گروه از آزمون T زوجی استفاده شد. ضریب همبستگی پیرسون برای ارزیابی رابطه بین نتایج آزمون، سن و وزن بدن محاسبه شد. حساسیت و ویژگی آزمون PRT با استفاده از STT به عنوان استاندارد طلایی تعیین شد. سطح تحریک و تأثیر روی سطح چشم مرتبط با هر آزمایش نیز مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج

مقادیر تست اشک شمر (STT) و نخ قرمز فیل (PRT) میانگین مقادیر STT برای گروه‌های a و b به ترتیب 12.5 ± 1.2 و 14.8 ± 1.5 میلی متر بود. میانگین مقادیر PRT برای گروه‌های a و b به ترتیب 10.2 ± 1.1 و 12.5 ± 1.3 میلی متر بود.

گروه	PRT	STT
a	10.2 ± 1.1	12.5 ± 1.2
b	12.5 ± 1.3	14.8 ± 1.5

جدول ۱: میانگین مقادیر STT و PRT

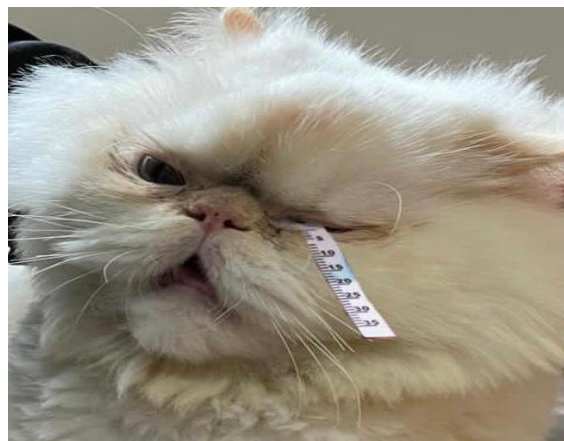
مقایسه مقادیر STT و PRT

آزمون T زوجی تفاوت آماری معنی‌داری را بین مقادیر STT و PRT نشان داد ($p < 0.001$). مقادیر STT به طور قابل توجهی بالاتر از مقادیر PRT بود.

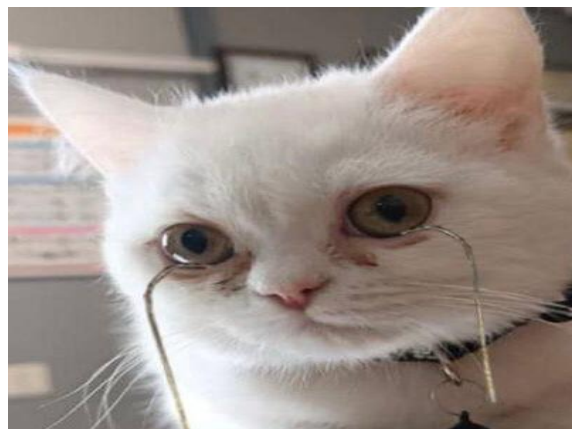
گروه سنی (ماه)	میانگین STT (میلیمتر)	انحراف معیار
۱-۳	۱۵	۲/۵
۴-۶	۱۷	۳
۷-۹	۱۶	۲/۸
۱۰-۱۲	۱۴	۲

جدول ۲: مقادیر STT در گروه‌های مختلف

هر دو تست STT و PRT سه بار بر روی هر چشم انجام شد و مقادیر میانگین برای تجزیه و تحلیل استفاده شد.



شکل ۱: تست شمر



شکل ۲: تست فیل رد

جمع‌آوری داده‌ها

داده‌های سن (ماه)، وزن بدن (کیلوگرم)، مقادیر STT (mm) و مقادیر PRT (mm) و نمره سلامت سطح چشم (مقیاس ۰-۳) زیر برای هر بچه گربه جمع‌آوری شد.

STT در مقایسه با تست PRT به طور قابل توجهی بیشتر بود ($p < 0.001$).

نوع تست	میانگین سطح تحریک (از مقیاس ۱ تا ۱۰)
PRT	۳
STT	۵

جدول ۶: ارزیابی سطح تحریک مرتبط با هر تست

همبستگی تولید اشک با وزن و سن بدن
تجزیه و تحلیل همبستگی نشان داد که بین تولید اشک و وزن بدن همبستگی مثبت و معنادار وجود دارد ($r = 0.85$ ، $p < 0.001$). همبستگی بین تولید اشک و سن نیز معنی دار بود ($r = 0.75$ ، $p < 0.01$). همبستگی بین وزن بدن و سن معنی دار نبود ($r = 0.45$ ، $p > 0.13$).

Body weight and tear production	$p < 0.001$ ، $r = 0.85$
Age and tear production	$p < 0.01$ ، $r = 0.75$

جدول ۷: همبستگی تولید اشک با وزن و سن

همبستگی تولید اشک با پارامترهای چشمی
تجزیه و تحلیل همبستگی یک همبستگی مثبت و معنادار را بین تولید اشک و عرض کره چشم نشان می دهد ($r = 0.85$ ، $P < 0.001$). همبستگی بین تولید اشک و طول کره چشم نیز معنی دار بود ($r = 0.75$ ، $p < 0.01$). همبستگی بین تولید اشک و عمق کره چشم معنی دار نبود ($r = 0.45$ ، $P = 0.13$). نتایج این مطالعه نشان دهنده همبستگی مثبت و معنادار بین تولید اشک و وزن بدن در گربه ایرانی است. این نشان می دهد که با افزایش وزن گربه های ایرانی، تولید اشک آنها افزایش می یابد. همبستگی بین تولید اشک و سن نیز معنی دار بود که نشان می دهد با افزایش سن گربه های ایرانی، تولید اشک آنها کاهش می یابد. همبستگی بین وزن بدن و سن معنی دار نبود که نشان می دهد این دو متغیر به هم مرتبط نیستند. تجزیه و تحلیل همبستگی یک همبستگی مثبت معنی دار را بین تولید اشک و عرض کره چشم نشان می دهد، که نشان می دهد با افزایش عرض کره چشم، تولید اشک نیز افزایش می یابد. همبستگی بین تولید اشک و طول کره چشم نیز

گروه سنی (ماه)	میانگین PRT (میلی متر)	انحراف معیار
۱-۳	۱۲	۲
۴-۶	۱۴	۲/۵
۷-۹	۱۳	۲/۳
۱۰-۱۲	۱۱	۱/۸

جدول ۱: مقادیر PRT در گروه های مختلف

گروه سنی (ماه)	میانگین PRT (میلی متر)	میانگین STT (میلی متر)	انحراف معیار PRT	انحراف معیار STT
۱-۳	۱۲	۱۵	۲	۲/۵
۴-۶	۱۴	۱۷	۲/۵	۳
۷-۹	۱۳	۱۶	۲/۳	۲/۸
۱۰-۱۲	۱۱	۱۴	۱/۸	۲

جدول ۲: مقایسه نتایج PRT با STT

تجزیه و تحلیل همبستگی

ضریب همبستگی پیرسون بین مقادیر STT و PRT ($p < 0.001$) بود که نشان دهنده همبستگی مثبت قوی بین دو آزمون است.

