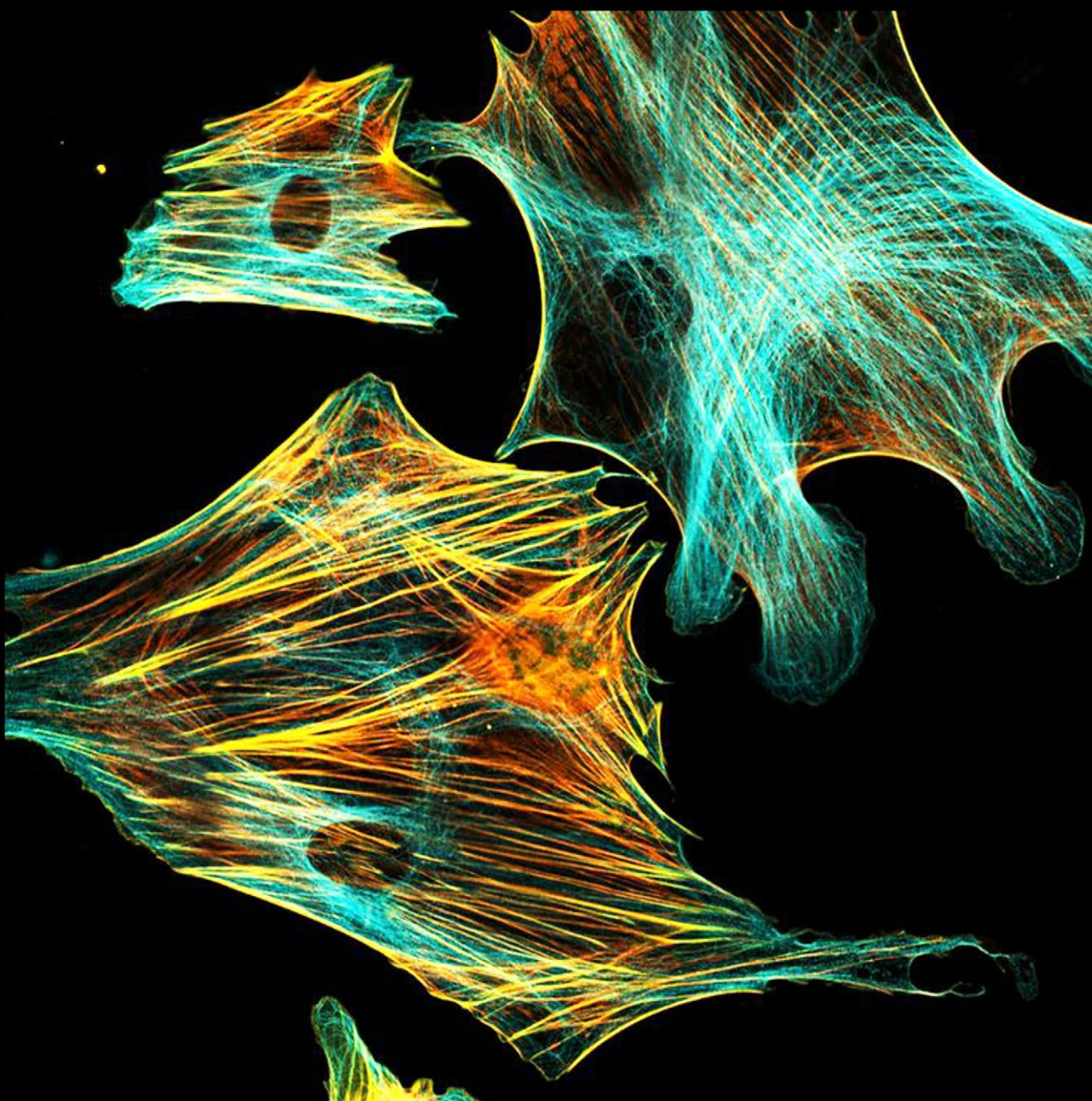


بیوات

دوماهنامه سال دوم شماره ۰۹ پرونده ویژه: روش‌های تشخیص

ویژه‌ی این شماره:

مصاحبه با دکتر محمد خسروی



ایمونواسی
ایمونوفلورسانس

روش‌های تشخیص
تریپانوزوما اوانسی

سگ‌های موادیاب
کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها



فهرست

شناسنامه

بیووت

سال دوم - شماره نهم - اردیبهشت و خرداد ۱۴۰۱

صاحب امتیاز: انجمن علوم پایه و پاتوبیولوژی

استاد راهنمای انجمن: دکتر حسین حمیدی نجات

مدیر مسئول: شهرزاد گیتی جمال

سردبیر: حورا شوشتری

ویراستار:

ابوالفضل برزگر بفرونی

هیئت تحریریه به ترتیب حروف الفبا :

نگار افتخار، نگار بابایی، آناهیتا برزگران، محمد پاکجان، شیرین جلیلیان، مبین حق، مهسا خادمی، فریال خنافره، حورا شوشتری، عباس شهبازی، شهرزاد گیتی جمال، پریا مهرافروز، زهرا همایون نژاد

