

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

فریدون رضازاده^{۱*}، فرزاد کتیرائی^۲، محمد حسن ریاحی^۳، حسین کولیوند سالوکی^۴

۱- دانشیار، گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز- ایران

۲- دانشیار، گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه تبریز، تبریز- ایران

۳- دانش آموخته دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز- ایران

۴- دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه تبریز، تبریز- ایران

ایمیل نویسنده مسئول: f_rezazadeh@tabrizu.ac.ir



JOURNAL OF VETERINARY CLINICAL RESEARCH

دریافت مقاله: ۱۲ اسفند ۱۴۰۳، پذیرش نهایی: ۱۴ فروردین ۱۴۰۴

دوره پانزدهم، شماره دو، زمستان ۱۴۰۳

چکیده:

بیماری‌های دستگاه تنفس فوقانی به دلیل ارتباط با عملکرد ورزشی و سلامت اسب، بیش از پیش مورد توجه قرار گرفته‌اند. ناهنجاری‌های دستگاه تنفس فوقانی در دو گروه ناهنجاری‌های عفونی و دینامیکی مورد بررسی قرار می‌گیرند. در بین ناهنجاری‌های عفونی، عفونت‌های قارچی به دلیل مقاومت به درمان، چالش دامپزشکان طب اسب بوده‌است. هدف از این مطالعه، بررسی منشأ ترشحات از منخرین و ارتباط آن با بیماری‌های دستگاه تنفس فوقانی است. در مطالعه حاضر، تعداد ۱۰ رأس اسب دارای ترشحات از منخرین که به درمان پاسخ نداده بودند، بعد از تفکیک از نظر سن، جنس و نژاد، مورد معاینه آندوسکوپی در حال استراحت و نمونه‌برداری قارچ‌شناسی قرار گرفتند. آرام‌بخشی با تجویز دتومیدین هیدروکلراید با دوز ۰/۰۴ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن صورت گرفت. از بینی هر اسب دو سوآپ گرفته شد و هر کدام در لوله‌ای جداگانه، یکی حاوی سرم فیزیولوژی به علاوه کلرامفنیکل و دیگری حاوی محیط کشت سابوردکستروز آگار به علاوه کلرامفنیکل، به آزمایشگاه قارچ‌شناسی ارسال شد. ۹ رأس (۹۰ درصد) از اسب‌های مورد مطالعه دارای ناهنجاری در دستگاه تنفس فوقانی بودند. بیشترین فراوانی در بین ناهنجاری‌های دستگاه تنفس فوقانی متعلق به هیپرپلازی لنفوئیدی بود. نتیجه کشت قارچ‌شناسی هر ۱۰ رأس (۱۰۰ درصد) مثبت بود. تنها در یک رأس، منشأ ترشحات از جیب حلقی بود. در بین قارچ‌های به دست آمده، آسپرژیلوس فومیگاتوس بیشترین فراوانی را داشت. مطالعه حاضر نشان داد که بیشتر ترشحات از منخرین که به درمان دارویی پاسخ نمی‌دهند، ناشی از عفونت قارچی است و تشخیص قطعی با کمک نمونه‌برداری و معاینه آندوسکوپی امکان‌پذیر است.

کلمات کلیدی: اسب، آندوسکوپی، تنفسی، قارچ شناسی، مزمن.

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ‌شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

مقدمه:

مواد و روش کار:

چنانچه به تاریخ زندگی بشر نگاهی گذرا انداخته‌شود، درمی‌یابیم که از نخست، انسان‌ها از حیوانات بهره‌مند شده‌اند و در این میان، اسب از جایگاه ویژه‌ای در تاریخ زندگانی بشر برخوردار بوده‌است. به‌طوری‌که از دیرباز این حیوان نجیب مورد توجه قرار گرفته و در کنار آدمی به بهبود زندگی آن کمک کرده و در وقایع تلخ و شیرین سرگذشت یک سرزمین ایفای نقش کرده‌است. ما هم برآنیم تا با مطالعه‌ی بیشتر و شناخت بیماری‌های این حیوان، به سلامت آن ارتقا بخشیم تا بتوانیم راه نیاکانمان را به‌درستی ادامه‌دهیم. اجزای تشکیل‌دهنده‌ی دستگاه تنفس فوقانی از ابتدا شامل: ۱- سوراخ‌های خارجی بینی، ۲- حفرات بینی، ۳- قسمت بینی-حلقی، ۴- حنجره، ۵- نای، ۶- نایژه‌ها، ۷- نایژک، ۸- نایژک‌های انتهایی است (۱و۲). برای تشخیص و ارزیابی وضعیت دستگاه تنفسی فوقانی نیازمند یک تصویر کامل از این ناحیه هستیم. از این‌رو، استفاده از دستگاه آندوسکوپی می‌تواند به ما کمک کند تا به ارزیابی مناسبی برسیم. امروزه از سه روش برای آندوسکوپی دستگاه تنفس فوقانی بهره‌گرفته‌می‌شود که شامل آندوسکوپی ساده، آندوسکوپی در میدان، و آندوسکوپی روی تردمیل پرسرعت می‌باشد (۳). در بین ناهنجاری‌های عفونی، عفونت‌های قارچی به‌دلیل مقاومت به درمان، چالش دامپزشکان طب اسب بوده‌است. از مهم‌ترین قارچ‌های جداشده در مطالعات صورت‌گرفته می‌توان به آسپرژیلوس فومیگاتوس، آسپرژیلوس نیدولانس، گونه‌ی پنی‌سیلیوم و موکورها اشاره کرد. قارچ‌های فوزاریوم، تریکوسپورون و آکرمونیوم نیز، در رده‌های بعدی قرار می‌گیرند (۴).

دام‌های مورد مطالعه: تعداد ۱۰ رأس اسب باشگاهی در اطراف شهرهای تبریز، زنجان، قزوین و کرج مورد مطالعه قرار گرفت. اسب‌های مذکور دارای ترشحات مزمن از منخرین بوده‌اند که به درمان پاسخ نداده بودند. اسب‌های مذکور از نظر نژاد، سن، جنس، یک‌طرفه یا دوطرفه بودن ترشحات، درمان قبلی صورت‌گرفته در برگه‌های مشخصی که از پیش طراحی شده بودند، ثبت گردید. آندوسکوپی اسب‌ها: هر اسب جهت آرام‌بخشی تحت تجویز داروی دتومیدین هیدروکلراید ساخت شرکت VETCARE فنلاند با دوز ۰/۰۴ میلی‌گرم/کیلوگرم قرار گرفت. بررسی آندوسکوپی با دستگاه آندوسکوپی OLYMPUS ژاپن با طول لوله‌ی ۱۱۰ سانتی‌متر انجام شد. عمل آندوسکوپی به شرح زیر انجام گرفت: بعد از مهار و آرام‌بخشی اسب، لوله آندوسکوپ از یکی از سوراخ‌های منخرین وارد شده، با عبور از کنار بوقک‌ها به مدخل حلق رسیده و سپس غضروف اپیگلوت، نمایان می‌شود. با مشاهده تصویر حلق و حنجره، اطلاعات مربوط به اندازه، شکل و جایگاه اپیگلوت و غضروف‌های آریتنوئیدی و هیپرپلازی عقده‌های لنفاوی و ترشحات از جیب حلقی در فرم مربوطه یادداشت شد. با انجام آزمون اسلپ فلجی حنجره مورد بررسی قرار گرفت. سپس با ورود کاتتر و به‌دنبال آن لوله‌ی آندوسکوپ، فضای درون جیب حلقی از لحاظ خون‌ریزی و حضور پلاک‌های قارچی و چرک بررسی شد. ناهنجاری‌هایی نظیر التهاب بینی، گیر افتادن اپیگلوت، بزرگ‌شدگی اپیگلوت، هیپرپلازی لنفوئیدی، فلجی یک‌طرفه حنجره، تغییر شکل غضروف‌های آریتنوئیدی،

جایگاهی پستی کام نرم و ترشحات از جیب حلقی در معاینه آندوسکوپی قابل ارزیابی بودند.

