اولین بررسی سیتولوژیک گوش خارجی در دوگونه جوجه تیغی گوش دراز و برندت ایرانی

غزل آفتاب[۱]، فرنوش ارفعی[۱*]، احمد اصغری[۱]، تقی زهرایی صالحی [۲]

چکیده

التهاب و عفونت گوش یک یافته ی رایج در گونه های مختلف جوجه تیغی میباشد. سیتولوژی اولین و مطمئن ترین راه تشخیص این بیماری می باشد . با این وجود تاکنون هیچ مطالعه ای بر روی معیارهای نرمال سیتولوژیک گوش هیچ گونه ای از جوجه تیغی صورت نگرفته است. در این مطالعه برای اولین بار به بررسی سیتولوژی گوش در دو گونه جوجه تیغی گوش دراز و برندت ایرانی دارای سلامت کامل ،برای یافتن معیارهای طبیعی پرداخته شد.۲۰سرجوجه تیغی گوش دراز(۱۰ نر و ۱۰ ماده) و۲۰سرجوجه تیغی برندت(۱۰ نر و ۱۰ ماده) در این مطالعه بررسی شدند. بیهوشی به وسیله ی کتامین و دیازپام و طبق پروتکل مربوط به جوجه تیغی صورت گرفت. بعد از تایید سلامت کامل گوش ها از هر دو گوش نمونه برداری سیتولوژیک انجام شده و برای هر گوش سه لام تهیه گردید. رنگ آمیزی لام ها به دو روش رنگ امیزی گیمسا و گرم انجام شد. مخمر ها شایع ترین یافته ی دیده شده در گوش جوجه تیغی های مورد بررسی بودند. در هیچ یک از نمونه های مطالعه شده باکتری میله ای دیده نشد. کوکسی های گرم مثبت, سلول های سنگفرشی بدون هسته وسلول های سنگفرشی هسته دار به ترتیب شایع ترین موارد دیده شده بودند. سیتولوژی گوش سالم در جوجه تیغی شباهت بسیار زیادی به سیتولوژی گوش سگ های سالم و همچنین گربه های سالم دارد.

واژگان کلیدی: جوجه تیغی گوش دراز، جوجه تیغی برندت، اوتیت، سیتولوژی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۹/۱۶ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۱۱/۲۸

مقدمه

حیوانات خانگی نقش مهمی را در جوامع بشری امروزی ایفا میکنند. ارتباط احساسی عاطفی نزدیک بین حیوانات خانگی و صاحبانشان و نقش مثبت روانی آن ،انکار ناپذیر و رو به افزایش است(۱). اگرچه میزان نگهداری از حیوانات اگزوتیک به عنوان حیوان خانگی رو به افزایش است ،صاحبان این حیوانات و فعالان حوزه ی سلامت اطلاع دقیق و کافی درباره ی معیارهای تشخیص طبیعی سلامتی آن ها ندارند و این امر منجر به ایجاد چالش درامرتشخیص ودرمان این جانداران وهمچنین دشواری تمایز حالت های سلامت از بیماری درا ین حیوانات می شود(۲). جوجه تیغی ها از معدود پستانداران وحشی هستند که به زندگی با انسان سازگاری پیدا کرده اند. با مراجعه ی روز افزون جوجه تیغی ها به کلینیک های دامپزشکی داشتن پارامترهای طبیعی بدن، برای بررسی وضعی تسلامت وبیماری حیوان اهمیت بسیاری دارد(۳).

جوجه تیغی ها پستانداران کوچکی از خانواده اریناسئیده (Erinaceidae) هستند. آنها حیواناتی شبگرد با خارهای محافظ در پشت بدن خود هستند. هفده گونه جوجه تیغی بومی در مناطق مختلفی از جمله خاورمیانه ،اسیای مرکزی و نیوزلند ، افریقا و اروپا زندگی می کنند. هیچ جوجه تیغی بومی در امریکا و استرالیا وجود ندارد. جوجه تیغی گوش دراز با نام علمی (Hemiechinus Auritus) گونه ای از جوجه تیغی بومی کشور های اسیای مرکزی و خاورمیانه است. جوجه تیغی گوش دراز یکی از کوچکترین جوجه تیغی های خاورمیانه محسوب می شود و در مناطق مدیترانه ی شرقی ، افغانستان ، چین ، قبرس ، مصر ، ایران ، عراق ،

۱-گروه علوم درمانگاهی، واحدعلوم وتحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران f.arfaee@srbiau.ac.ir
۲-گروه میکروبیولوژی، دانشگاه تهران، تهران، ایران.