نویسندگان این شماره به ترتیب حروف الفبا :

زهرا احمدی، ابوالفضل برزگر بفرونی، محمد پاکجان، شیرین جلیلیان، امیر محمد حسینی، فریال خنافره، فرشاد شاهخواه، حورا شوشتری، عباس شهبازی، نیوشا کایدزاده بهاروندی، شهرزاد گیتی جمال، زهرا همایون نژاد

طراح جلد و لوگو: فاطمه مریدیپور

گرافیک و صفحه‌آرایی: سعید عارفزاده

صفحه اینستاگرام: @biovet.publication

کانال تلگرام: @BSPScu

راه ارتباطی: biovet.scu@gmail.com

صفحه ۳

سخن سردبیر

صفحه ۴

ایمونوفلورسانس

صفحه ۷

ایمونواسی (Immunoassay)

صفحه ۱۰

روش‌های تشخیصی تریپانوزوما اوانسی

صفحه ۱۳

مصاحبه با جناب آقای دکتر محمد خسروی

صفحه ۱۶

سگ‌های مواد یاب

صفحه ۲۰

کم‌کاری تیروئید در سگ‌ها

صفحه ۲۲

گزارش یک مورد راشیتیس ناشی از پوکی استخوان مربوط به کمبود ویتامین دی در یک قلاده سگ نر نژاد پیتبول

صفحه ۲۵

تعیین مرحله سیکل استروس سگ به‌وسیله گسترش واژینال (بخش اول)

صفحه ۲۹

طبقه‌بندی و رویکرد تشخیصی به کم‌خونی



حورا شوشتری

دانشجوی رشته دامپزشکی

بشر همیشه در پی یافتن راهی برای درمان، بهبود سریع بیماری‌ها و کاهش هزینه‌های درمانی بوده است و این امر وجود دارد که هر چه تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر صورت بگیرد، روند درمان بیماری با سرعت بیشتر، راحت‌تر و چه بسا کم هزینه‌تر خواهد بود. در سالیان اخیر، با پیشرفت دانش ایمونولوژی و اطلاعات مربوط به بخش‌های سلولی و مولکولی و همچنین رشد و پیشرفت دستگاه‌ها و افزایش دانش بشر نسبت به بدن انسان و حیوان، ژن‌ها و واکنش‌های آن، توان ما برای تشخیص بیماری‌ها با روش‌های مختلف، بیشتر شده و حتی می‌توان به علت این تشخیص سریع‌تر و دقیق‌تر، درمان بهتری برای بیماری اتخاذ کرد. در این شماره از بیووت، به روش‌های تشخیص بیماری‌ها در حیوانات و انسان پرداخته‌ایم تا نقش این امر مهم در درمان بیماری‌ها را برای خود و شما پررنگ‌تر کنیم.

شاد و سلامت باشید
حورا شوشتری



ایمونوفلورسانس

محمد پاک جان^۱

استاد راهنما: دکتر محمد خسروی^۲

دانشجوی دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

گروه علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۲

Email: pouyapaki@gmail.com

چکیده

ایمونوفلورسانس یک روش آزمایشگاهی متداول بر پایه استفاده از آنتی بادهای اختصاصی متصل به رنگ‌های فلورسنت است. این آنتی‌بادی‌های نشان دار شده به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم به آنتی‌ژن‌های سلولی متصل می‌شوند. این تکنیک کاربردهای بیولوژیکی مختلفی از جمله ارزیابی میزان و مراحل بلوغ سلول‌ها، ردیابی میکروارگانیسم‌های مختلف و بررسی آنتی‌ژن‌های بافتی و سلول‌های طبیعی و غیرطبیعی دارد. رنگ فلورسنت در معرض نور با طول موج کوتاه و پراثری قرار می‌گیرد که به‌صورت نور با طول موج متفاوت منتشر می‌شود. فلورسانس جذبی و نشری برای هر رنگ، فلورسنت اختصاصی است؛ لذا امکان استفاده همزمان از چند آنتی‌بادی کونژوگه اختصاصی آنتی‌ژن‌های مختلف و به‌تبع آن ردیابی همزمان چند آنتی‌ژن در یک نمونه وجود دارد. فلورسانس نشری را می‌توان با استفاده از اسپکتروفتومترهای مخصوص و یا میکروسکوپ فلورسانس مشاهده کرد که امکان تصویرسازی و بررسی توزیع مولکول‌های هدف در یک نمونه را فراهم می‌آورد.

کلمات کلیدی: آنتی‌بادی، ایمونوفلورسانس، فلورسنت، آنتی‌ژن

مقدمه

می‌شود گرچه بازآوری مقاطع بافتی جهت حفاظت از ساختارهای آنتی‌ژنی و همچنین نفوذپذیر کردن سلول‌ها جهت ورود آنتی‌بادی به درون سلول و ردیابی آنتی‌بادی ضد اجزای درون سلولی، نیازمند دقت و مهارت می‌باشد. ردیابی آنتی‌ژن‌های متنوع میکروارگانیسم‌ها، آنتی‌ژن‌های توموری و بافت سالم از طریق روش ایمونوفلورسانس امکان‌پذیر است.