حساسیت و ویژگی تست PRT

حساسیت تست PRT ($CI: 0.75-0.95$) / 0.85 و ویژگی ($CI: 0.85-1.00$) / 0.95 بود. ارزش اخباری مثبت ($CI: 0.85-1.00$) / 0.95 و ارزش اخباری منفی ($CI: 0.75-0.95$) / 0.85 بود.

پارامتر (/)	STT	PRT
حساسیت	۸۰	۸۵
ویژگی	۸۰	۹۵
دقت	۸۲	۹۲

جدول ۵: مقایسه حساسیت و ویژگی PRT نسبت به STT

سطح تحریک و تأثیر بر سطح چشم

سطح تحریک مرتبط با STT به طور قابل توجهی بالاتر از تست PRT بود ($p < 0.001$). تأثیر روی سطح چشم نیز برای

از ابزارهای ارزشمند در تشخیص و مدیریت اختلالات مختلف سطح چشم مانند سندرم چشم خشک یا کراتوکنژکتیویت سیکا (KCS)، یک بیماری شایع است که با تولید ناکافی اشک یا تبخیر بیش از حد لایه اشکی مشخص می شود است. تست اشک شمرر ابزار تشخیصی اولیه است که برای تأیید وجود اشک و راهنمایی درمان مناسب استفاده می شود. آزمایش اشک شمرر می تواند به تمایز بین انواع مختلف التهاب ملتحمه مانند مواردی که در اثر عوامل عفونی، آلرژی ها، یا شرایط ناشی از سیستم ایمنی ایجاد می شود، کمک کند. کاهش تولید اشک ممکن است با اشکال خاصی از التهاب ملتحمه همراه باشد. ناهنجاری های لایه اشکی می تواند به ایجاد زخم قرنیه کمک کند. آزمایش اشک شمرر در شناسایی کمبودهای اساسی اشک که ممکن است بیمار را مستعد بیماری زخم قرنیه کند و در مدیریت درمان تأثیرگذار است. نژادهای براکی سفالیک مانند گربه ایرانی و گربه هیمالیا به دلیل آناتومی منحصر به فرد صورت خود مستعد ابتلا به اختلالات مختلف سطح چشم هستند. آزمایش اشک شمرر می تواند برای ارزیابی تولید اشک در این نژادها و کمک به مدیریت شرایطی مانند سندرم چشم خشک استفاده شود. آزمایش نخ قرمز فنل (PRT) روشی غیرتهاجمی، ساده و قابل اعتماد برای اندازه گیری تولید اشک در حیوانات است. این یک جایگزین برای تست شمرر است و کمتر تحریک کننده و سریعتر انجام می شود. این آزمایش برای ارزیابی عملکرد غده اشکی، که لایه آبی اشک را تولید می کند، استفاده می شود. آزمایش PRT معمولاً در دامپزشکی برای تشخیص و مدیریت سندرم چشم خشک که به عنوان کراتوکنژکتیویت سیکا (KCS) نیز شناخته می شود، استفاده می شود. همچنین برای ارزیابی اثربخشی درمان سندرم چشم خشک و نظارت بر پیشرفت بیماری استفاده می شود. نتایج این مطالعه نشان می دهد که آزمون PRT روشی مطمئن و دقیق برای ارزیابی تولید اشک در بچه گربه های ایرانی سالم است. مقادیر تست PRT به شدت با مقادیر STT همبستگی داشت و حساسیت و ویژگی تست PRT بالا بود. سطح تحریک و تأثیر روی سطح

معنی دار بود، که نشان می دهد با افزایش طول کره چشم، تولید اشک نیز افزایش می یابد. همبستگی بین تولید اشک و عمق کره چشم معنی دار نبود که نشان می دهد این دو متغیر به هم مرتبط نیستند.

بحث

لایه اشکی ساختار پیچیده ای است که از سه لایه مجزا تشکیل شده است: لایه لیپیدی بیرونی، لایه آبی میانی و لایه موسین داخلی می باشد لایه اشکی یک لایه نازک و شفاف از مایع است که سطح چشم را می پوشاند و عملکردهای ضروری مانند لغزندگی، محافظت و تغذیه را انجام می دهد. لایه اشکی سطح چشم را روان می کند و اصطکاک و تحریک را در هنگام پلک زدن و حرکات چشم کاهش می دهد (۱). همچنین به حفظ هیدراتاسیون قرنیه و ملتحمه کمک می کند و از خشکی و تحریک چشم جلوگیری می کند. لایه آبی اشکی مسئول لغزندگی است، در حالی که لایه موسین به پخش شدن اشک به طور یکنواخت روی سطح چشم و تغذیه لایه های زیرین قرنیه کمک می کند و مواد مغذی ضروری و فاکتورهای رشد را فراهم می کند. لایه اشکی مانند یک مانع در برابر ذرات خارجی، گرد و غبار و سایر موادی است که به طور بالقوه می توانند به چشم آسیب برسانند. حاوی عوامل ضد میکروبی است که به جلوگیری از عفونت، و بهبودی کمک می کند. لایه لیپیدی اشکی به کاهش سرعت تبخیر اشک کمک می کند و از خشکی و تحریک چشم جلوگیری می کند. لایه اشکی مواد مغذی ضروری قرنیه و ملتحمه را فراهم می کند و باعث رشد و نگهداری بافت سالم می شود لایه اشکی با کاهش پراکندگی نور و بهبود کیفیت تصویر شبکیه به حفظ وضوح دید کمک می کند. لایه اشکی حاوی ایمونوگلوبولین ها و سایر سلول های ایمنی است که به محافظت از چشم در برابر عوامل بیماری زا کمک می کند. هر گونه اختلال در لایه اشکی مانند سندرم خشکی چشم می تواند منجر به طیف وسیعی از مشکلات چشمی از جمله فرسایش قرنیه، عفونت و مشکلات بینایی شود. تست اشک شمرر و تست نخ قرمز فنل