اسرائیل ، قرقیزستان ، لبنان ، لیبی ، مغولستان ، پاکستان ، روسیه ، سوریه ، تاجیکستان ، ترکیه و ازبکستان زندگی می کند. این جوجه تیغی باگوش های بلندش متمایز می شود و حدود ۲۵۰ تا۵۰۰ گرم وزن دارد(٤). جوجه تیغی برندت با نام علمی (paraechinus hypomelas)گونه‌ای از جوجه تیغی بیابانی بوم یبخش هایی از اسیای مرکزی و خاورمیانه است . اندازه ی ان تقریبا به اندازه جوجه تیغی اروپای غربی و حدود۵۰۰ تا۱۰۰۰ گرم است. گوش های بزرگ این جوجه تیغی شباهت بسیار زیادی به جوجه تیغی گوش دراز دارد(۳). التهاب گوش خارجی یکب یماری بالینی شایع و چند عاملی است. در مطالعات انجام شده بر روی بیماری های درگیرکننده ی جوجه تیغی ، التهاب گوش خارجی به عنوان یک یافته ی شایع گزارش شده است. همچنین در مطالعه ای که به بررسی علل مرگ و میر جوجه تیغی ها می پردازد موارد بسیاری از التهاب گوش گزارش شده است. از علائم بالینی التهاب گوش خارجی در جوجه تیغی ها میتوان به حساسیت ناحیه ، قرمزی مجرای گوش و ترشحات چرکی و بوی بدا شاره کرد. هجوم کنه ها و انگل های خارجی ممکن است از عوامل مساعد کننده ی التهاب گوش در جوجه تیغی ها باشد. عفونت های باکتریایی و مخمری باید به عنوان علل احتمالی ایجاد التهاب گوش درجوجه تیغی ها در نظر گرفته شود. پوسته پوسته شدن لبه های لاله ی گوش یک یافته ی رایج در التهاب گوش جوجه تیغی های کوتوله ی افریقایی است(۵). تشخیص التهاب گوش خارجی از طریق شرح حال بالینی، معاینه ی گوش و بررسی سلول شناسی نمونه های رنگ امیزی شده از مجرای گوش خارجی به دست می آید. این فرایند به وسیله ی بررسی حضور و میزان سلول ها وارگانیسم های مختلف موجود در گوش صورت می گیرد(٦).

باکتری های کروی شکل (استافیلوکوک و استرپتوکوک) ، باکتری های میله ای (سودوموناس و پروتئوس) مخمرها (مالاسزیا و کاندیدا) در سیتولوژی عفونت گوش خارجی دیده می شوند. بررسی سلول شناسی گوش در تشخیص مالاسزیا و باکتری ها حساس تر از کشت گزارش شده است(۷). تشخیص التهاب کانال گوش خارجی به روش سلول شناسی ، نیاز به دانش و آگاهی از سلول شناسی طبیعی گوش سالم در گونه های مختلف از جمله جوجه تیغی دارد. این مطالعه برای اولین بار با هدف تعیین سلول شناسی طبیعی مجرای گوش خارجی دوگونه جوجه تیغی انجام شد(۸).

مواد و روش‌کار

۲۰ سر جوجه تیغی گوش دراز (۱۰ نر و ۱۰ ماده) با محدوده ی وزنی (٦۲۵/٤٦۵) و۲۰سر جوجه تیغی برندت (۱۰ نر و ۱۰ ماده) با محدوده ی وزنی (٦/۷۵۱±۸/۳۷) در این مطالعه مورد بررسی قرار گرفتند. تمامی جوجه تیغی ها بعد از معاینه بالینی و اطمینان از عدم وجود هرگونه علامت پوستی، علائم التهاب گوش خارجی و یا علائم بیماری سیستمیک وارد مطالعه شدند.

برای انجام مطالعه ،ابتدا بیهوشی با پروتکل استاندارد مربوط به جوجه تیغی، کتامین الفاسان۱۰درصد (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم) ودیازپام کیمیا دارو (۰/۵ میلی گرم بر کیلوگرم) به صورت داخل عضلانی انجام شد. نمونه برداری از هردوگوش جوجه تیغی ها بااستفاده ازسواب پنبه استریل انجام شد و هر یک از سواب ها بعد از نمونه برداری در لوله آزمایش حاوی سرم فیزیولوژی استریل به آزمایشگاه منتقل گردید و پس از رنگ امیزی زیر میکروسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند و رنگ ترشحات سرومنی تمامی نمونه ها ثبت شد.