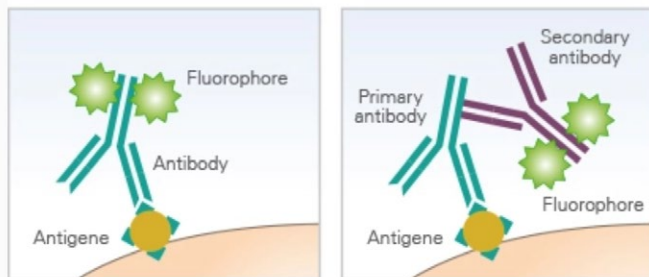
جهت ردیابی آنتی‌ژن، سلول‌ها توسط پارافرمالدئید ثابت می‌شوند تا پروتئین‌های موجود در سلول‌ها برای اتصال آنتی‌بادی آماده شوند سپس سلول‌ها توسط یک شوینده مناسب مانند تریتون X-100^۲

آنتی‌بادی‌های اختصاصی میکروارگانیسم‌های مختلف یا آنتی‌ژن‌های خودی، با روش‌های متنوع ایمونولوژیک قابل ردیابی هستند. در بررسی با روش ایمونوفلورسانس، نمونه از سرم و یا پلاسما مد نظر بر روی یک بستر مانند لام‌های بافتی و یا گسترش تهیه‌شده از آنتی‌ژن مورد نظر قرار می‌گیرد تا در صورت اتصال، وجود آنتی‌بادی مد نظر بررسی گردد. آنتی‌بادی متصل به آنتی‌ژن متعاقباً با استفاده از یک آنتی‌بادی ثانویه که به یک فلوروکروم کونژوگه شده است، ردیابی می‌شود و وجود فلوروکروم^۱ با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس مشاهده

1- A chemical that fluoresces (fluorophore)

رنگ آمیزی خاص و نوع رسوب غیرطبیعی پروتئین که در نمونه بافت دیده می‌شود، به تشخیص بیماری کمک می‌کند.

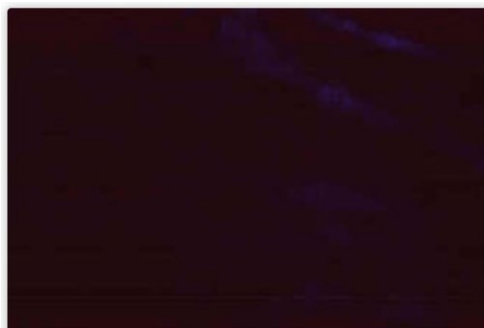
Direct Immunofluorescence Indirect Immunofluorescence



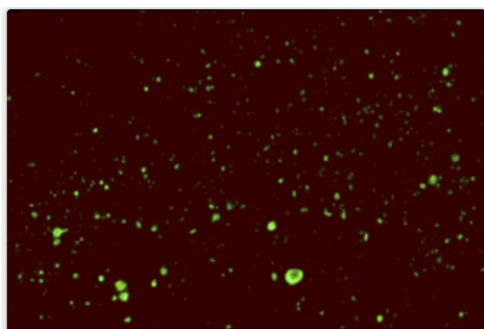
The principle of direct immunofluorescence and indirect immunofluorescence.

آزمایش ایمونوفلورسانس مستقیم در هاری

این آزمایش بر اساس مشاهده آنتی‌ژن‌های ویروس هاری در بافت‌های حیوانات آلوده است. از آنجایی که هاری در بافت عصبی وجود دارد، بافت مغز برای آزمایش آنتی‌ژن‌های هاری ایده‌آل است. مهم‌ترین بخش آزمایش، آنتی‌بادی ضد هاری با برچسب فلورسنت است. هنگامی که آنتی‌بادی نشان‌دار شده با بافت مغزی مشکوک به هاری انکوبه می‌شود، به آنتی‌ژن هاری متصل می‌شود. آنتی‌بادی که به آنتی‌ژن متصل نشده باشد را می‌توان شست و مناطقی را که آنتی‌ژن وجود دارد می‌توان با استفاده از میکروسکوپ فلورسانس به رنگ سبز مشاهده کرد و اگر آنتی‌ژن وجود نداشته باشد، هیچ رنگی مشاهده نمی‌شود.