چشم مرتبط با تست PRT در مقایسه با STT به طور قابل توجهی کمتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که آزمایش PRT ممکن است روش راحت‌تر و مؤثرتری برای ارزیابی تولید اشک در بچه گربه‌های ایرانی باشد. نتایج مطالعه ما نشان دهنده این است که همبستگی بین تولید اشک و سن نیز معنی دار بود. که نشان می‌دهد با افزایش سن گربه‌های ایرانی، تولید اشک آنها کاهش می‌یابد. که با یافته‌های به دست آمده در مطالعه سالم و همکاران (۲۰۲۳) همخوانی ندارد. زیرا این محققین نیز گزارش نمودند که تفاوت آماری معنی‌داری بین تولید اشک با افزایش سن وجود نداشته، ولی با یافته‌های بدست آمده در مطالعه رجایی و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی دارد. زیرا محقق نیز گزارش نمودند که تفاوت معنی‌داری بین مقادیر تست اشک شرم‌ر در بچه گربه‌ها و گربه‌های سایر گروه‌های سنی وجود داشت. این مطالعه نشان‌دهنده این است که تست اشک شرم‌ر قادر به ارائه اطلاعات مفیدی درباره تولید اشک است و از ابزارهای ارزشمند در تشخیص و مدیریت اختلالات مختلف سطح چشم است. که با یافته‌های به دست آمده در مطالعه اوئل و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی دارد. با افزایش مقدار تست شرم‌ر در دو بار ارزیابی مجدد متوالی مشاهده شد پاسخ به درمان تعریف شده. این مطالعه نشان دهنده این است از ابزارهای تشخیصی جدیدتری برای ارائه ارزیابی جامع‌تری از فعالیت لایه اشکی که در حال توسعه هستند می‌شود استفاده کرد که یک مورد از این ابزارها ارزیابی ارتفاع منیسک اشک در پلک پایین است که می‌تواند اطلاعات بیشتری در مورد حجم اشک ارائه دهد (۱۸). که با یافته‌های بدست آمده در مطالعه کوالسکی و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی دارد (۱۹). منیسکومتری (SM) برای ارزیابی تولید اشک استفاده می‌شود و SM باید بر اساس وضعیت بالینی حیوان و نتایج سایر ابزارهای تشخیصی ارزیابی شود. این مطالعه نشان دهنده این است نژادهای براکی سفالیک مانند گربه ایرانی و گربه هیمالیا به دلیل آناتومی منحصر به فرد صورت خود مستعد ابتلا به اختلالات مختلف سطح چشم هستند. آزمایش اشک شرم‌ر

می‌تواند برای ارزیابی تولید اشک در این نژادها و کمک به مدیریت شرایطی مانند سندرم چشم خشک استفاده شود. که با یافته‌های بدست آمده در مطالعه کوالسکی و همکاران (۲۰۲۱) همخوانی دارد. تست اشک شرم‌ر با توجه به موقعیت آناتومی چشم گربه‌های براکی سفالیک و وضعیت بالینی حیوان میزان تولید اشک را ارزیابی می‌کند. این مطالعه نشان دهنده این است گربه پرشین نژاد پرترفداری است اما مستعد ابتلا به اختلالات مختلف چشمی است به ویژه در مرحله‌ی نابالغی گربه، که ممکن است این اختلالات بر عملکرد لایه اشکی تأثیر بگذارند. تشخیص زودهنگام و مدیریت اختلالات سطح چشم در بچه گربه‌های ایرانی بسیار مهم است. تست اشک شرم‌ر با اندازه‌گیری میزان تولید اشک در تشخیص زودهنگام اختلالات سطح چشم کمک کننده است. که با یافته‌های به دست آمده در مطالعه رجایی و همکاران (۲۰۱۹) همخوانی دارد (۱۸). تفاوت معنی‌داری بین مقادیر تست اشک شرم‌ر در بچه گربه‌های ایرانی با سن ۶ ماه یا کمتر و گربه‌های سایر گروه‌های سنی وجود داشت. این مطالعه نشان دهنده این است از آزمایش نخ قرمز فتل (PRT) برای ارزیابی عملکرد غده اشکی، که لایه آبی اشک را تولید می‌کند، استفاده می‌شود. آزمایش نخ قرمز فتل ابزار ارزشمندی برای ارزیابی تولید اشک است اما محدودیت‌هایی دارد. این که فقط لایه آبی اشکی را اندازه می‌گیرد و به این خاطر معمولاً در دامپزشکی برای تشخیص و مدیریت سندرم چشم خشک یا کراتوکنژکتیویت سیکا (KCS) که یک بیماری شایع است که با تولید ناکافی اشک یا تبخیر بیش از حد لایه اشکی ایجاد می‌شود استفاده می‌شود. که با یافته‌های بدست آمده در مطالعه سالم و همکاران (۲۰۲۳) همخوانی دارد (۱۷). یافته‌های تست نخ قرمز فتل در این مطالعه می‌تواند به عنوان مقادیر مرجع در تشخیص بیماری‌های چشمی مؤثر بر توانایی تولید اشک گربه‌های وان استفاده شود. نتایج این مطالعه نشان دهنده همبستگی مثبت و معنادار بین تولید اشک و وزن بدن در گربه ایرانی است. همبستگی بین تولید اشک و سن نیز معنی دار بود که نشان

($P < .001$). تأثیر روی سطح چشم نیز برای STT در مقایسه با آزمون PRT به طور قابل توجهی بیشتر بود ($P < .001$). این نشان می‌دهد که آزمون PRT یک روش راحت‌تر و کمتر تحریک‌کننده برای ارزیابی تولید اشک در گربه‌ها است. اما PRT به دلیل سادگی و راحتی در استفاده، مزایای خاصی را ارائه می‌دهد. میانگین نتایج STT و PRT به ترتیب ۱۵ میلی‌متر و ۱۲ میلی‌متر در یک دقیقه بود که نشان دهنده همبستگی مثبت بین دو روش است. این یافته‌ها با مطالعات قبلی که نشان دهنده همبستگی بین STT و PRT در دیگر نژادهای گربه ای بودند، مطابقت دارد.

نتیجه‌گیری

این مطالعه به مقایسه دو روش رایج اندازه‌گیری تولید اشک، یعنی تست اشک شمر (STT) و تست نخ قرمز فیل (PRT) در گربه‌های پرشین نابالغ پرداخته است. نتایج نشان داد که هر دو تست قادر به ارائه اطلاعات مفیدی درباره تولید اشک هستند، آزمون PRT کمتر تحریک‌کننده و سریع‌تر از آزمون STT است. آزمون PRT یک روش مطمئن و دقیق برای ارزیابی تولید اشک در بچه‌گربه‌های ایرانی سالم است. مقادیر تست PRT به شدت با مقادیر تست STT همبستگی داشت و حساسیت و ویژگی تست PRT بالا بود. سطح تحریک و تأثیر روی سطح چشم مرتبط با تست PRT در مقایسه با تست STT به طور قابل توجهی کمتر بود. این یافته‌ها نشان می‌دهد که آزمایش PRT ممکن است روش راحت‌تر و مؤثرتری برای ارزیابی تولید اشک در بچه‌گربه‌های ایرانی باشد. حساسیت و ویژگی بیشتری از آزمون STT دارد، بنابراین برای تشخیص سندرم چشم خشک در گربه‌ها بهتر است.