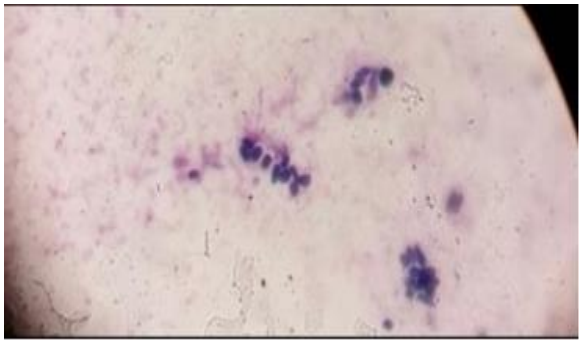
سپس سواب روی سه لام شیشه ای مختلف غلتانده از هر سواب بر روی سه لام شیشه ای گسترش تهیه گردید. لام به وسیله ی گرما فیکس گردید. هر یک از لام های شیشه ای مربوط به هر سواب به ترتیب به وسیله ی رنگ امیزی

رایت (Fisher)،گیمسا (Diff-Quik;Baxter Healthcare Co.,McGrawPark,IL,USA)، رنگ امیزی گرم و اخرین لام بدون رنگ آمیزی ،آماده سازی شده و هر یک به زایلن اغشته و به وسیله ی پرمانت کاورشدند. در اسلاید های رنگ امیزی شده به وسیله ی رنگ امیزی گیمسا و گرم مخمرها، باکتری، سلول های سنگفرشی واجد و فاقد هسته و توده های سلول های سنگفرشی در ۱۰میدان میکروسکوپیک بررسی شدند. متوسط تعداد ارگانیسم ها در هر میدان (HPF) برای هر نوع ارگانیسم به شکل جداگانه برای هر جوجه تیغی محاسبه ومشخص گردید. ارتباط تعداد مخمر، باکتری های کروی و استوانه ای وس لول های سنگفرشی با گونه جوجه تیغی، گوش دراز یا برندت، به وسیله ی ازمون دوطرفه ی ویلکاکسون بررسی شد. معناداری آماری درصورت ($p<0.05$) درنظرگرفته شد.

نتایج

مخمرها از ۹۷/۵ درصد گوش جوجه تیغی های گوش دراز (۳۹ از۴۰گوش) و کوکسی های گرم مثبت از ٤٥ درصد گوش جوجه تیغی های گوش دراز جدا شد (۱۸ از ٤٠گوش). هیچ باکتری میله ای در نمونه ها تشخیص داده نشد یک لام نشاندهنده ی هیچ یک از باکتری ها نبود. سلول اسکواموس هسته دار از ۳۰ درصد از نمونه های مربوط به جوجه تیغی گوش درازجداشد (۱۲ از٤٠گوش) همچنین رنگ سرومن در تمامی جوجه تیغی های گوش دراز زرد بود.

لام گوش۸۵ درصد از جوجه تیغی های برندت نشاندهنده ی وجود مخمرها بود (٣٤از٤٠). کوکسی های گرم مثبت از ۷۵درصد جوجه تیغی های برندت جدا شد (۳۰از٤٠گوش). هیچ باکتری میله ای در سیتولوژی گوش جوجه تیغی های برندت تشخیص داده نشد. سلول اسکواموس هسته دار از ٤٥ درصدگوش های جوجه تیغی های برندت جداشد(۱۸ از٤٠) . رنگ سرومن در تمام جوجه تیغی های برندت زرد بود.



نگاره۱ - مالاسزیاپکی درماتیس دیده شده در یک شان میکروسکوپیک

تعداد دقیق مخمر در (HPF) در هر اسلاید سیتولوژی گوش متفاوت بود. مخمرها و باکتری ها بیشتر در اطراف توده های اسکواموس سل دیده شدند ،اگرچه تعداد مخمر و باکتری در (HPF) ارتباط معناداری با حضور توده های اسکواموس سل نداشت. همچنین حضور مخمر و کوکسی ها هم با هم ارتباط معناداری نداشت. اسکواموس سل هسته دار و فاقد هسته در هر دو گونه دیده شد.