نمونه گیری از اسب‌ها: برای نمونه‌گیری از مخاط بینی هر اسب دو عدد سوآپ استریل اختصاص داده شد. که بعد از نمونه برداری یک سوآپ در لوله حاوی سرم فیزیولوژی به علاوه کلرامفنیکل به خوبی تکان داده شد تا با محتوی لوله ترکیب شود و سوآپ دیگر در لوله حاوی محیط کشت سابورودکستروز آگار به علاوه کلرامفنیکل کشت داده شد. نمونه‌های اخذ شده بعد از شماره‌گذاری به طور جداگانه به آزمایشگاه قارچ شناسی دانشکده دامپزشکی ارجاع داده شد.

آزمایش مستقیم میکروسکوپی: بخشی از نمونه به منظور بررسی مستقیم میکروسکوپی در ابتدا با دور پایین سانتیفریوژ گردید و از رسوب حاصل در ابتدا یک گسترش بر روی لام تهیه شد که پس از خشک شدن در دمای اتاق و فیکس شدن با متانول به روش گیمسا رنگ آمیزی و مورد بررسی قرار گرفت. همچنین از رسوب حاصل یک گسترش مرطوب با محلول پتاس ۱۰ درصد نیز تهیه گردید و پس از ۱۵ دقیقه گرمخانه‌گذاری در دمای اتاق مورد بررسی قرار گرفت (۵).

بخش دیگری از نمونه ارسال شده به آزمایشگاه به منظور بررسی انواع گونه‌های قارچی بر روی محیط‌های کشت آزمایشگاهی کشت داده شد. بدین منظور و با هدف جداسازی انواع گونه‌های قارچی از دو محیط کشت به طور هم زمان استفاده شد. محیط کشت سابورودکستروز آگار حاوی کلرامفنیکل که برای جداسازی انواع گونه‌های ساپروفیتی و مخمری مناسب است و از رشد باکتری‌ها ممانعت می‌کند؛ و دیگری محیط کشت سابورودکستروز آگار

حاوی کلرامفنیکل و سیکلوهاگزامید که اجازه رشد به قارچ‌های بیماری‌زا و برخی مخمرها و قارچ‌های رنگی می‌دهد. کشت به روش نشاکاری و خطی در محیط انجام شد و پلیت‌های کشت داده شده در دمای ۲۵ الی ۲۸ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید و هر ۲۴ ساعت از نظر رشد گونه‌های قارچی مورد بررسی قرار گرفت و گونه‌های رشد یافته جدا و خالص سازی شد (۶).

نگهداری گونه‌های جداشده: برای انجام هر چه دقیق‌تر آزمایش‌ها، کلیه مراحل که نیاز به آزمایش داشت بلافاصله پس از رشد نمونه‌ها در محیط‌های کشت انجام شد. جهت نگهداری گونه‌های قارچی کلنی‌های خالص و انبوه روی محیط را با استفاده از آنس سترون در میکروتیوب‌های ۲ میلی لیتری حاوی آب مقطر استریل و گلیسرول ۱۰ درصد ریخته و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌های بعدی نگهداری شد (۶).

جدول ۱. توالی پرایمرهای ITS1 و ITS2 مورد استفاده در این مطالعه (Glass and Donaldson., 1995)

پرایمر	Seq.(5-3)
ITS1	TCC GTA GGT GAA CCT GC GG
ITS4	TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC

تشخیص ماکروسکوپی و میکروسکوپی اولیه نمونه‌های رشد یافته: تشخیص ماکروسکوپی و میکروسکوپی اولیه نمونه‌های رشد یافته براساس خصوصیات مورفولوژیک (ماکروسکوپی و میکروسکوپی) خصوصیات رشد در محیط

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ‌شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

صورت گرفت. در این موارد از محیط‌های کشت دیگری از قبیل محیط چاپکس، PDA، اوره آگار و کورن میل آگار و کشت نمونه در دماهای بالاتر استفاده شد. همچنین از روش کشت روی لام به منظور بررسی میکروسکوپی ساپروفیت‌های رشته‌ای موجود در محیط کشت استفاده گردید (۷).

تشخیص مولکولی گونه‌های آسپرژیلوس: به منظور تأیید تشخیص صورت گرفته در بررسی مستقیم میکروسکوپی و بسته به گونه تشخیص داده شده از یک روش مولکولی مبتنی بر واکنش زنجیره‌ای پلی مرز استفاده شد. با توجه به اینکه احتمال داده می‌شد با طیف وسیعی از گونه‌های ساپروفیتی مواجه باشیم، برای تأیید تشخیص اولیه از تکثیر ناحیه ITS در ژن ریبوزومال DNA که در شناسایی طیف گسترده‌ای از گونه‌ها مناسب است استفاده شد. بطوری‌که بعد از تکثیر اولیه ناحیه ITS در گونه مشکوک، تعیین توالی قطعه مورد نظر انجام شد و تشخیص نهایی بر اساس مقایسه توالی بدست آمده با بانک‌های اطلاعاتی موجود در پایگاه داده‌ها (NCBI) صورت گرفت. با توجه به اهمیت جداسازی گونه‌های آسپرژیلوس، برای تشخیص نهایی گونه‌های جدا شده، از تعیین توالی ناحیه بتا-توبولین که در تشخیص انواع گونه‌های آسپرژیلوس از دقت و حساسیت بیشتری برخوردار است استفاده شد (۸و۶).

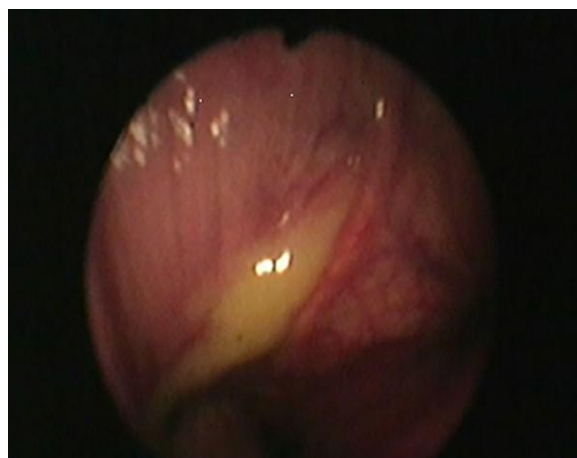
استخراج DNA: با استفاده از یک روش فیزیکی و شیمیایی با استفاده از دانه‌های شیشه‌ای با قطر ۰/۵ میلی متر در حضور عوامل دنا توره کننده انجام شد. کشت مایع قارچ با تلقیح یک آنس از کشت‌های تازه آسپرژیلوس (یک هفته‌ای) به فلاسک‌های ۲۵۰ میلی لیتری حاوی محیط سابوروبراس آماده

گردید و در دمای ۲۸ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت بر روی هم زن قرار گرفت. پس از طی زمان گرم خانه‌گذاری میسلیم‌های قارچ جمع‌آوری و با بافر تریس EDTA شستشو داده شد. سپس DNA از میسلیم قارچ با استفاده از یک روش فیزیکی- شیمیایی با استفاده از دانه‌های شیشه‌ای و فنل و کلروفرم استخراج شد. بافر استخراج، حاوی بافر EDTA یک میلی مولار با pH:8 و SDS1 درصد و تریس اسیدکلریدریک ۱۰ میلی مولار با pH:8 و 100 میلی مولار نمک طعام و ۲ درصد تریتون X-100 بود. مقداری از میسلیم داخل میکروتیوب به همراه دانه‌های شیشه‌ای و بافر مذکور و پروتئیناز K و رتکس گردید. محلول فنل اشباع اضافه شد و به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژ گردید. مایع رویی به میکروتیوب جدید منتقل شد و ۵۰۰ میکرولیتر کلروفرم به آن اضافه و سانتریفوژ شد. مایع رویی دوباره به لوله جدید منتقل گردید و با بافر استات سدیم ۳ مولار با pH: 5.5 و سپس ایزوبوتانول استخراج گردید. رسوب DNA با الکل ۷۰ درجه شستشو داده شد و با افزودن ۳۰ تا ۵۰ میکرولیتر بافر TE حل شده و در دمای منفی ۲۰ درجه سانتی‌گراد ذخیره گردید (۹و۱۰).