می‌دهد با افزایش سن گربه‌های ایرانی، تولید اشک آن‌ها کاهش می‌یابد. تجزیه و تحلیل همبستگی یک همبستگی مثبت معنی‌دار را بین تولید اشک و عرض کره چشم نشان داد، که نشان می‌دهد با افزایش عرض کره چشم، تولید اشک نیز افزایش می‌یابد. نتایج مطالعه مقایسه آزمون اشک شمر (STT) و آزمون نخ قرمز فیل (PRT) در گربه‌ها به قرار زیر است:

نتایج این مطالعه نشان می‌دهند که آزمون PRT یک روش قابل اعتماد و دقیق برای ارزیابی تولید اشک در گربه‌ها است. آزمون PRT کمتر تحریک‌کننده و سریع‌تر از آزمون STT است، بنابراین در گربه‌ها راحت‌تر از آن استفاده می‌شود. آزمون PRT همچنین حساسیت و ویژگی بیشتری از آزمون STT دارد، بنابراین برای تشخیص سندرم خشکی چشم در گربه‌ها بهتر است. میانگین مقادیر STT برای گروه‌های a و b به ترتیب 12.5 ± 1.5 میلی‌متر و 14.8 ± 1.5 میلی‌متر بود. میانگین مقادیر PRT برای گروه‌های a و b به ترتیب 10.2 ± 1.1 میلی‌متر و 12.5 ± 1.3 میلی‌متر بود. نتایج نشان می‌دهند که حساسیت آزمون PRT کمتر از آزمون STT است، اما ویژگی آن بیشتر است. ضریب همبستگی پیرسون بین مقادیر STT و PRT ($P < .001$) ۰.۸۵ بود که نشان دهنده همبستگی قوی مثبت بین دو آزمون است. این نشان می‌دهد که آزمون PRT یک روش قابل اعتماد برای ارزیابی تولید اشک در گربه‌ها است و نتایج آن با نتایج آزمون STT همخوانی دارد. حساسیت تست PRT (۰.۹۵-۰.۷۵ CI: ۰.۹۵) و ویژگی (۰.۸۵-۱.۰۰ CI: ۰.۹۵) ۰.۷۵ بود. ارزش اخباری مثبت (۰.۸۵-۱.۰۰ CI: ۰.۹۵) ۰.۹۵ و ارزش اخباری منفی (۰.۷۵-۰.۹۵ CI: ۰.۸۵) ۰.۸۵ بود. این نتایج نشان می‌دهند که آزمون PRT یک روش قابل اعتماد برای تشخیص سندرم خشکی چشم در گربه‌ها است و نتایج آن با نتایج آزمون STT همخوان است. سطح تحریک مرتبط با STT به طور قابل توجهی بالاتر از آزمون PRT بود (۰.۰۰۱).

منابع

1. Sağlam, K., & Düz, E. (2023). Measurement of Tear Production in Van Cats with the Phenol Red Thread Test. *Van Veterinary Journal*, 34(1), 14-17.
2. Ghosh P., & Sharma A.K. (2018). Comparative Evaluation of Schirmer Tear Test and Phenol Red Thread Test in Canines: An Experimental Study. **Journal of Veterinary Science**, 19(4), 543-547.
3. Hargis A.M., & Drobatz K.J. (2017). Diagnosis and Management of Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs and Cats: A Review Article. **Veterinary Clinics: Small Animal Practice**, 47(5), 1007-1020.
4. Dwyer C.N., & Lappin M.R. (2015). Ocular Surface Disease in Cats: Clinical Signs and Treatment Options for Keratoconjunctivitis Sicca and Other Conditions Affecting Tear Production and Quality. *Journal of Feline Medicine and Surgery**, 17(6), 511-522.
5. Wilkie D.A., & Maggs D.J. (2004). Clinical Assessment of Tear Production in Dogs Using the Schirmer Tear Test and Phenol Red Thread Test: A Comparative Study of Two Techniques in Healthy Dogs and Those with Ocular Disease. *Veterinary Ophthalmology**, 7(2), 87-92.
6. Rojas C.V., et al. (2020). Evaluation of Tear Production Tests in Dogs with Chronic Keratoconjunctivitis Sicca: A Multicenter Study on Diagnostic Accuracy and Clinical Relevance. *BMC Veterinary Research*, 16(1), Article No.: 123.
7. Wilkie D.A., et al. (2000). The Effectiveness of Topical Cyclosporine for Treating Keratoconjunctivitis Sicca in Dogs: A Clinical Study on Long-term Outcomes and Prognosis Factors for Response to Therapy. **Veterinary Ophthalmology**, 3(3), 157-164.
8. Trost K. (2015). Clinical Findings Associated with Aqueous Tear Deficiency in Companion Animals. *Veterinary Clinics: Small Animal Practice*.
9. Moore C.P. (2018). Role of Environmental Factors on Ocular Health Among Domestic Animals. *Journal of Veterinary Science*.
10. Tighe S.N. (2020). Comparative Analysis Between Schirmer's Test Variants Across Different Species. *Veterinary Ophthalmology*.
11. Hayat, A., & Biricik, H. S. (2014). Measurement of Tear Secretion in Healthy Pigeons by Using the Phenol Red Thread Test. *Veterinary Record*, 175(23), 594-594.
12. McLellan G.J., & McCulloch M.E.F. (2008). Evaluation of the Phenol Red Thread Test for Measuring Tear Production in Dogs and Cats: A Review. **Veterinary Ophthalmology**, 11(3), 166-170.
13. Trost, K., Skalicky, M., & Nell, B. (2007). Schirmer Tear Test, Phenol Red Thread Tear Test, Eye Blink Frequency and Corneal Sensitivity in the Guinea Pig. *Veterinary Ophthalmology*, 10(3), 143-146.
14. Holt, E., Rosenthal, K., & Shofer, F. S. (2006). The Phenol Red Thread Tear Test in Large Psittaciformes. *Veterinary Ophthalmology*, 9(2), 109-113.

15. Sebbag, L., Uhl, L. K., Schneider, B., Hayes, B., Olds, J., & Mochel, J. P. (2020). Investigation of Schirmer Tear Test-1 for Measurement of Tear Production in Cats in Various Environmental Settings and with Different Test Durations. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 256(6), 681-686.
16. Mantyh, P. W. (1983). The Terminations of the Spinothalamic Tract in the Cat. *Neuroscience Letters*, 38(2), 119-124.
17. Uhl, L. K., Saito, A., Iwashita, H., Maggs, D. J., Mochel, J. P., & Sebbag, L. (2019). Clinical Features of Cats with Aqueous Tear Deficiency: A Retrospective Case Series of 10 Patients (17 Eyes). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 21(10), 944-950.
18. Harvey R.G., Harari J., Delauche A.J., eds. Diagnostic Procedures for Ear Diseases of the Dog and Cat. Ames, IA: Iowa State University Press; 2001: 43-79.
19. Strain G.M., Tedford B.L., Jackson R.M. Postnatal Development of the Brain Stem Auditory-Evoked Potential in Dogs. American Journal of Veterinary Research, 1991; 52: 410-5.