جوجه تیغی های برندت کوکسی های بیشتری نسبت به جوجه تیغی های گوش دراز داشتند. شیوع مخمرها در گوش دو گونه تفاوت معناداری نداشت اما جوجه تیغی های گوش دراز توده های اسکواموس سل بیشتری داشتند. مقادیر تعداد سلول در هر میدان میکروسکوپیک در دو نژاد متفاوت بود اما این تفاوت ارتباط معناداری بین نوع جوجه تیغی و تعداد ارگانیسم ها را نشان نداد. بیشترین حد متوسط تعداد سلولی در میدان های میکروسکوپیک در جوجه تیغی های گوش دراز به شکل (مخمرها۹ ,کوکسی ها ۰/٦ ,اسکواموس سل هسته دار ۱,۱ ,توده های اسکواموس سل ٦ و اسکواموس سل بدون هسته ۱/۲۱) بوده است. این مقادیر در مورد جوجه تیغی های برندت به شکل (مخمرها ۵/۸ ,کوکسی ها۱،اسکواموس سل هسته

دار۸/۱ ,توده های اسکواموس سل۱/٤واسکواموس سل بدون هسته ۲۱/۱)گزارش شد.

بحث

برای تقلید شرایط معاینه ی طبیعی کلینیکی در این مطالعه فقط به بررسی سیتولوژی گوش خارجی پرداختیم و از انجا که عبور سواب در مجرای گوش خارجی افقی در شرایط بالینی نیازمند بیهوشی و آرامبخشی و استفاده از محفظه اتوسکوپ برای عدم برخورد سواب به کانال عمودی گوش خارجی است هیچ تلاشی برای عبور سواپ به قسمت افقی گوش خارجی نشد. تفاوت های موجود در گزارشات کشت باکتریایی و قارچی گوش خارجی عمودی و افقی در سگ ها وگربه ها حاکی از اناست که سیتولوژی گوش خارجی عمودی و افقی میتواند با هم متفاوت باشد. در مطالعات انجام شده بر روی کشت گوش خارجی در سگ های سالم مالاسزیا باسیلوس استافیلوکوکوس استرپتوکوکوس کورینه باکتریوم اکتینومایسز و اکتینوباکتر جداسازی شده است(۷).

در کشت گوش خارجی سگ های نرمال ٤۷ درصد نمونه ها از لحاظ کشت مثبت بودند .۷ درصد موارد واجد مخمرها و۲۵ درصد واجد کوکسی های گرم مثبت بودند. در حالی که در سایتولوژی سگ های مشابه ۹٦ درصد سگ ها واجد مخمر و ٤۲ درصد واجد کوکسی ها بودند. تفاوت ها یگزارش شده در مطالعات انجام شده بر روی سگ ها میتواند به علت تفاوت ها در طراحی مطالعه , روش نمونه گیری، روش کشت و عوامل محیطی مثل اب وهواباشد(۸). در مطالعات دیگر ی که بر روی کشت و سیتولوژی سگ ها صورت گرفته است مخمرها و باکتریها از ۹سگ از۱۰سگ به روش سیتولوژی جداسازی شددرحالی که در کشت این میزان بسیار کمتر بوده است. تمامی این موارد نشاندهنده ی دقیقتر بودن سیتولوژی نسبت به کشت می باشد. در مطالعات پیشین در گربه های سالم مالاسزیا و استافیلوکوکوس از۲۰و٤۸ درصد گوش ها کشت شدند در حالی که این موارد در سیتولوژی گوش گربه های سالم از۸۳و۷۱ درصد گوش ها جدا شدند(۹). در مطالعه ی حاضر مخمر و کوکسی ها به ترتیب از ۹۷درصدو٤۵ درصد جوجه تیغی های گوش دراز و۸۵ درصدو۷۵ درصد جوجه تیغی های برندت جداسازی شد .