جدول ۲. توالی پرایمرهای ناحیه Beta tubulin مورد استفاده در این مطالعه (Glass and Donaldson., 1995)

پرایمر	Seq.(5-3)
Bt2a	GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC
Bt2b	ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGCC

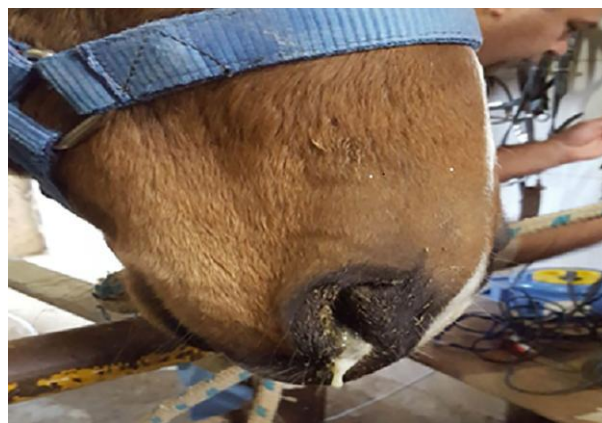
الکتروفورز محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور ارزیابی نتیجه اولیه واکنش بر روی ژل آگارز ۱/۵٪ در بافر TBE به مدت ۳۰ دقیقه در ولتاژ ۱۰۰ ولت مورد بررسی قرار گرفت. محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور ارزیابی نتیجه اولیه واکنش بر روی ژل آگار ۱/۵ درصد در بافر TBE به مدت ۳۰ دقیقه در ولتاژ ۱۰۰ ولت مورد بررسی قرار گرفت.



تصویر ۲. خروج یک طرفه چرک در جیب حلقی سمت راست در اسب شماره ۲

تعیین توالی ناحیه تکثیر یافته: محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور تعیین گونه براساس اختلافات نوکلئوتیدی تعیین توالی گردید و سکانس نوکلئوتیدی آن تعیین شد. تعیین توالی نوکلئوتیدی محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز، توسط شرکت زیست فناوری پیشگام در ایران انجام شد. نمونه‌های محصول واکنش زنجیره‌ای پلیمراز هر یک از گونه‌های مورد نظر و پرایمرهای هر یک از ژن‌های مورد نظر به شرکت زیست فناوری پیشگام ارسال شد. در ابتدا محصولات واکنش زنجیره‌ای پلیمراز با استفاده از کیت مخصوص خالص سازی گردید، سپس با استفاده از

واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور تکثیر ناحیه بتا توبولین و ITS: آزمایش واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به منظور آمپلیفیکاسیون قطعه ای از ژن بتا توبولین (Beta 2 tubulin) و ناحیه ITS انجام گرفت. پرایمرهای مورد استفاده در این مطالعه براساس مطالعه Glass & Donaldson انتخاب شدند (جدول ۱ و ۲). یک مخلوط واکنش زنجیره‌ای پلیمراز به حجم ۵۰ میکرولیتر حاوی ۲۰ نانوگرم DNA ژنومی، بافر واکنش زنجیره‌ای پلیمراز حاوی تریس HCL ۱۰ میلی مولار، کلرید پتاسیم ۵۰ میلی مولار، $MgCl_2$ دو میلی مولار، ۰/۲ میلی مولار dNTP، ۰/۴ میکرومولار از هر پرایمر و 2U از taq پلیمراز آماده گردید. مخلوط فوق در دستگاه ترموسایکلر Primus 96 plus ساخت کشور انگلستان با دنا تراسیون اولیه به مدت ۵ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و به دنبال آن ۳۵ چرخه دنا تراسیون در دمای ۹۵ درجه (۱ دقیقه)، اتصال پرایمر (annealing) در دمای ۶۴

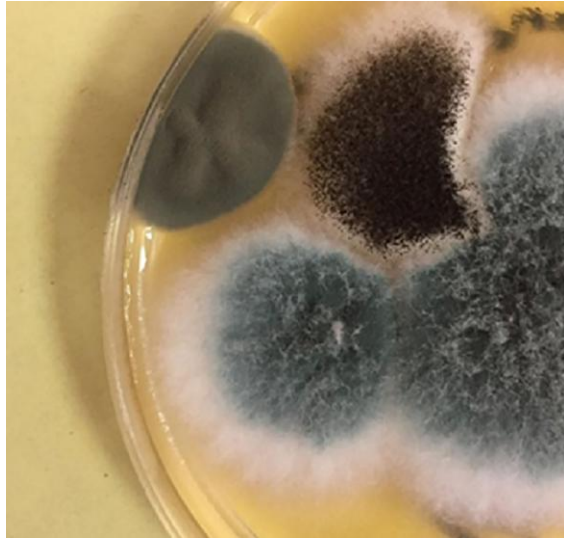


تصویر ۱. ترشحات چرکی از منخرین در مطالعه حاضر مربوط به اسب شماره ۵

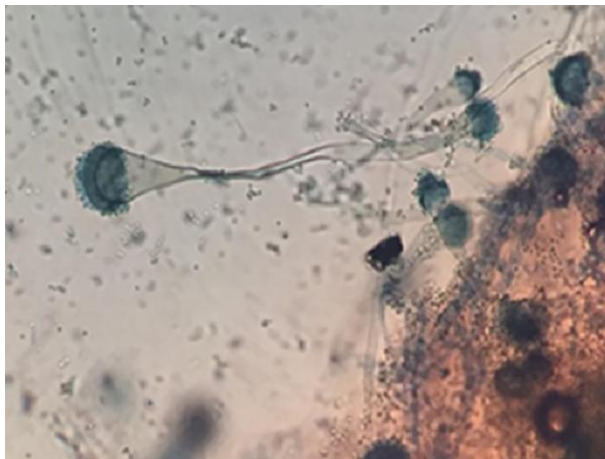
درجه سانتی‌گراد (۳۰ ثانیه)، و چرخه انبساط در دمای ۷۲ سانتی‌گراد به مدت یک دقیقه و یک مرحله نهایی در دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد به مدت ۵ دقیقه قرار داده شد (۱۱).

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ‌شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

نتایج آزمایش مستقیم میکروسکوپی ترشحات: در آزمایش مستقیم میکروسکوپی از مجموع ۱۰ اسب مشکوک به عفونت قارچی جیب حلقی، ۹ رأس (۹۰ درصد) از نظر وجود عناصر قارچی مثبت بودند. در گسترش مستقیم نمونه‌های مثبت، میسلیم‌های قارچی عمدتاً شفاف و بعضاً رنگی مشاهده گردید.