Investigation of Tear Measurement Methods (STT, PRT) in Immature Persian cat

Seyed Morteza Razaghimanesh ^{*1}, Seyedeh Omolbanin Ghasemian², Maryam Kamipour³, Saba Bonyadi Dehkordi⁴, Ava Abrishamkar⁵

- 1- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Agriculture and Veterinary Medicine, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
- 2- Department of Veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Behbahan Branch, Behbahan, Iran
- 3- Doctor of Veterinary Medicine graduate, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
- 4- Doctor of Veterinary Medicine student, Shushtar Branch, Islamic Azad University, Shushtar, Iran
- 5- Animal Biology student at the University of Guelph, Ontario, Canada

*Corresponding author: Morteza_vet@yahoo.com

Abstract

This study investigated the effectiveness of the phenol red thread test (PRT) and the Schermer tear test (STT) in assessing tear production in immature Persian cats. The tear film is essential for protecting the ocular surface, and accurate assessment of tear production is crucial in veterinary ophthalmology, especially for breeds such as the Persian cat that are prone to ocular disorders. Twenty Persian kittens aged 6 to 12 weeks were randomly assigned to two groups of 10 for the Schermer test and the phenol red thread test. The results show that both tests are effective in measuring tear production. However, the PRT showed a higher degree of ease of administration and lower levels of irritation to the cats. A significant correlation was found between tear production levels and the age of the kittens, while the PRT showed comparable sensitivity and specificity to the STT. These findings provide valuable information for veterinarians regarding the selection of appropriate methods for assessing tear production in Persian cats. This research emphasizes the importance of early detection and management of ocular surface disorders, which ultimately helps improve clinical outcomes for this breed. This study enriches the existing knowledge in the study of ocular diseases by highlighting the practical applications of appropriate diagnostic tests for Persian cats.

Key words: STT, PRT, Tear film, Immature Persian Cat

مقایسه اثرات بیهوشی زایلازین-کتامین با آسپرومازین-کتامین بر فاکتورهای تنفسی در بز

نوشین قوامی^{۱*}، سید رسول مرعشی پور^۲، بهنام پدرام^۲، علی ابوترابی^۴

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

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

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

*نویسنده مسئول: Nooshghavami@gmail.com

چکیده

جهت کاهش خطرات بیهوشی در بزها، انتخاب داروهایی که کمترین آسیب را به بدن وارد می کنند، اهمیت دارد. هدف از این پژوهش، مقایسه اثرات بیهوشی زایلازین-کتامین با آسپرومازین-کتامین بر فاکتورهای تنفسی در بز بود. در این مطالعه از ۶ بز ماده در محدوده وزنی ۱۹-۲۹ کیلوگرم و همچنین سن ۱۸-۲۴ ماه استفاده شد. بزها به دو گروه سه تایی تقسیم شدند. به گروه ۱، زایلازین-کتامین به ترتیب با دوزهای ۰/۲ و ۱۰ میلی گرم پرکیلوگرم تزریق شد و همچنین به گروه ۲، آسپرومازین-کتامین به ترتیب با دوزهای ۰/۵ و ۱۱ میلی گرم پرکیلوگرم، تزریق شد. داروهای زایلازین و آسپرومازین، هرکدام به روش عضلانی تزریق شدند و کتامین به صورت وریدی تزریق شد. فاکتورهای تنفسی هر گروه، در زمان قبل بیهوشی و ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ بعد از بیهوشی، اندازه گیری و با یکدیگر مقایسه شدند. در بیهوشی با زایلازین-کتامین، نسبت به آسپرومازین-کتامین، تعداد تنفس در مدت زمان طولانی تری کاهش یافت؛ همچنین فشار نسبی اکسیژن شریانی، در بیهوشی با زایلازین-کتامین، کاهش شدیدتر و سریع تری داشت و در مقابل، فشار نسبی دی اکسید کربن، افزایش شدیدتر و سریع تری داشت. ترکیب آسپرومازین-کتامین نسبت به زایلازین-کتامین با توجه به تاثیرات کمتر آن روی فشار نسبی اکسیژن؛ مناسب تر بود.

واژه‌های کلیدی: بیهوشی، زایلازین، آسپرومازین، بز، فاکتورهای تنفسی

مقدمه

کسب شده با یکدیگر مقایسه شدند. امید است تا این اطلاعات مورد توجه دامپزشکان قرار گیرد.

مواد و روش کار

در این پژوهش ۶ راس بز ماده نژاد بومی ایران که از نظر بالینی و آزمایشگاهی سلامت آنها تایید شده بودند با وزن تقریبی ۱۹-۲۹ کیلوگرم و محدوده سنی ۱۸-۲۴ ماه خریداری شدند. بزها به دو گروه سه تایی تقسیم شدند. آزمایش گروه ۱ در روز اول و گروه ۲ در روز دوم انجام شد. برای انجام این آزمایشها، ۱۲ ساعت قبل از هر بیهوشی به بزها پرهیز غذایی داده شد (۱۶). میزان تجویز داروهای هر گروه به صورت جداگانه به صورت زیر است:

۱- گروه ۱: دریافت کننده زایلازین هیدروکلراید ۲٪ شرکت آلفاسان (۲/۰ میلی گرم پرکیلوگرم، تزریق داخل عضلانی)، ۱۵ دقیقه قبل از به کارگیری کتامین هیدروکلراید ۱۰٪ شرکت آلفاسان (۱۰ میلی گرم پرکیلوگرم، تزریق داخل وریدی).

۲- گروه ۲: دریافت کننده آسپرومازین مالئات ۲٪ شرکت آلفاسان (۵/۰ میلی گرم پرکیلوگرم، تزریق داخل عضلانی) ۱۵ دقیقه قبل از تزریق کتامین هیدروکلراید ۱۰٪ (۱۰ میلی گرم پرکیلوگرم، تزریق داخل وریدی).

انتخاب داروهای مناسب پیش بیهوشی بر اساس گونه، نژاد، نوع داروی بیهوشی اصلی، نوع عمل جراحی و وضعیت سلامتی بیمار متفاوت است. داروهای پیش بیهوشی، شامل دسته های مختلف از جمله فنوتیازینی ها^۱ و آگونیست های آلفا^۲ می باشند (۱). آسپرومازین^۳ جز دسته ی فنوتیازینی ها می باشد. این دارو به دلیل تاثیر بر ناحیه ی حساس گیرنده های شیمیایی در مغز، عمل ضد استفراغی دارد و فاقد اثرات ضد دردی است. زمانی که آسپرومازین با دیگر داروهای تضعیف کننده سیستم عصبی مرکزی استفاده شود، تضعیف تنفس ممکن است دیده شود (۴، ۲). زایلازین^۴ جز دسته آگونیست های آلفا^۲ می باشد. این دارو مرکز تنفسی را تضعیف می کند و به کاهش تعداد تنفس و افزایش فشار CO₂ خون می انجامد. (۱۱). کتامین^۵ از دسته ی داروهای بیهوشی تفکیکی است. وقتی که داروهای تضعیف کننده دستگاه عصبی مرکزی در ترکیب با کتامین به کار می رود، هیپوکسی و افزایش دی اکسید کربن خون مشاهده می گردد (۲۵). کتامین سبب تضعیف مرکز تنفس و افزایش CO₂ خون می شود (۸). در این مقاله از دو ترکیب دارویی زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین جهت القای بیهوشی بز استفاده شد. اثرات بیهوشی زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین بر دستگاه تنفسی بررسی و اطلاعات

روش گام اول آزمایش، در گروه ۱ و ۲ مشابه بود. قبل از بیهوشی تعداد تنفس بزها اندازه گیری شد. محلول لیدوکائین ۱٪ (شرکت رویان دارو) در قسمت میانی ناودان وداجی به صورت طولی و زیرجلدی برای ایجاد بی حسی موضعی تزریق شد. سپس با ایجاد برش طولی ۵ سانتی متری در ناحیه وداج، عضله جناغی راسی با عمل کندکاری کنار زده و تنه واگوسمپاتیک از کنار شریان کاروتید به روش کندکاری جدا شد.