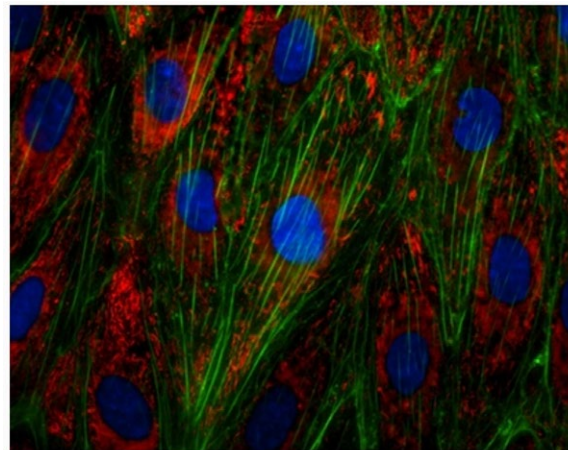
Negative dFA



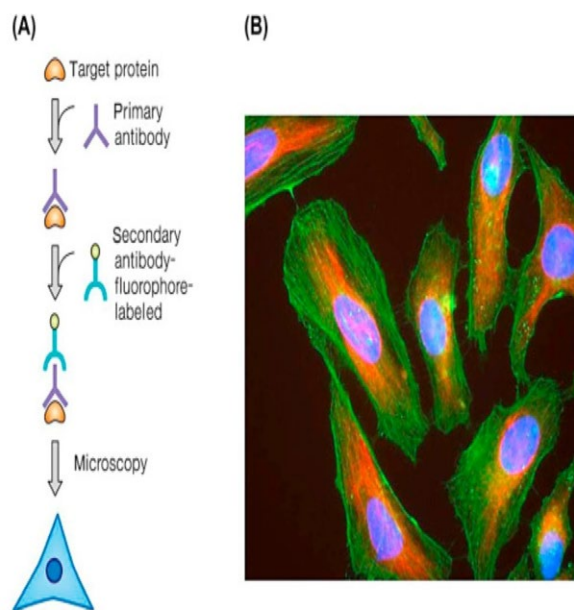
Positive dFA

2- Triton X-100
3- Negri bodies

نفوذپذیر می‌شوند. یک آنتی‌بادی خاص مانند سرم بیمار روی سطح اعمال می‌شود تا آنتی‌ژن ویروسی توسط آنتی‌بادی شناسایی شود. سپس قطعه Fc مولکول IgG آنتی‌بادی ثانویه که مختص آنتی‌بادی اولیه است، اعمال می‌شود. از آنجایی که یک رنگ فلورسانس به آنتی‌بادی ثانویه مرتبط است، آنتی‌ژن را می‌توان در زیر میکروسکوپ فلورسانس مشاهده کرد.



Immunofluorescence staining of the von-Willebrand-Factor (vWF) in endothelial cells (HUVECs). Actin was stained using phalloidin (green), nuclei are stained with DAPI (blue).



انواع تکنیک‌های ایمونوفلورسانس

اولیه (مستقیم)

در این روش از یک آنتی‌بادی منفرد استفاده می‌شود که از نظر شیمیایی به یک فلوروفور مرتبط است. آنتی‌بادی مولکول هدف را شناسایی می‌کند و به آن متصل می‌شود که این ترکیب آنتی‌بادی-فلوروفور، رسوب غیرطبیعی پروتئین‌ها را در بافت بیمار هدف قرار می‌دهد و فلوروفور حامل آن از طریق میکروسکوپ قابل تشخیص است به‌طوری که وقتی فلوروفور در معرض نور قرار می‌گیرد، فرکانس نور خود را که با میکروسکوپ دیده می‌شود، ساطع می‌کند. الگوی

تشخیص آنتی ژن توسط ایمونوفلورسانس مستقیم

آنتی بادی هاری که برای آزمایش استفاده می شود، عمدتاً علیه آنتی ژن ویروس است. ویروس هاری در سیتوپلاسم سلول ها تکثیر می شود و سلول های آلوده ممکن است انکلوژیون های بزرگ گرد یا بیضی شکل حاوی مجموعه هایی از نوکلئوپروتئین یا مجموعه های کوچک تری از آنتی ژن باشند که در صورت رنگ آمیزی با ایمونوفلورسانس مستقیم به صورت ذرات فلورسنت گرد و غباری ظاهر می شوند.

ثانویه (غیر مستقیم)

از این روش برای شناسایی آنتی بادی های در گردش خون سرم بیمار استفاده می شود که در آن دو آنتی بادی نقش دارند. آنتی بادی اولیه نشان دار نشده که به طور خاص به مولکول هدف متصل می شود و آنتی بادی ثانویه که حامل فلوروفور و با رنگ فلورسنت مثل فلورسین ایزوتیوسیانات^۴ کونژوگ شده است، آنتی بادی اولیه را تشخیص داده و به آن متصل می شود و همانند روش مستقیم هنگامی که در معرض نور قرار گیرد، رنگ فلورسنت برانگیخته می شود و طول موجی از خود ساطع می کند که با میکروسکوپ فلورسنت قابل مشاهده است. آنتی بادی های ثانویه متعددی می توانند به یک آنتی بادی اولیه متصل شوند که این امر با افزایش تعداد مولکول های فلوروفور در هر آنتی ژن، سیگنال را تقویت می کند.