تصویر ۳. کلنی‌های سبز مایل به آبی آسپرژیلوس فومیگاتوس جدا شده از ترشحات بینی



تصویر ۴. ویژگی میکروسکوپی آسپرژیلوس فومیگاتوس با کنیدیوفورهای صاف، وزیکول‌فلاسکی شکل و یک ردیف فیالید در نیمه بالایی وزیکول

پرایمرهای رفت و برگشت اختصاصی هر ناحیه ژنی تعیین توالی نوکلئوتیدی از هر دو طرف DNA صورت گرفت. سکانس با استفاده از دستگاه تعیین توالی آنالیز کننده DNA به نام Applied ABI 3730 (ABI series) Biosystems ساخت کشور آمریکا به روش سنگر sanger انجام گرفت (۱۲). نتایج تعیین توالی به صورت کروماتوگرام ارائه گردید. این کروماتوگرام‌ها با استفاده از انواع نرم افزارهای بیوانفورماتیک قابل ارزیابی می‌باشد.

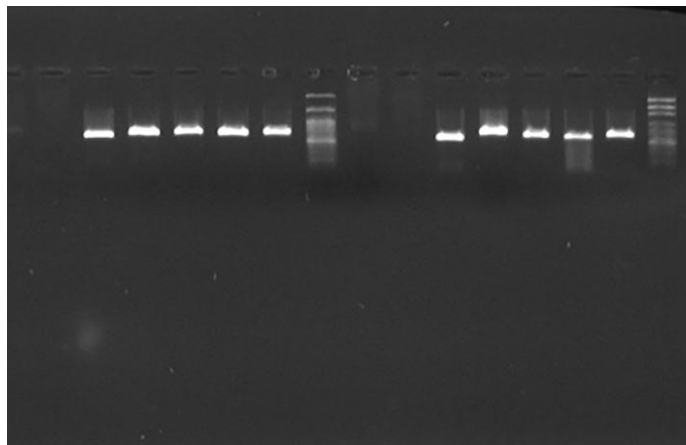
بررسی توالی در پایگاه داده‌ها و تشخیص قطعی نمونه:
پس از تعیین توالی و ارزیابی بیوانفورماتیک آن، توالی‌های به دست آمده در مقایسه با اطلاعات موجود در پایگاه داده‌ها (NCBI) برای تعیین گونه آسپرژیلوس بررسی شد. جهت آنالیز و بررسی توالی‌های نوکلئوتیدی از نرم افزارهای MEGA 7.0.2، BioEdit ver.7.0.9، chromas استفاده شد.

نتایج:

بررسی اسب‌ها از نظر سن و جنس: از این ۱۰ رأس اسب، تعداد ۸ رأس نریان (۸۰ درصد) و ۲ رأس مادبان (۲۰ درصد) بودند. همچنین از این ۱۰ رأس اسب، ۱ رأس (۱۰ درصد) در دامنه سنی زیر ۵ سال و تعداد ۴ رأس (۴۰ درصد) در دامنه سنی ۵ تا ۱۰ سال و ۲ رأس (۲۰ درصد) در دامنه سنی ۱۰ تا ۱۵ سال و تعداد ۳ رأس (۳۰ درصد) در دامنه سنی بالای ۱۵ سال قرار داشتند. میانگین سنی اسب‌ها ۱۱ سال بود.

بررسی ترشحات منخرین: از ۱۰ رأس اسب ۶ رأس (۶۰ درصد) دارای ترشحات دو طرفه از منخرین و ۴ رأس (۴۰ درصد) دارای ترشحات یک طرفه از منخرین بودند.

در شکل ۵ و جدول ۳ خلاصه شده است.



تصویر ۵. باند ایجاد شده از تکثیر ناحیه ITS از ژن ریپوزوم DNA در مطالعه حاضر (اولین نوار سمت راست ladder است و ناحیه مشخص شده در نوار شش از سمت چپ نیز ladder بوده و نمونه‌ها از چپ به راست به ترتیب از یک تا ۱۰ مربوط به نمونه‌های اخذ شده است).

بحث و نتیجه گیری:

یکی از راه‌های مطالعه بخش فوقانی دستگاه تنفس فوقانی و ناهنجاری‌های آن، استفاده از دستگاه آندوسکوپي است. از نظر سنی بیشتر اسب‌ها در دامنه سنی ۵ تا ۱۰ سال قرار داشتند. این یافته‌ها ممکن است نشان دهنده این باشد که ترشحات بینی در اسب‌های میان سال نسبت به اسب‌های جوان و مسن شایع تر است. با توجه به این که بسیاری از اسب‌های بررسی شده عدم پاسخ به درمان داشتند، این موضوع می‌تواند نشان دهنده طبیعت مزمن و مقاوم به درمان ترشحات بینی در این گروه از اسب‌ها باشد. در مطالعه Dauvillier و همکارانش در سال ۲۰۱۹ که به بررسی قارچ‌ها در نمونه‌های تنفسی اسب‌های مبتلا به بیماری التهابی راه‌های هوایی پرداختند، در بررسی نمونه‌های ترشحات ۵۵ درصد از نمونه‌ها از لحاظ وجود قارچ مثبت بودند که نتایج مطالعه داویلر با مطالعه

نتایج کشت از نمونه‌های ترشحات: از ۱۰ نمونه ترشحات مورد بررسی، هر ۱۰ نمونه (۱۰۰ درصد) از نظر رشد عوامل قارچی مثبت بودند. در ۹ نمونه (۹۰ درصد) مورد بررسی بیش از یک گونه قارچی و حداکثر ۴ (در دو مورد) گونه قارچی رشد یافت. در ۴ نمونه (۴۰ درصد) علاوه بر قارچ‌های شفاف، قارچ‌های رنگی نیز جدا شد (شکل ۳).

تشخیص مورفولوژیک جدایه‌های قارچی رشد یافته در محیط کشت: تشخیص مورفولوژیک جدایه‌های رشد یافته

بر روی محیط کشت با بررسی خصوصیات کلنی شامل اندازه، شکل و قوام، رنگ سطح و پشت کلنی، سرعت رشد و سپس با بررسی میکروسکوپی ساختمان‌های زایشی و رویشی قارچ صورت گرفت. بر این اساس از ۱۰ نمونه کشت داده شده مجموعاً ۸ جنس یا گونه قارچی شامل: آسپرژیلوس فومیگاتوس ۵ مورد (۲۱/۷۳ درصد) (شکل ۴)، آسپرژیلوس نایجر ۳ مورد (۱۳/۰۴ درصد)، موکور ۳ مورد (۱۳/۰۴ درصد)، رایزوپوس ۲ مورد (۸/۶۹ درصد)، آسپرژیلوس فلاووس ۳ مورد (۱۳/۰۴ درصد)، پنی سیلیوم ۲ مورد (۸/۶۹ درصد)، آلترناریا ۴ مورد (۱۷/۳۹ درصد)، کلادوسپوریوم ۱ مورد (۴/۳۴ درصد) جدا شد. نتایج نشان می‌دهد گونه‌های آسپرژیلوس و به طور ویژه آسپرژیلوس فومیگاتوس شایع‌ترین گونه قارچی است که از ضایعات قارچی ناحیه منخرین در اسب جدا می‌شود. به عبارتی در ۱۰ اسب مورد مطالعه از ۵ رأس (۵۰٪) آسپرژیلوس فومیگاتوس جدا گردید. بعد از آن به ترتیب قارچ‌های آلترناریا، آسپرژیلوس نایجر، آسپرژیلوس فلاووس، موکور، رایزوپوس، پنی سیلیوم و کلادوسپوریوم قرار داشتند.