آسپرومازین ۱۵ دقیقه به حیوان فرصت داده شد سپس کتامین هیدروکلراید ۱۰٪ به مقدار ۱۰ میلی گرم پرکیلوگرم به ورید وداج سمت راست تزریق شد و به ترتیب در زمان‌های ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق کتامین، نمونه خون گرفته و تعداد تنفس ثبت شد. بعد از پایان دقیقه ۶۰ نمونه‌های گرفته شده به روش مذکور به آزمایشگاه ارسال شدند (۱۹).

نتایج

در ابتدا و انتهای شریان در موضع عمل دو حلقه نخ کات کوت جداگانه دور شریان گذاشته شدند. حدود ۲ سی سی خون گرفته شد؛ خون گرفته شده با هیپارین آغشته شد. در همین زمان، قبل از بیهوشی محسوب می‌شد (۲،۳،۴). در گام دوم گروه ۱، از زایلازین هیدروکلراید ۲٪ به میزان ۰/۲ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به عضله نیم وتری و نیم غشایی حیوان تزریق شد. برای ایجاد اثر آرام بخشی زایلازین ۱۵ دقیقه به حیوان فرصت داده شد (۱۸). کتامین هیدروکلراید ۱۰٪ به مقدار ۱۰ میلی گرم پرکیلوگرم به ورید وداج سمت راست تزریق شد. به ترتیب در زمان‌های ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۵ و ۶۰ دقیقه بعد از تزریق کتامین، نمونه خون گرفته شد و متوسط تعداد تنفس در دقیقه ثبت شد. بعد از پایان دقیقه ۶۰ تمام نمونه‌های گرفته شده در مجاورت یخ در ظرف عایق حرارت به آزمایشگاه ارسال شدند. در گام دوم گروه ۲، از آسپرومازین مالئات ۲٪ به میزان ۰/۵ میلی گرم پرکیلوگرم در عضله نیم وتری و نیم غشایی حیوان تزریق شد. برای ایجاد اثر آرام بخشی

برای مقایسه میانگین فاکتورهای اندازه گرفته شده در زمان‌های مختلف، با زمان صفر برای هر گروه به صورت جداگانه و همچنین مقایسه دو گروه با یکدیگر از روش آماری آزمون T (Student s t test) استفاده شد و ارزش P کمتر از ۰/۰۵ از نظر آماری معنی دار محسوب شد.

مقایسه اثر زایلازین-کتامین در گروه ۱ با آسپرومازین-کتامین در گروه ۲ بر تعداد تنفس نشان داد میانگین تعداد تنفس پس از بیهوشی با زایلازین-کتامین (گروه ۱)، ابتدا افزایش و از دقیقه ۱۵ به بعد کاهش یافت. در صورتی که پس از بیهوشی با آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)، ابتدا تعداد تنفس افزایش و از دقیقه ۵ به بعد، کاهش یافت. تعداد تنفس در دقایق ۱۵ و ۳۰ پس از بیهوشی، میان گروه ۱ و ۲، اختلاف معنی داری داشت ($P < 0/05$) (جدول ۱).

زمان (دقیقه)	۰ (a)	۵ (b)	۱۵ (c)	۳۰ (d)	۴۵ (e)	۶۰ (f)
میانگین و انحراف معیار زایلزین-کتامین (گروه ۱)	۱۰۷/۱ ± ۱۰/۴۴	۸۷/۷ * ± ۳/۶۶	۸۹/۱ ± ۱۱/۰۲	۹۱/۴ ± ۴/۴۱	۹/۲۳ ۱ ± ۱/۲۰ ۲	۹۰/۹ ± ۵/۰۱
میانگین و انحراف معیار آسپرومازین- کتامین (گروه ۲)	۱۰/۸۱ ۱ ± ۸/۲۳	۸/۸۸ ۹ ± ۱/۰۱ ۸	۸۷/۴۰ * ± ۲/۲۷	۸/۱۳ ۸ ± ۸/۲۸	۸/۲۴ ۸ ± ۱/۱۱ ۳	۸/۵۰ ۹ ± ۱/۳۰ ۵

جدول ۲: میانگین و انحراف معیار فشار نسبی اکسیژن تحت بیهوشی

با ترکیب زایلزین-کتامین (گروه ۱) و آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)

*اختلاف معنی دار ضربان قلب در هنگام بیهوشی با زمان قبل از

بیهوشی

میانگین فشار نسبی دی اکسید کربن در تمام طول دوره بیهوشی با زایلزین-کتامین (گروه ۱) و آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)، نسبت به زمان قبل از بیهوشی افزایش یافت. فشار نسبی دی اکسید کربن پس از بیهوشی با زایلزین-کتامین (گروه ۱)، ابتدا افزایش و سپس از دقیقه ۱۵ به بعد کاهش یافت. در صورتی که پس از بیهوشی با آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)، فشار نسبی دی اکسید کربن ابتدا افزایش و از دقیقه ۳۰ به بعد، کاهش یافت. فشار نسبی

زمان (دقیقه)	۰ (a)	۵ (b)	۱۵ (c)	۳۰ (d)	۴۵ (e)	۶۰ (f)
میانگین و انحراف معیار زایلزین-کتامین (گروه ۱)	۴۱/۳ ± ۲۱/۰۴	۴۴/۴ ± ۱۳/۰۲	۴۹/۱ ^a ± ۷/۳۲	۴۷/۷ ^b ± ۱۷/۰۱	۴۰/۲۰ ± ۱۳/۰۸	۳۸/۹ ± ۶/۲۱
میانگین و انحراف معیار آسپرومازین- کتامین (گروه ۲)	۴۰/۱۵ ± ۴/۰۲	۴۱/۳۳ ± ۸/۶۶	۳۷/۹۸ ^a ± ۱۲/۰۶	۳۳/۲ ^b ± ۱۶/۰۱	۳۰/۴۴ ± ۲/۰۷	۲۹/۳۴ ± ۴/۰۷

جدول ۱: میانگین و انحراف معیار تعداد تنفس تحت بیهوشی با

ترکیب زایلزین-کتامین (گروه ۱) و آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)

*اختلاف معنی دار ضربان قلب در هنگام بیهوشی با زمان قبل از

بیهوشی

میانگین فشار نسبی اکسیژن در تمام طول دوره بیهوشی با زایلزین-کتامین (گروه ۱) و آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)، نسبت به زمان قبل از بیهوشی کاهش یافت. فشار نسبی اکسیژن پس از بیهوشی با زایلزین-کتامین (گروه ۱)، ابتدا کاهش و پس از دقیقه ۱۵ به بعد افزایش یافت؛ در صورتی که پس از بیهوشی با آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)، فشار نسبی اکسیژن ابتدا کاهش و از دقیقه ۳۰ به بعد، افزایش یافت. میان فشار نسبی اکسیژن در دو گروه در زمان‌های مختلف، اختلاف معناداری وجود ندارد ($P < 0.05$ ، جدول ۲)