تکنیک مستقیم نسبت به غیر مستقیم چندین مزیت دارد زیرا به طور مستقیم آنتی بادی به فلوروفور متصل می شود و این امر تعداد مراحل در فرآیند رنگ آمیزی را کاهش می دهد و فرآیند را تسریع می کند و می تواند سیگنال پس زمینه را با اجتناب از برخی مشکلات مربوط به واکنش متقاطع یا عدم اختصاصی بودن آنتی بادی کاهش دهد. با این حال، از آنجایی که تعداد مولکول های فلورسنت که می توانند به آنتی بادی اولیه متصل شوند محدود است، ایمونوفلورسانس مستقیم حساسیت کمتری نسبت به ایمونوفلورسانس غیر مستقیم دارد. تکنیک ثانویه پروتکل پیچیده تر و طولانی تری دارد اما انعطاف پذیری بیشتری را امکان پذیر می کند زیرا انواع آنتی بادی های ثانویه مختلف و تکنیک های تشخیص را می توان برای یک آنتی بادی اولیه خاص استفاده کرد. این روش عموماً ارزان است زیرا آنتی بادی ثانویه

را می توان برای آنتی بادی های اولیه مختلف استفاده کرد. علاوه بر این چندین پروتئین را به طور خاص به صورت موازی در یک نمونه واحد (ایمونوفلورسانس چند رنگ) با ترکیب چند آنتی بادی اولیه با آنتی بادی های ثانویه خاص - که هر یک از آنها با فلوروفور متفاوت نشان گذاری شده اند- مشاهده کرد.

ایمونوهیستوشیمی

از ایمونوهیستوشیمی برای ردیابی ارگانیسم های عفونی خاص، تومورها و ارزیابی پیش آگهی تومورها استفاده می شود. علاوه بر این، برای تعیین محل اولیه تومور، بدخیم یا خوش خیم بودن آن و پیش بینی پاسخ به درمان استفاده می شود از این رو، ابزار تشخیصی مناسبی برای بیماری های نئوپلاستیک و عفونی است و عوامل عفونی و سلول های متعددی را می توان با ایمونوهیستوشیمی در بافت های پارافین تثبیت شده با فرمالین نشان داد. اساس تشخیص آنتی ژن مدنظر، با استفاده از آنتی بادی های تک یا پلی کلونال خاص به آنتی ژن خاص در بخش های بافتی است. پس از اتصال به آنتی ژن، آنتی بادی ها توسط آنتی بادی های ثانویه شناسایی می شوند که با پراکسیداز یا آلکالین فسفاتاز نشاندار می شوند و هر دو آنزیم یک واکنش رنگی ایجاد می کنند که امکان تشخیص آنتی ژن متصل به آنتی بادی را در بخش های مختلف بافتی فراهم می آورد و با میکروسکوپ نوری یا فلوروکروم با نور فرابنفش قابل مشاهده است. رایج ترین ایمونوگلوبین مورد استفاده در ایمونوهیستوشیمی، ایمونوگلوبین G است و ایمونوگلوبین M کمتر مورد استفاده قرار می گیرد.

نتیجه گیری

بسیاری از پیشرفت های این روش در بهبود میکروسکوپ های فلورسنت و فلوروفورها نهفته است. روش های با وضوح بالا، مربوط به حد abbe در میکروسکوپ است. این حد بزرگ تر از برخی از ساختارهای سلول است و در نتیجه، مانع از تعیین جزئیات در ساختار سلول می شود. وضوح فوق العاده در فلورسانس به طور خاص، به توانایی یک میکروسکوپ برای جلوگیری از فلورسانس همزمان فلوروفورهای طیفی مجاور یکسان اشاره دارد.

4- Fluorescent isothiocyanate (FITC)

منابع

www.ibidi.com
www.svarlifesience.com
www.sciencedirect.com
www.vetlexicon.com
www.pubmed.ncbi.nih.gov
www.cdc.gov/rabies/diagnosis
www.dermnetnz.org
www.abcam.com

ایمونواسی (Immunoassay)

عباس شهبازی^۱

دانشجوی دکتری عمومی دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

Email: hfla.7648@gmail.com

چکیده

عیارسنجی ایمنی از جمله روش‌های بیوشیمیایی هستند که در فرمت‌ها و انواع مختلفی وجود دارند. مولکولی که توسط روش ایمونواسی تشخیص داده می‌شود غالباً تحت عنوان «آنالیت» از آن یاد شده و در بسیاری از موارد یک پروتئین است. اگرچه ممکن است انواع دیگری از مولکول‌ها با اندازه‌ها و انواع مختلف باشد. در ایمونواسی کمیت آنالیت به واکنش یک آنتی ژن (آنالیت) و یک آنتی بادی بستگی دارد. اصولاً، این روش‌ها مبتنی بر یک واکنش اتصال رقابتی بین مقدار ثابتی از شکل نشان‌دار آنالیت و مقدار متغیر آنالیت نمونه نشان‌دار نشده برای مقدار محدودی از محل‌های اتصال بر روی یک آنتی‌بادی ضد آنتی ژن بسیار اختصاصی هستند. از این روش می‌توان برای شناسایی حضور پاتوژن‌ها در نمونه بالینی استفاده کرد و یا می‌توان آن را برای اندازه‌گیری مقدار یک بیومولکول هدف به کار برد. هنگام استفاده از ایمونواسی برای اندازه‌گیری مقدار هدف، به یک سیستم گزارش گر نیاز است.