نتایج حاصل از PCR و تعیین توالی گونه‌های آسپرژیلوس

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

حاضر همسو بود (۱۳). همچنین در مطالعه‌ی Dobias و همکاران در سال ۲۰۲۳، آسپرژیلوس یکی از مهم‌ترین پاتوژن‌ها در بیماری‌های اسب، از جمله بیماری‌های تنفسی معرفی شد. این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر که آسپرژیلوس در بین سایر گونه‌های قارچی بیشترین فراوانی را داشت، همسو بود (۱۴). در مطالعه‌ی Kelly و همکاران در سال ۲۰۱۳، که برای مقایسه‌ی آندوسکوپی در حال استراحت و آندوسکوپی در حین ورزش بر روی ۵۷ اسب تروبرد انجام شد، عدم تقارن حنجره شایع‌ترین ناهنجاری شناسایی‌شده در حال استراحت بود، در حالی‌که در آندوسکوپی حین ورزش یا دینامیک، جابجایی پشتی کام نرم بیشتر دیده می‌شد. یک‌سری از آسیب‌های آناتومیکی که در حال استراحت دیده نمی‌شد، مانند کلاپس حنجره و کلاپس لیگامان کریکوتراکتال، در حال ورزش تأیید گردید. در این مطالعه، تغییرات قابل توجهی در نتایج آندوسکوپی در حال استراحت و آندوسکوپی پویا (دینامیک) شناسایی شد که نشان می‌دهد آندوسکوپی در حال استراحت ممکن است برای پیش‌بینی آسیب‌های حین ورزش کافی نباشد. از این‌رو، نتایج این مطالعه با مطالعه‌ی حاضر همسو نبود (۱۵). همچنین در مطالعه‌ی Lane و همکاران در سال ۲۰۰۶، که برای مقایسه‌ی آندوسکوپی در حال استراحت و آندوسکوپی روی تردمیل بر روی ۶۰۰ رأس اسب تروبرد انجام شد، مشخص شد که آندوسکوپی در حال استراحت به اندازه‌ی آندوسکوپی روی تردمیل در تشخیص اختلالات دستگاه تنفسی فوقانی کاربرد ندارد (۱۶). در مطالعه Shawaf در سال ۲۰۱۷ که بر روی یک رأس اسب عرب ۴ ساله با علائم بالینی شامل ترشحات موکوسی چرکی و خون‌ریزی از منخرین به همراه عدم تحمل ورزش انجام شد، مشخص شد که قطعه‌ای از دندان به عنوان جسم خارجی در

حفره‌ی بینی قرار گرفته است. در مطالعه‌ی حاضر که با آندوسکوپی در حال استراحت انجام گرفت، حفره‌ی بینی به‌طور کامل بررسی شد و هیچ‌کدام از اسب‌های مورد مطالعه دارای جسم خارجی در حفره‌ی بینی نبودند. همان‌طور که Shawaf در مطالعه‌ی خود بیان کرد، رخداد جسم خارجی در حفره‌ی بینی نادر بوده و از این‌رو، مطالعه‌ی Shawaf با مطالعه‌ی حاضر همسو می‌باشد و گزارش رخ داده توسط او به‌صورت گزارش انفرادی می‌تواند مطرح باشد (۱۷). در مطالعه‌ی Tan و همکاران در سال ۲۰۰۵، که بر روی ۲۹۱ اسب دارای صدای تنفسی اضافه در هنگام تمرین انجام شد و با استفاده از ویدئوآندوسکوپی روی تردمیل پرسرعت صورت گرفت، پس از معاینات آندوسکوپی مشخص شد که بیشترین یافته‌ی غیرطبیعی مربوط به رخداد انحراف محوری چین پیش‌اپی گلو تیک (ADAF - Axial deviation of the Aryepiglottic folds) است. همچنین مشخص شد که ADAF زمینه‌ساز ابتلا به سایر اختلالات است. در بین یافته‌ها، هیچ ارتباطی بین سن و جابجایی پشتی کام نرم یافت نشد. Tan بیان کرد که ویدئوآندوسکوپی در هنگام تمرین، مهم‌ترین ابزار برای تشخیص اختلالاتی است که منجر به تولید صدای اضافه در زمان تمرین می‌گردد. در مطالعه‌ی حاضر، رخداد صدای تنفسی اضافه در هنگام تمرین مورد بررسی قرار نگرفت؛ اما با آندوسکوپی در حال استراحت، در یک رأس، فلجی یک‌طرفه‌ی حنجره در سمت چپ و در دو رأس جابجایی پشتی کام نرم تشخیص داده شد که از نظر روش آندوسکوپی استفاده‌شده با مطالعه‌ی Tan همسو نبود، زیرا او این اختلالات را با استفاده از آندوسکوپی روی تردمیل پرسرعت تشخیص داده بود (۱۸). در مطالعه‌ی Joo و همکارانش در سال ۲۰۱۵، که برای ارزیابی یافته‌های

آندوسکوپی در اسب‌های ورزشی و سواری آزاد با استفاده از آندوسکوپی در میدان انجام گردید، مشخص شد که تشخیص فلجی یک‌طرفه‌ی حنجره و کلاپس حلقی تنها با یافته‌های بالینی در آندوسکوپی در حال استراحت ممکن نیست؛ زیرا تشخیص این دو اختلال نیازمند افزایش فعالیت سیستم عصبی-عضلانی در هنگام تمرین بوده تا تشخیص قطعی صورت گیرد. در مطالعه‌ی حاضر، در یک رأس، فلجی یک‌طرفه‌ی حنجره و در دو رأس نابجایی پشتی کام نرم با آندوسکوپی در حال استراحت تشخیص داده شد که از این‌رو، با مطالعه‌ی Joo هم‌سو نبود (۱۹). در مطالعه Barakzai و همکارانش در سال ۲۰۱۲ آمده است که بهترین روش برای تشخیص اختلالات دستگاه تنفسی فوقانی در اسب، انجام آندوسکوپی در میدان است. در این مطالعه مشخص شد که استفاده از ترکیب آندوسکوپی در حال استراحت و آندوسکوپی در میدان برای تشخیص اختلالات دستگاه تنفس فوقانی مفید است. در مطالعه حاضر که با آندوسکوپی در حال استراحت صورت گرفت، فلجی یک طرفه حنجره و هیپرپلازی لنفوئیدی که در گروه ناهنجاری‌های دائمی قرار داشتند، تشخیص داده شد و از این رو مطالعه باراکزای با مطالعه حاضر هم‌سو بود (۲۰ و ۲۱). Garrett و همکاران در سال ۲۰۱۱ دریافتند که اختلالات دستگاه تنفس فوقانی با استفاده از ویدئو آندوسکوپی در حال تمرین قابل تشخیص است، آن‌ها بیان کردند که در صورت استفاده از آندوسکوپی در حال استراحت برای تشخیص ناهنجاری‌های دستگاه تنفس فوقانی، معاینه باید بلافاصله بعد از تمرین و در زمانی باشد که اسب هنوز تنفس شدید ناشی از تمرین دارد. در مطالعه حاضر معاینه آندوسکوپی بدون در نظر گرفتن فاصله آن با زمان تمرین انجام گرفت و در یک