تغییرات آب و هوایی بر وقوع اوتیت خارجی اثر گذار است و ممکن است علت این موضوع تغییرات فلور گوش در طی فصل های مختلف به علت تغییر دما و فاکتور های محیطی باشد(۷). مطالعه ی حاضر در فصل بهار انجام شده وتفاوت معناداری بین ارگانیسم های جدا شده از گوش جوجه تیغی های گوش دراز وبرندت وجود نداشت. مخمره اا از ۹۷درصد گوش جوجه تیغی های گوش دراز و۸۵ درصد گوش جوجه تیغی های برندت جداسازی شد در حالی که هیچ علایمی از اووتیت در هیچ یک از گوش های مورد بررسی وجود نداشت. سرومن گوش تمامی جوجه تیغی های مورد بررسی فارغ از نوع جوجه تیغی زرد رنگ بود و تعداد مخمر و کوکسی جداسازی شده بر رنگ سرومن گوش در جوجه تیغی ها تاثیر گذار نبوده است در حالی که در مطالعات پیشین بر روی سگ ها و گربه ها رنگ تیره سرومن گوش را مربوط به میزان مخمر و کوکسی موجود در ان دانسته اند. گزارش بررسی شده روی سگها و گربه بیان میکند که در سگ های مبتلا به اوتیت رنگ ترشحات گوش به سمت قهوه ای سیاه می رود.

سلول های اسکواموس هسته دار به میزان۱/۱درجوجه تیغی های گوش درازو۱/۸درجوجه تیغی ها ی برندت در مطالعه ی حاضر دیده شد. وجود سلول های اسکواموس هسته دار را نمیتوان به طور قطع مربوط به یک فرایند پاتولوژیک دانست بلکه با وجود انکه این سلول ها به طور معمول در استراتومکورنئوم دیده نمیشود وجود انها می تواند به علت نازکبودن استراتوم کورنئوم باشد. در این حالت فرایند

سواب برداری میتواند سلولها را از لایه ی زیرین یعنی لایه ی هسته دار استراتوم گرانولوزوم برداشته باشد(۹).

میزان مخمرها در هر (HPF) در سگ ها ۳ درصد گزارش شده است درحالی که این میزان در جوجه تیغی ها بسیار بیشتر یعنی ۸ درصد بوده است(۱۰). همچنین این میزان در گربه ها در (HPF)۲درصد گزارش شده است که میزان بسیار کمتری را نسبت به جوجه تیغی ها نشان می دهد(۹).

باکتری های کوکسی به شکل متوسط در سگ ۰/٤در هر (HPF) و در گربه ۰/۳گزارش شده است که از میزان گزارش شده در مطالعه ی حاضر (درجوجه تیغی های برندت۰/۵ و جوجه تیغی های گوش دراز۰/٦) کمتراست(۱۰).

از آنجا که تعداد مخمر و باکتری در میدان های مختلف یک اسلاید می تواند متفاوت باشد بررسی چند (HPF)قبل از اعلام گزارش بسیار ضروری می باشد(۹). از همین رو در مطالعه حاضر تمامی مقادیر در۱۰(HPF) بررسی و متوسط آن گزارش شد.

فهرست منابع

1. Williams D, Adeyeye N, Visser E. Ophthalmological abnormalities in wild European hedgehogs (Erinaceus europaeus): a survey of 300 animals. Open Veterinary Journal. 2017;7(3):261-7.
2. Ghaffari MS, Hajikhani R, Sahebjam F, Akbarein H, Golezardy H. Intraocular pressure and Schirmer tear test results in clinically normal Long-Eared Hedgehogs (Hemiechi-nus auritus): reference values. Veterinary Ophthalmology. 2012;15(3):206-9.
3. Hoefer HL. Hedgehogs. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 1994;24(1):113-20.
4. Zacharopoulou M, Guillaume E, Coupez G, Bleuart C, Le Loc'h G, Gaide N. Causes of Mortality and Pathological Findings in European Hedgehogs (Erinaceus europaeus) Ad-mitted to a Wildlife Care Centre in Southwestern France from 2019 to 2020. Journal of Com-parative Pathology. 2022;190:19-29.
5. August JR. Otitis externa: a disease of multifactorial etiology. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 1988;18(4):731-42.
6. Rosychuk RA. Management of otitis externa. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice. 1994;24(5):921-52.
7. Fraser G, Withers A, Spreull J. Otitis externa in the dog. Journal of Small Animal Practice. 1961;2(1-4):32-47.
8. Tater KC, Scott D, Miller Jr W, Erb H. The cytology of the external ear canal in the normal dog and cat. Journal of Veterinary Medicine Series A. 2003;50(7):370-4.
9. Ginel PJ, Lucena R, Rodriguez JC, Ortega J. A semiquantitative cytological evalua-tion of normal and pathological samples from the external ear canal of dogs and cats. Veteri-nary dermatology. 2002;13(3):151-6.
10. Mendelsohn C, Rosenkrantz W, Griffin CE. Practical cytology for inflammatory skin diseases. Clinical techniques in small animal practice. 2006;21(3):117-27.

.