واژه‌های کلیدی: ایمونواسی، آنالیت، آنتی‌ژن، آنتی‌بادی

مقدمه

ذاتی یک آنتی‌بادی برای اتصال به ساختار خاص یک مولکول تکیه دارد. بسته به فرمت ایمونواسی انتخاب‌شده، اجزاء متفاوت خواهند بود. سه نوع رایج الایزا عبارت‌اند از: سنجش ساندویچی، سنجش رقابتی و سنجش آنتی‌ژن پایین. روش انتخاب شده به معرف‌های موجود و محدوده دینامیکی مورد نیاز برای سنجش بستگی دارد. سنجش‌های ساندویچی حساس‌تر و قوی‌تر هستند و بنابراین معمولاً مورد استفاده قرار می‌گیرند.

سنجش ساندویچی (Sandwich Immunoassay (ELISA

ایمونواسی ساندویچی، روشی با استفاده از دو آنتی‌بادی است که به نقاط مختلف آنتی‌ژن یا لیگاند متصل می‌شوند. آنتی‌بادی جذب که برای آنتی‌ژن بسیار اختصاصی است، به یک سطح جامد متصل است. سپس آنتی‌ژن اضافه می‌شود و آنتی‌بادی دوم به نام آنتی‌بادی تشخیص اضافه می‌شود. آنتی‌بادی تشخیص، آنتی‌ژن را در اپی‌توپی متفاوت از آنتی‌بادی دست‌گیری متصل می‌کند. در نتیجه، آنتی‌ژن بین دو آنتی‌بادی، «ساندویچ» می‌شود. تمایل اتصال آنتی‌بادی به آنتی‌ژن، معمولاً عامل اصلی تعیین کننده حساسیت به روش ایمونواسی است. با افزایش غلظت آنتی‌ژن، مقدار آنتی‌بادی شناسایی افزایش می‌یابد که منجر به پاسخ اندازه‌گیری شده بالاتر می‌شود. منحنی استاندارد یک روش اتصال ساندویچی، دارای شیب مثبت است. برای تعیین کمیت میزان اتصال، می‌توان از گزارش‌گرهای مختلف استفاده کرد. این گزارش‌گرها (یعنی آنزیم، فلوروفور یا بیوتین) می‌توانند مستقیماً به آنتی‌بادی تشخیص یا به یک آنتی‌بادی ثانویه که به آنتی‌بادی تشخیص متصل می‌شود. آنتی‌بادی جذب و آنتی‌بادی تشخیص باید از گونه‌های مختلف باشد. اگر آنتی‌بادی شناسایی مستقیماً برچسب‌گذاری شده باشند، آنتی‌بادی‌های جذب و شناسایی می‌توانند از همان گونه باشند.

عیارسنجی ایمنی از جمله روش‌های بیوشیمیایی هستند که در آن‌ها کمیت آنالیت به واکنش یک آنتی ژن (آنالیت) و یک آنتی‌بادی بستگی دارد. اصولاً، این روش‌ها مبتنی بر یک واکنش اتصال رقابتی بین مقدار ثابتی از شکل نشان‌دار آنالیت و مقدار متغیر آنالیت نمونه نشان‌دار نشده برای مقدار محدودی از محل‌های اتصال بر روی یک آنتی‌بادی ضد آنتی ژن بسیار اختصاصی هستند. هنگامی که این معرف مخلوط و انکوبه می‌شوند، آنتی‌ژن به آنتی‌بادی متصل می‌شود و یک کمپلکس ایمنی را تشکیل می‌دهد. روش‌های عیارسنجی ایمنی به‌طور گسترده در بسیاری از زمینه‌های مهم مانند تشخیص بیماری‌ها، نظارت بر داروهای درمانی، مطالعات فارماکوکینتیک بالینی، هم‌ارزی زیستی، صنایع غذایی و غیره استفاده شده است. سیستم تشخیص در ایمونواسی به نشان‌های قابل تشخیص آسان (مانند رادیوایزوتوپ‌ها یا آنزیم‌ها) وابسته به یکی از معرف‌های آنالیت یا آنتی‌بادی بستگی دارد. استفاده از این نشان‌ها در روش‌های عیارسنجی منجر به ابداع روش‌های سنجش با حساسیت بسیار بالا شده است، که بدون شک روش‌های عیار سنجی به‌دلیل ویژگی و حساسیت بالا، روش‌های انتخابی هستند.

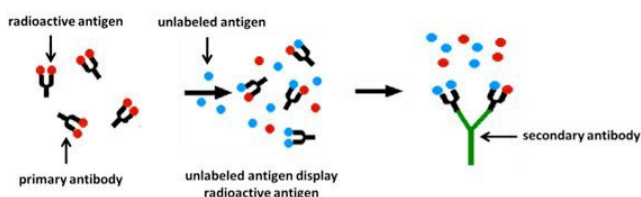
ELISA

الایزا یکی از چندین روشی است که در آزمایشگاه برای تشخیص و تعیین کمیت مولکول‌های خاص استفاده می‌شود. تست الایزا را در حالت معمول برای ردیابی آنتی‌ژن یا آنتی‌بادی به کار می‌برند. بدین ترتیب که یکی از این دو ماده در بستر جامد ثابت می‌شود و برای ردیابی دومی به کار گرفته می‌شود اما اساساً برای ردیابی هر جفت ماده‌ای که مثل جفت آنتی‌ژن و آنتی‌بادی به هم گرایش داشته و قدرت اتصال مناسبی نسبت به هم دارند می‌تواند به کار گرفته شود و به توانایی