رأس فلجی یک طرفه حنجره و در دو رأس نابجایی پشتی کام نرم در حالت استراحت تشخیص داده شد و از این رو با مطالعه Garrett هم‌سو نبود (۲۲). در مقایسه مطالعات صورت گرفته و مطالعه حاضر به نظر می‌رسد ناهنجاری‌های دائمی دستگاه تنفس فوقانی به وسیله آندوسکوپی در حال استراحت قابل تشخیص هستند. اما ناهنجاری‌های گذرای دستگاه تنفس فوقانی که ناهنجاری‌های دینامیک هستند، ممکن است در آندوسکوپی در حال استراحت تشخیص داده نشود و تشخیص قطعی آن نیازمند ترکیب آندوسکوپی در میدان و آندوسکوپی در حال استراحت می‌باشد. عفونت‌های قارچی جیوب حلقی یک عفونت نادر در اسب است. تشخیص این عفونت‌ها اغلب بر اساس تاریخچه، علائم بالینی و آندوسکوپی صورت می‌گیرد؛ اما درمان این عفونت‌ها برای دامپزشکان بالینی چالش بزرگی است. انواعی از قارچ‌های ساپروفیت از عفونت قارچی جیوب حلقی جدا می‌گردد. هرچند که گونه‌های متعلق به جنس آسپرژیلوس و خصوصا آسپرژیلوس فومیگاتوس از شیوع بیشتری بر خوردار است. گونه‌های آسپرژیلوس و سایر قارچ‌های ساپروفیت به طور طبیعی در محیط و در قسمت‌های مختلف دستگاه تنفس فوقانی اسب‌های سالم یافت می‌شود. رطوبت بالای محیط، درمان طولانی مدت با داروهای آنتی بیوتیک، شرایط نقص ایمنی، استفاده از کورتیکواستروئیدها از عوامل مهم در تکثیر بیش از حد قارچ در مجاری تنفسی می‌باشد، هر چند فرآیند ایجاد عفونت در اسب‌های سالم به درستی شناخته نشده است (۲۳). مرگ و میر ناشی از مایکوز جیوب حلقی در مواردی که درمان صورت نگرفته، حدود ۵۰-۶۰ درصد و در مواردی که درمان دارویی انجام گرفته حدود ۴۵ درصد بوده است. در اسب‌هایی که درمان به روش جراحی

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

جدول ۳. نتایج حاصل از تعیین توالی گونه‌های آسپرژیلوس

ردیف	تشخیص میکروسکوپی از نظر عناصر قارچی	کشت تشخیص مورفولوژیک	تشخیص نهایی (تشخیص مولکولی گونه آسپرژیلوس)
۱	مثبت	آلترناریا-کلادوسپوریوم-آسپرژیلوس فلاوس-موکور	آلترناریا آلترناتا آسپرژیلوس فلاوس-موکور
۲	مثبت	آلترناریا-رایزوپوس	آلترناریا آلترناتا-رایزوپوس اوریزه
۳	مثبت	آسپرژیلوس فومیگاتوس رایزوپوس	آسپرژیلوس فومیگاتوس رایزوپوس اوریزه
۴	منفی	آسپرژیلوس نایجر-موکور	آسپرژیلوس نایجر-موکور
۵	مثبت	آسپرژیلوس فومیگاتوس	آسپرژیلوس نایجر
۶	مثبت	آسپرژیلوس فومیگاتوس پنی سیلیوم	آسپرژیلوس فومیگاتوس پنی سیلیوم کرایزوترونوم
۷	مثبت	آسپرژیلوس فلاوس و فومیگاتوس-موکور	آسپرژیلوس فومیگاتوس آسپرژیلوس فلاوس
۸	مثبت	آلترناریا-آسپرژیلوس فومیگاتوس و نایجر	آسپرژیلوس فومیگاتوس آسپرژیلوس نایجر
۹	مثبت	آسپرژیلوس فلاوس پنی سیلیوم	آسپرژیلوس فومیگاتوس آسپرژیلوس فلاوس پنی سیلیوم کرایزوترونوم
۱۰	مثبت	آلترناریا-آسپرژیلوس نایجر	آسپرژیلوس نایجر-آلترناریا آلترناتا

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ‌شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

انجام پذیرفته است مرگ و میر در حدود ۳۳ درصد گزارش شده است. در ۷۵ درصد از اسب‌هایی که مبتلا به مایکوز جیوب حلقی بودند خونریزی از منخرین، در ۱۵٪ اختلال در بلع و در ۱۰٪ ترشحات چرکی از منخرین وجود داشته است. در مطالعه حاضر از ۱۰ اسب مورد بررسی که ترشحات مقاوم به درمان از منخرین داشتند، ۳ گونه آسپرژیلوس جدا شد که در این بین آسپرژیلوس فومیگاتوس با فراوانی (۲۱/۷۳ درصد) شایع‌ترین گونه جدا شده بود. از بین ۱۰ رأس اسب در مطالعه حاضر تنها یک رأس در معاینه آندوسکوپی انجام شده هیچگونه اختلالی در دستگاه تنفس فوقانی نشان نداد. در آزمایش تشخیص مولکولی روی نمونه اخذشده از این اسب، آسپرژیلوس فومیگاتوس و پنی‌سیلیوم کرایزوزنوم به‌دست آمد. سایر اسب‌هایی که مورد مطالعه قرار گرفتند، در معاینات آندوسکوپی دارای ناهنجاری در مجاری تنفسی فوقانی بودند. از این بین، تنها در یک اسب ترشحات از منخرین با منشأ جیوب حلقی بود. در مطالعه Dixon و همکاران در سال ۲۰۱۳-۲۰۱۴ بر روی ۱۰ اسب دارای ترشحات یک‌طرفه بینی، تجمع چرک در بوقک‌های بینی مشخص شد. مطالعه مبتلایان به روش CT مشخص کرد که در ۷ مورد بیماری‌های هم‌زمان سینوس‌های اطراف بینی وجود دارد و در ۳ مورد دیگر، ایجاد منفذ در بوقک‌ها از طریق بینی، تخلیه و پاک‌سازی چرک را تسهیل کرد. نتیجه می‌گیریم که بیماری بوقک‌های بینی باید به‌عنوان یک علت بالقوه در ترشحات مزمن یک‌طرفه‌بینی در نظر گرفته شود. پاک‌سازی این چرک‌ها را می‌توان از طریق شست‌وشوی سینوس پارانازال یا ایجاد منفذ در بوقک‌ها انجام داد (۲۴).

Wood و همکاران در سال ۲۰۰۵ به بررسی بیماری‌های

تنفسی در اسب‌های نژاد تروبرد و وابستگی این بیماری‌ها با سن اسب‌ها پرداختند. اسب‌ها به‌صورت ماهانه در یک دوره ۳ ساله مورد مطالعه قرار گرفتند. نتایج مشخص کرد که شیوع بیماری التهابی مجاری هوایی ۸/۱۳ و بروز آن ۹/۸ مورد در هر ۱۰۰ اسب بود. همچنین، میزان شیوع ترشحات از منخرین ۱/۴ درصد گزارش شد. این مطالعه مشخص کرد که التهاب مجاری هوایی و ترشحات از منخرین در اسب‌های جوان مسابقه رایج بود و به‌طور قابل‌توجهی با افزایش سن کاهش یافت. شیوع بالای التهاب راه‌های هوایی در اسب‌های دوساله در بریتانیا نشان داد که معاینه آندوسکوپی مرسوم ممکن است در ارائه تشخیص زودهنگام و درمان مناسب کارساز باشد (۲۵).

Bosshard در سال ۲۰۱۴ مطالعه‌ای را بر روی دو گروه اسب انجام داد با این فرضیه که گروهی از اسب‌ها که دارای علائم بالینی خفیف تنفسی مانند ترشحات مخاطی بینی و سرفه‌های گاه‌به‌گاه هستند، بیشتر در معرض ابتلا به انسداد عودکننده راه‌های هوایی هستند. نتایج آزمایش و جمع‌آوری اطلاعات در فواصل ۱۰۵ تا ۵ سال این فرضیه را تأیید کرد (۲۶).