دی اکسید کربن میان دو گروه در زمان ۵ بعد از بیهوشی، اختلاف معنادار وجود دارد ($P < 0.05$, جدول ۳)

ابتدای القای بیهوشی منجر به افزایش تعداد تنفس شدند که این افزایش تعداد تنفس در ابتدای بیهوشی با زایلازین-کتامین طولانی تر از آسپرومازین-کتامین بود. پس از طی ۴۵ دقیقه از بیهوشی با زایلازین-کتامین، تعداد تنفس به کمتر از میزان قبل بیهوشی رسید؛ در صورتی که تعداد تنفس در بیهوشی با آسپرومازین-کتامین پس از طی ۱۵ دقیقه از زمان بیهوشی به کمتر از میزان قبل بیهوشی رسید. در پژوهشی که اثر زایلازین-کتامین را بر روی ۵ راس گوسفند بررسی کرد، نشان داد که متوسط تعداد تنفس متعاقب تزریق کتامین تا دقیقه ۵ کاهش و بعد از آن افزایش و در دقیقه ۴۵ به بالاتر از میزان قبل از بیهوشی رسید و مجدداً تا حد مرز طبیعی کاهش یافت و در هیچ یک از زمان‌های بیهوشی با زمان قبل از بیهوشی اختلاف معنی داری دیده نشد (۱۴). نتایج پژوهش ذکر شده با مطالعه حاضر منطبق نبود.

در این مطالعه در گروه ۱ با تزریق زایلازین-کتامین، مقدار متوسط فشار نسبی اکسیژن شریانی، از ابتدای بیهوشی تا دقیقه ۵ کاهش، سپس افزایش یافت و در دقیقه ۶۰ مجدداً کاهش جزئی فشار نسبی اکسیژن شریانی دیده شد. در گروه ۲ با تزریق آسپرومازین-کتامین میزان فشار نسبی اکسیژن از ابتدای بیهوشی تا دقیقه ۱۵ کاهش یافت و سپس رو به افزایش رفت. مقایسه نتایج نشان داد بر اثر بیهوشی با زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین فشار نسبی اکسیژن در هر زمان پس از بیهوشی کمتر از میزان قبل بیهوشی بود. در القای بیهوشی با زایلازین-کتامین،

زمان (دقیقه)	۰ (a)	۵ (b)	۱۵ (c)	۳۰ (d)	۴۵ (e)	۶۰ (f)
میانگین و انحراف معیار	۳/۴۱	^a ۵۶/۳۶	۵/۴۰	۵/۸۷	۴/۱۱	۴/۶۳
زایلازین-کتامین (گروه ۱)	± ۶/۰۱	± ۱۰/۰۳	± ۷/۱۰	± ۱/۳۳	± ۷/۱۳	± ۱/۴۶
میانگین و انحراف معیار	۳/۷۷	^a ۴۳/۰۸	۴/۸۷	۴/۶۰	۴/۰۱	۴/۴۱
آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)	± ۳/۰۳	± ۴/۲۰	± ۲/۲۷	± ۸/۲۸	± ۱/۵۴	± ۴/۶۷

جدول ۳: میانگین و انحراف معیار فشار نسبی دی اکسید کربن تحت بیهوشی با ترکیب زایلازین-کتامین (گروه ۱) و آسپرومازین-کتامین (گروه ۲)

بحث و نتیجه گیری

در این مطالعه، نتایج به دست آمده از شمارش متوسط تعداد تنفس در گروه ۱ بعد از تزریق زایلازین-کتامین نشان داد که بعد از القا بیهوشی میانگین تعداد تنفس تا دقیقه ۱۵ افزایش و سپس کاهش یافت. در صورتی که در گروه ۲ بعد از تزریق آسپرومازین-کتامین، تعداد تنفس تا دقیقه ۵ افزایش و سپس کاهش یافت. مقایسه نتایج نشان داد هر دو ترکیب دارویی زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین در

فشار نسبی اکسیژن، کاهش شدیدتر و در مدت زمان کوتاه تری (پس از ۵ دقیقه) نسبت به آسپرومازین-کتامین (پس از ۱۵ دقیقه) داشت. در یک تحقیق بر روی گوسفند متعاقب مصرف زایلازین-کتامین، نشان داد ۵ دقیقه بعد از القا بیهوشی مقدار متوسط فشار نسبی اکسیژن شریانی کاهش و پس از آن تا دقیقه ۴۵ افزایش یافت که در این زمان هم مقداری کمتر از زمان قبل از بیهوشی بود و فقط در دقیقه ۶۰ کاهش معنی داری پیدا کرد (۱۱). نتیجه تحقیق ذکر شده با مطالعه حاضر منطبق بود.

در این مطالعه، نتایج به دست آمده از گروه ۱ بر اثر تزریق زایلازین-کتامین نشان داد که مقدار متوسط فشار نسبی دی اکسید کربن شریانی، بعد از القاء بیهوشی تا دقیقه ۵ افزایش و سپس کاهش یافت و در دقیقه ۶۰ یک افزایش جزئی داشت. در گروه ۲ با تزریق آسپرومازین-کتامین، بعد از القا بیهوشی میانگین فشار نسبی دی اکسید کربن شریانی تا دقیقه ۱۵ افزایش و پس از آن تا دقیقه ۶۰ رو به کاهش رفت. مقایسه نتایج نشان داد بر اثر بیهوشی با زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین فشار نسبی دی اکسید کربن در هر زمان پس از بیهوشی بیشتر از زمان قبل بیهوشی بود. در القای بیهوشی با زایلازین-کتامین، فشار نسبی دی اکسید کربن افزایش شدیدتر و در مدت زمان کوتاه تری (پس از ۵ دقیقه) نسبت به آسپرومازین-کتامین (پس از ۱۵ دقیقه) داشت. در پژوهشی بر روی گوسفند که منابع:

اثر زایلازین-کتامین را بررسی کرد نشان داد بعد از القا بیهوشی میزان فشار نسبی دی اکسید کربن شریانی تا دقیقه ۵ افزایش و پس از آن تا پایان دقیقه ۶۰ کاهش یافت ولی به حد طبیعی خود باز نگشت و در دقایق ۵، ۱۵، ۴۵ و ۶۰ مقدار متوسط میزان فشار نسبی دی اکسید کربن شریانی بیشتر از مقدار قبل از بیهوشی بود و مقادیر تمامی آن‌ها با مقدار متوسط فشار نسبی دی اکسید کربن شریانی قبل از بیهوشی اختلاف معنی داری داشت (۱۳). نتایج پژوهش ذکر شده با مطالعه حاضر منطبق بود.