اتصال آنتی‌بادی‌های موجود در یک نمونه یا در قالب ELISA رقابتی استفاده می‌شود. هنگامی که نمونه اضافه می‌شود (مانند سرم انسانی)، آنتی‌بادی‌ها (به‌عنوان مثال IgE) از نمونه به آنتی‌ژن پوشش داده شده روی صفحه متصل می‌شوند. یک آنتی‌بادی خاص گونه (مثلاً IgE ضد انسانی) که با HRP برچسب گذاری شده است در مرحله بعدی اضافه می‌شود. سیگنال، مستقیماً با مقدار آنتی‌بادی موجود در نمونه متناسب است. هر چه تعداد آنتی‌بادی‌ها در نمونه بیشتر باشد، سیگنال بالاتر است.

رادایونواسی (Radioimmunoassay (RIA))

رادایونواسی، شاید قدیمی‌ترین انواع ایمونواسی باشد. در این جا یک رادیوایزوتوپ به آنتی‌ژن مورد نظر متصل شده و با آنتی‌بادی مکمل آن متصل می‌شود. سپس نمونه‌ای با آنتی‌ژنی که باید اندازه‌گیری شود اضافه می‌شود؛ با آنتی‌ژن رادیواکتیو رقابت می‌کند، آن را از نقطه اتصال خارج می‌کند و جایگزین می‌کند. پس از شست‌وشوی آنتی‌ژن‌های غیر متصل، رادیواکتیویته نمونه اندازه‌گیری می‌شود. مقدار سیگنال رادیواکتیو با مقدار آنتی‌ژن هدف، رابطه معکوس دارد. توانایی سنجش آسان تعداد زیادی از نمونه‌ها با دقت خوب، منجر به استفاده از این تکنیک برای اندازه‌گیری موادی مانند استروئیدها که از قبل به‌سختی قابل اندازه‌گیری بودند شده است. از زمان توصیف اولیه تکنیک‌های

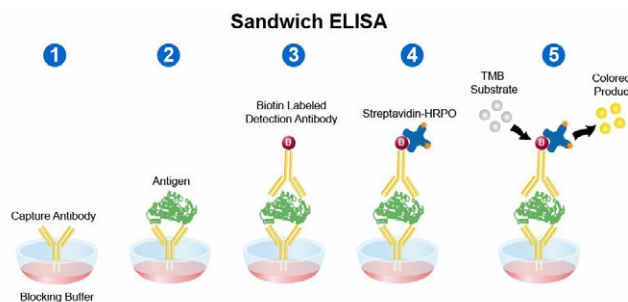


سنجش رادیویی اتصال رقابتی، کمک‌های زیادی در توسعه، اصلاح و کاربرد بیشتر آن وجود داشته است. خطرات بهداشتی استفاده از مواد رادیواکتیو باعث حرکت به سمت روش‌های ایمن‌تر شد.

Fluorescence polarization immunoassay (FPIA)

ایمونواسی‌های فلورسنت، نوع متفاوتی از ایمونواسی هستند که برای تشخیص اتصال آنتی‌بادی «تشخیص» و مولکول آنالیت استفاده می‌شوند. در این روش به عنوان معرف تشخیص از یک ترکیب فلورسنت استفاده می‌شود. که نور یا انرژی (انرژی تحریک) را در یک طول موج خاص جذب می‌کند و سپس نور یا انرژی را در طول موج متفاوت ساطع می‌کند. تفاوت بین طول موج نور تحریک و نور انتشار یافته را شیفت استوکس می‌گویند. هر چه تغییر یا اختلاف در طول موج بیشتر باشد، با تشخیص نور تحریک به عنوان بخشی از نور انتشاری، تداخل کم‌تری وجود خواهد داشت. مزایای این سیستم تشخیص شامل تشخیص حساسیت بالاتر آنالیت، معرف‌های ساده و طرح‌های سنجش ساده‌تر است. اخیراً تعدادی پیشرفت فنی رخ داده است که اجرای یک سیستم ایمونواسی با حساسیت بالا را امکان‌پذیر کرده است؛ مانند در دسترس بودن منابع نور کم هزینه با طول موج باریک، فلوروفورهای پایدارتر و جدیدتر که دارای شیفت‌های استوکس بسیار گسترده هستند و آشکارسازهای نور حالت جامد پایدار و ریزپردازنده‌ها که برای پردازش و تجزیه و تحلیل داده‌های هر آزمایش هستند.