در مطالعه Valminck و همکاران که در سال ۲۰۲۱ بر روی تشخیص و درمان جراحی ۷ اسب مینیاتوری انجام شد، بر اساس معاینات بالینی، آندوسکوپی، رادیوگرافی و سی‌تی‌اسکن، انسداد ایدیوپاتیک سینوسی-بینی که منجر به احتباس مقادیر زیادی مایع در بخش‌های سینوس‌های اطراف بینی شده بود، تشخیص داده شد. شایع‌ترین علائم بالینی شامل کاهش یا عدم جریان هوا از سوراخ‌های بینی و ترشحات تنفسی بود. این مشکل در شش مورد از هفت مورد

یافته‌های بالینی، آندوسکوپی و قارچ‌شناسی اسب‌های دارای ترشحات مزمن از منخرین

Tazikeh و همکاران در سال ۲۰۱۸ از مجموع ۱۵۰ رأس اسب دارای نشانه‌های بالینی تنفسی و سابقه ابتلا به این بیماری‌ها، نمونه‌های خون و سواب‌های بینی تهیه کردند. DNA نمونه‌ها استخراج شده، سپس با روش Real-Time PCR مورد مطالعه قرار گرفتند. ۱۸ رأس از نظر هرپس‌ویروس تیپ ۴ تک‌سمیان مثبت بودند. از این تعداد، ۷ مورد مربوط به نمونه‌های خون و ۱۱ مورد مربوط به نمونه‌های تنفسی بودند. عفونت‌های حاصل از هرپس‌ویروس‌ها در تمام دنیا پراکنده است و در میان آن‌ها، هرپس‌ویروس تیپ ۴ تک‌سمیان یکی از عوامل مهم خسارت در صنعت اسب است. این ویروس به‌طور عمده موجب بروز بیماری‌های تنفسی می‌شود. مانند نمونه‌های قبل، این ویروس نیز نیازمند برنامه‌های دقیق پیشگیری و کنترل است (۳۰).

نتیجه‌گیری نهایی:

مطالعه حاضر نشان داد که ناهنجاری‌های دستگاه تنفس فوقانی، با مستعد کردن این بخش به ابتلا به عفونت‌های قارچی سبب ترشحات از منخرین شده به صورت مزمن می‌گردد. تشخیص قطعی منشأ ترشحات به کمک معاینات آندوسکوپی و اخذ نمونه از دستگاه تنفس فوقانی بایستی صورت بگیرد.

سپاسگزاری:

بدین وسیله نویسندگان مقاله حاضر از همکاری مالکان محترم و مدیریت باشگاه‌های سوارکاری که نمونه‌گیری اسب‌ها در آنها صورت گرفته است، نهایت امتنان و قدردانی را بعمل می‌آورد.

به‌صورت دوطرفه بود. یک ارتباط سینوسی-بینی جایگزین از طریق جراحی استئوتومی فلپ استخوانی و سوراخ کردن کف ونترومدیال شاخک‌های پشتی در همه موارد ایجاد شد و به‌دنبال آن، تثبیت فولی‌کاتترها در شش مورد از هفت مورد برای باز نگه‌داشتن دهانه انجام شد. این امر منجر به رفع طولانی مدت مشکل با ظاهری خوب شد (۲۷).

Bastani و همکاران در سال ۲۰۲۰ بر روی ۱۴۹ رأس اسب دارای علائم تنفسی (تب، ترشحات بینی و سرفه)، عصبی (آتاکسی و ازپافتادگی) و سقط جنین تحقیقاتی انجام دادند. پس از خون‌گیری و جداسازی سرم به کمک کیت الایزا، از مجموع ۱۴۹ رأس، ۱۱ مورد از نظر آنتی‌بادی علیه ویروس تورم سرخرگی اسبان مثبت بودند. این ویروس سبب ایجاد بیماری‌های تنفسی، سقط و گاهی علائم عصبی می‌شود. بنابراین، لزوم اجرای برنامه کنترل و واکسیناسیون در سطح کشور برای پیشگیری از این ویروس الزامی است (۲۸).

Moghaddam و همکاران در سال ۲۰۲۳ از ۱۲۱ رأس اسب دارای نشانه‌ها و درگیری‌های تنفسی نمونه‌گیری انجام دادند. نمونه‌برداری از قسمت فوقانی با استفاده از سواب‌های بینی-حلقی انجام و نمونه‌ها در محیط انتقال استاندارد و با رعایت زنجیره سرد به آزمایشگاه منتقل شدند. در کشت باکتریایی انجام‌شده بر روی نمونه‌ها، ۷۰ نمونه از مجموع ۱۲۱ نمونه از نظر استرپتوکوک‌های بتاهمولیتیک مثبت بودند. از مطالعات انجام‌گرفته‌شده نتیجه‌گیری می‌شود که این باکتری به‌عنوان یکی از اجرام بیماری‌زای بالقوه برای بیماری‌های دستگاه تنفس می‌باشد، لذا لزوم اجرای برنامه‌های پیشگیری و کنترلی را طلب می‌کند (۲۹).

- Hodgson DR, McKeever KH, McGowan CM. The athletic horse: principles and practice of equine sports medicine. 2nd ed. 2014. 398 p. doi:10.1016/C2009-0-46058-6.
- Franklin SH, Allen KJ. Assessment of dynamic upper respiratory tract function in the equine athlete. *Equine Vet Educ*. 2017;29 (2):92-103. doi:10.1111/eve.12432.
- Kelly PG, Reardon RJM, Johnston MS, Pollock PJ. Comparison of dynamic and resting endoscopy of the upper portion of the respiratory tract in 57 Thoroughbred yearlings. *Equine Vet J*. 2013; 45 (6):700-4. doi:10.1111/evj.12061.
- Seyedmousavi S, Bosco S, De Hoog S, Ebel F, Elad D, Gomes RR, et al. Fungal infections in animals: a patchwork of different situations. *Med Mycol*. 2018; 56 (suppl_1):S165-87. doi:10.1093/mmy/myx104.
- Katiraei F, Khordadmehr M. 2019. Pathology of Fungal Diseases in Domestic Animals, Pathology of Fungal Diseases. Tabriz University Press. p. 70-75.
- Khosravi A. Medical Mycology, Practical Methods, Culturing and Isolating Fungi. Jahad Daneshgahi Tehran Unit Press; 2003. p. 67-86.
- Khosravi A. Veterinary Mycology, Characteristics of Fungi. Jahad Daneshgahi Tehran Unit Press; 2005. p. 144-145.
- Klingspor L, Jalal S. Molecular detection and identification of *Candida* and *Aspergillus* spp. from clinical samples using real-time PCR. *Clin Microbiol Infect*. 2006; 12(8):745-53. doi:10.1111/j.1469-0691.2006.01498.x.
- Stirling D. DNA extraction from fungi, yeast, and bacteria. *Methods Mol Biol*. 2003; 226: 53-4. Available from: <https://link.springer.com/protocol/10.1385/1-59259-384-4:53>
- Fredricks DN, Smith C, Meier A. Comparison of six DNA extraction methods for recovery of fungal DNA as assessed by quantitative PCR. *J Clin Microbiol*. 2005; 43 (10):5122-8. doi:10.1128/jcm.43.10.5122-5128.2005.
- Glass NL, Donaldson GC. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Appl Environ Microbiol*. 1995; 61(4):1323-30. doi:10.1128/AEM.61.4.1323-1330.1995.
- White TJ, Bruns TD, Lee SB, Taylor JW. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. 2024. Available from: <https://www.researchgate.net/publication/223397588>
- Dauvillier J, ter Woort F, van Erck-Westergren E. Fungi in respiratory samples of horses with inflammatory airway disease. *J Vet Intern Med*. 2019; 33 (2):968-75. doi:10.1111/jvim.15397.
- Dobiáš R, Jahn P, Tóthová K, Dobešová O, Višňovská D, Patil R, et al. Diagnosis of aspergillosis in horses. *J Fungi*. 2023; 9 (2):161. doi:10.3390/jof9020161.
- Kelly PG, Reardon RJM, Johnston MS, Pollock PJ. Comparison of