نتیجه گیری نهایی

هر دو ترکیب زایلازین-کتامین و آسپرومازین-کتامین باعث کاهش تعداد تنفس شدند اما تعداد تنفس در بیهوشی با زایلازین-کتامین دیرتر کاهش یافت. در القای بیهوشی با زایلازین-کتامین، فشار نسبی اکسیژن، کاهش شدیدتر و سریع تری نسبت به آسپرومازین-کتامین داشت و در مقابل فشار نسبی دی اکسید کربن افزایش شدیدتر و سریع تری نسبت به آسپرومازین-کتامین داشت. ترکیب آسپرومازین-کتامین در مقایسه با زایلازین-کتامین با توجه به تاثیرات کمتر آن روی فشار نسبی اکسیژن؛ مناسب تر بود و برای بیمارانی که مشکل تنفسی دارند، توصیه می شود از آسپرومازین-کتامین استفاده شو

۱. احمدی فرد، یدالله (۱۳۸۱). اثرات بیهوشی با زایلازین کتامین بر روی درجه حرارت تنفس، ضربان قلب، فشار خون سرخرگی و گازهای خونی گوسفند. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی از دانشگاه شهید چمران اهواز، شماره ۱۸۱۵۸۴۴۸

۲. صابری افشار، ف. و بنی آدم، ع. و ولی، م. (۱۳۸۵). اثر اسپرومازین - کتامین بر روی فشار خون سرخرگی و گازهای خونی در بز. پژوهش و سازندگی، ۱۹ (۴) (پی آیند ۷۳) در امور دام و آبزیان، ۴۲-۴۸.

۳. بهبودخواه، البرت (۱۳۶۵). بررسی اثرات کلینیکی و پاراکلینیکی داروهای گزیلازین هیدروکلراید و کتامین هیدروکلراید به تنهایی و تواما در گاو. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی از دانشگاه شیراز، شماره

۴. تشیده، معادله أسمعیل و کاوسیان، عباس (۱۳۵۹). فارماکولوژی داروهای بیهوشی و داروهای مورد نیاز اطاق عمل و اکسیژن درمانی. جلد اول، انتشارات جهاد دانشگاهی تهران، صفحه ۶-۱.

۵. خورسته، نورا (۱۳۶۴). بررسی اثرات کلینیکی و پاراکلینیکی داروهای گزیلازین هیدروکلراید و کتامین هیدروکلراید به تنهایی و تواما در گوسفند. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی از دانشگاه شیراز، شماره ۱۲۵.

۶. شریف نیا، مهوش (۱۳۶۵). بررسی اثرات کلینیکی و پاراکلینیکی داروهای گزیلازین هیدروکلراید و کتامین هیدروکلراید به تنهایی و تواما در بز. پایان نامه دکترای عمومی دامپزشکی از دانشگاه شیراز، شماره ۱۳۴.

۷. صدیقی، محمدرضا (۱۳۷۸). مبانی بیهوشی در حیوانات کوچک، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحه ۴۳ و ۷۰ لا

۸. وصال، ناصر (۱۳۷۶). اصول بیهوشی دامپزشکی، انتشارات دانشگاه شیراز، فصل ۳-۱

9. Adams, H. R. (2001). Veterinary Pharmacology and Therapeutics. 8th ed. Iowa State University Press, Ames, PP. 247-267, 314-342, 377-382.
10. Allen, D. G., Dyson, D. H., Pascoe, P. J. O. and Grady, M. R. (1986). Evaluation of a xylazine-ketamine hydrochloride combination in cat. Canadian Journal of Veterinary Research, 50(1): 23-26.
11. Blaz, C. A., Helland, R. E. and Grant, A. L. (1998). Gas exchange during xylazine-ketamine anesthesia in neonatal in calves. Veterinary Surgery, 17(3): 155-159.
12. Borkowski, G.L., Danneman, P.J., Russell, G.B. and lang, C.M. (1990). An evaluation of three intravenous anesthetic regimes in New Zealand rabbits Laboratory Animals Science, 40(3): 270-276.
13. Brown, J. N., Thorne, D.R. and Nattli, A.L. (1989). Blood pressure and other physiological responses in awake and anesthetized guinea pigs. Laboratory Animals Science, 39 (2): 142-148.
14. Clark, D.M. (1982). Cardiopulmonary response to xylazine-ketamine anesthesia in the dog. American Animal Hospital Association, 18 (9): 815-821.

15. Dutt, B.K., Hossain, M.A. and Rahman, M.M. (1998). Evaluation of some injectable sedatives and anaesthetics in the rabbit. *Bangladesh Veterinarian*, 15 (1): 13-17.
16. Getty, R. (1975). *Sisson and Grossman's the Anatomy of Domestic Animals*, 8th ed., W. B. Saunders Company, Philadelphia, PP : 804-1092.
17. Guyton, A.C. and Hall, J.E. (1996). *Textbook of Medical physiology*, 9th ed. W.B. Saunders Company, Philadelphia, PP: 387-388, 525-534.
18. Hall, L.W. and Clark, K.W. (2001). *Veterinary Anesthesia*. 10th ed. W.B. Saunders Company, London, PP: 10-28, 29-60, 113-129.
19. Haskins, S.C., Farver, T.B. and Putz, J.D. (1986). Cardiovascular changes in dogs given diazepam and diazepam-ketamine. *American Journal of Veterinary Research*, 47(4): 795-798.
20. Hobbs, B.A., Rolhall, T.G., Sprenkel, T.L. and Anthony, K.L. (1991). Comparison of several combination for anesthesia in rabbits. *American Journal of Veterinary Research*, 52 (5): 669-674.

Comparison of anesthetic effects of xylazine-ketamine with acepromazine-ketamine on respiratory factors in goats

Noushin Ghavami ^{*1}, Seyed Rasul MarashiPour ², Behnam Pedram ², Ali Abotorabi ³

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

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

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

***Corresponding author: Nooshghavami@gmail.com**

Abstract

In order to reduce the risks of anesthesia in goats, it is important to choose drugs that introduce the least injury into the body. The aim of this study was to compare the effects of xylazine-ketamine anesthesia with Acepromazine-ketamine on respiratory factors in goats. In this study, 6 female goats were used in the weight range of 19-29 kg and the age was 18-24 months. The goats were divided into two groups of three. In group 1, xylazine-ketamine was injected with doses of 0.2 and 10 mg/kg, respectively, and also in group 2, acepromazine-ketamine was injected with doses of 0.5 and 10 mg/kg, respectively. Xylazine and acepromazine were injected intramuscularly, and ketamine was injected intravenously. The respiratory factors of each group were measured before anesthesia and 5, 15, 30, 45, and 60 minutes after anesthesia and compared with each other. In anesthesia with xylazine-ketamine, compared to acepromazine-ketamine, the respiratory rate decreased in a longer period of time. Also, the relative pressure of arterial oxygen decreased more strongly and faster in anesthesia with xylazine-ketamine. On the other hand, the relative pressure of Carbon dioxide had a stronger and faster increase. the combination of acepromazine-ketamine compared to xylazine-ketamine due to its lower effects on the relative oxygen pressure; It was more appropriate.

Keywords: Anesthesia, Xylazine, Acepromazine, Goat Respiratory factors