- dynamic and resting endoscopy of the upper portion of the respiratory tract in 57 Thoroughbred yearlings. *Equine Vet J.* 2013; 45 (6):700-4. doi:10.1111/evj.12061.
16. Lane JG, Bladon B, Little DRM, Naylor JRJ, Franklin SH. Dynamic obstructions of the equine upper respiratory tract. Part 2: comparison of endoscopic findings at rest and during high-speed treadmill exercise of 600 Thoroughbred racehorses. *Equine Vet J.* 2006; 38 (5):401-8. doi:10.2746/042516406778400619.
17. Shawaf TM. Endoscopic diagnosis and management of an unusual nasal foreign body in a mare. *Int J Vet Sci Med.* 2017; 5 (1):81-3. doi:10.1016/j.ijvsm.2017.05.002.
18. Tan RHH, Dowling BA, Dart AJ. High-speed treadmill videoendoscopic examination of the upper respiratory tract in the horse: the results of 291 clinical cases. *Vet J.* 2005; 170 (2):243-8. doi:10.1016/j.tvjl.2004.06.011.
19. Joo K, Szenci O, Bohak Z, Povaszai A, Kutasi O. Evaluation of overground endoscopy findings in sport and pleasure horses. *J Equine Vet Sci.* 2015; 35 (9):756-62. doi:10.1016/j.jevs.2015.07.016.
20. Handbook of equine respiratory endoscopy. [Cited 2024]. Available from: <https://vetbooks.ir/handbook-of-equine-respiratory-endoscopy>.
21. Barakzai SZ, Cheetham J. Endoscopic examination of exercising horses: effects on diagnosis and treatment of upper respiratory tract disorders. *Equine Vet J.* 2012; 44 (5):501-3. doi:10.1111/j.2042-3306.2012.00625.x.
22. Garrett KS, Woodie JB, Embertson RM. Association of treadmill upper airway endoscopic evaluation with results of ultrasonography and resting upper airway endoscopic evaluation. *Equine Vet J.* 2011; 43 (3):365-71. doi:10.1111/j.2042-3306.2010.00216.x.
23. Ludwig A, Gatineau S, Reynaud MC, Cadoré JL, Bourdoiseau G. Fungal isolation and identification in 21 cases of guttural pouch mycosis in horses (1998-2002). *Vet J.* 2005; 169 (3):457-61. doi:10.1016/j.tvjl.2004.06.005.
24. Dixon PM, Froydenlund T, Luiti T, Kane-Smyth J, Horbal A, Reardon RJM. Empyema of the nasal conchal bulla as a cause of chronic unilateral nasal discharge in the horse: 10 cases (2013-2014). *Equine Vet J.* 2015; 47 (4):445-9. doi:10.1111/evj.12316.
25. Wood JLN, Newton JR, Chanter N, Mumford JA. Inflammatory airway disease, nasal discharge and respiratory infections in young British racehorses. *Equine Vet J.* 2005; 37 (3):236-42. doi:10.2746/0425164054530599.
26. Bosshard S, Gerber V. Evaluation of coughing and nasal discharge as early indicators for an increased risk to develop equine recurrent airway obstruction (RAO). *J Vet Intern Med.* 2014; 28 (2):618-23. doi:10.1111/jvim.12294.
27. Vlaminck L, Pollaris E, Vanderperren K, Tremaine WH, Raes E. Diagnosis and surgical treatment of idiopathic primary sino-nasal obstruction in miniature horse breeds: long-term follow-up of seven cases. *Front Vet Sci.* 2021; 8:680150. doi:10.3389/fvets.2021.680150.
28. Bastani B, Raoofi A, Madadgar O, Akbarein H. Investigation of equine arteritis virus infection using ELISA in horses with a history or clinical

- signs of the disease from four provinces of Iran. J Vet Res. 2020; 75 (2):200-7.
doi:10.22059/jvr.2020.294676.2931.
29. Moghaddam S, Lotfollahzadeh S, Salehi TZ, Hassanpour A, Manesh HT, Akbarein H. Frequency and potential components affecting infections caused by beta-hemolytic streptococci in the respiratory tract of horses with clinical symptoms in breeding centers in northwest Iran. J Vet Res. 2023; 78 (2):97-107.
doi:10.22059/jvr.2023.352017.3220.
30. Tazikeh A, Raoofi A, Madadgar O, Akbarein H, Mashhadi AG. Investigation of equine herpesvirus type 4 infection using Real-Time PCR TaqMan in four selected provinces of Iran. J Vet Res. 2018; 73 (4):483-90.
doi:10.22059/jvr.2018.252271.2816.

Clinical, endoscopic and mycological finding in horses with chronic nasal discharge

Fereydon Rezazadeh^{1*}, Farzad Katirae², Mohammad Hassan Riyahi³, Hossein Kulivand Saluki⁴

1- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz- Iran

2- Associate Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz- Iran

3- DVM, graduated of veterinary Medicine, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz- Iran

4- DVM student of Veterinary Medicine, University of Tabriz, Tabriz- Iran

Email: f_rezazadeh@tabrizu.ac.ir

Abstract

Diseases of the upper respiratory tract have been considered due to their association with athletic performance and horse health. Upper respiratory tract abnormalities are examined in two groups infectious and dynamic abnormalities. Among infectious disorders, fungal infections have challenged equine veterinarians due to their resistance to treatment. This study aimed to investigate the origin of secretions from the nostrils and its association with upper respiratory tract diseases. In the present study, 10 horses with secretions from nostrils that did not respond to treatment, after segregation by age, sex and breed, underwent endoscopic rest and mycological sampling. Sedation was performed by administering Detomidine Hydrochloride at a dose of 0.04 mg/kg. After observing the nose, throat and larynx and the space inside the guttural pouch, disorders such as nasal inflammation, epiglottis involvement, epiglottis enlargement, pharyngeal lymphoid hyperplasia, unilateral laryngeal paralysis, arytenoid cartilage deformity, discharge from the guttural pouch and dorsal soft palate dislocation were examined. Two swabs were taken from each horse, and each was sent to a mycology laboratory in a separate tube, one containing physiological serum plus chloramphenicol and the other containing Sabouraud Dextrose agar plus chloramphenicol. Nine heads (90 per cent) of the studied horses had upper respiratory tract abnormalities. Lymphoid hyperplasia was the most common among upper respiratory tract abnormalities. The result of mycological culture was positive for every 10 heads (100 per cent). In only one head, the guttural pouch was the source of the discharge. Among the obtained fungi, *Aspergillus fumigatus* was the most abundant. The present study showed that most discharges from nostrils that do not respond to drug treatment are due to fungal infections and definitive diagnosis is possible with the help of biopsy and endoscopic examination. In future studies, it is suggested that in addition to the use of field endoscopy, a wider statistical population should be examined.

Keywords: Chronic, Endoscopy, Horse, Mycology, Respiratory