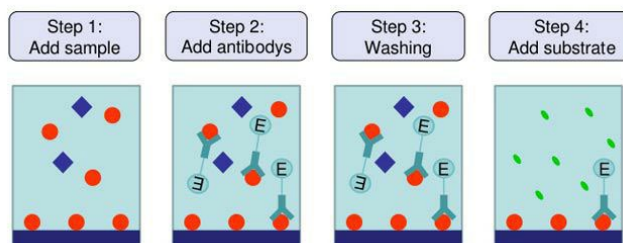
آنتی‌بادی‌های پلی‌کلونال اغلب حاوی اپی‌توپ‌های متعدد هستند و می‌توان از همان پلی‌کلونال خالص شده با میل ترکیبی، به‌عنوان آنتی‌بادی کشف و شناسایی نشان‌دار استفاده کرد.



سنجش رقابتی (Competitive Binding Assay)

یک سنجش اتصال رقابتی بر اساس رقابت لیگاند نشان‌دار و بدون نشان‌دار برای تعداد محدودی محل اتصال آنتی‌بادی است. فقط یک آنتی‌بادی در ELISA اتصال رقابتی استفاده می‌شود. از روش‌های اتصال رقابتی اغلب برای اندازه‌گیری آنالیت‌های کوچک استفاده می‌شود. این سنجش‌ها همچنین زمانی استفاده می‌شوند که یک جفت آنتی‌بادی منطبق بر آنالیت وجود نداشته باشد. مقدار ثابتی از لیگاند نشان‌دار و مقدار متغیر لیگاند نشان‌دار نشده، با آنتی‌بادی انکوبه می‌شوند. مقدار لیگاند نشان‌دار متصل، تابعی از غلظت کل لیگاند برچسب‌دار و بدون برچسب است. با افزایش غلظت لیگاند نشان‌دار نشده، لیگاند نشان‌دار کم‌تری می‌تواند به آنتی‌بادی متصل شود و پاسخ اندازه‌گیری شده کاهش می‌یابد؛ بنابراین هرچه سیگنال کم‌تر باشد، آنالیت بدون برچسب بیشتری در نمونه وجود دارد. منحنی استاندارد یک سنجش اتصال رقابتی، دارای شیب منفی است. از طرف دیگر، آنتی‌ژن را می‌توان روی صفحه با آنتی‌بادی و نمونه در محلول پوشاند. با افزایش مقدار آنتی‌ژن در نمونه، آنتی‌بادی‌های کم‌تری برای اتصال آنتی‌ژن پوشش داده شده در دسترس خواهد بود.

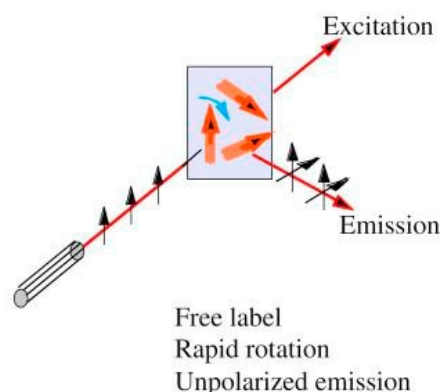
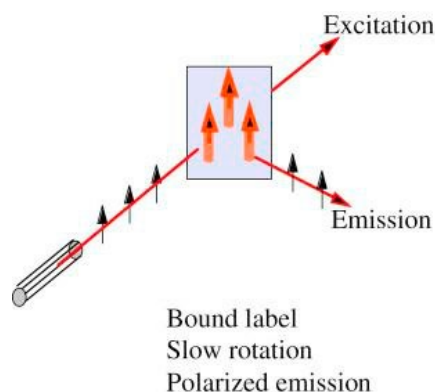
Competitive ELISA



سنجش آنتی‌ژن پایین یا سنجش ایمونومتري

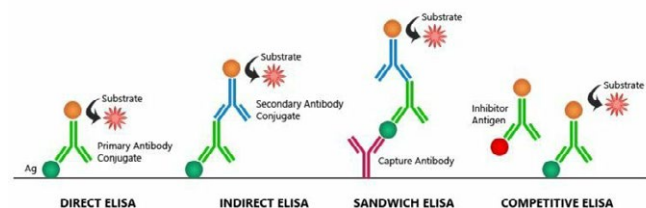
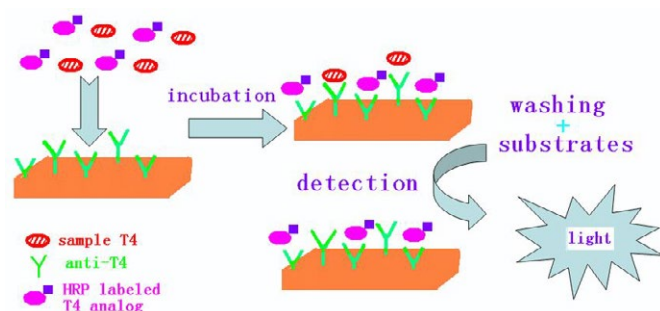
(Antigen-Down Immunoassay or Immunometric Assay)

ایمونواسی کاهش آنتی‌ژن یا سنجش ایمونومتري، شامل اتصال آنتی‌ژن به یک سطح جامد به‌جای آنتی‌بادی است. این کار با پوشاندن سطح جامد با آنتی‌ژن انجام می‌شود و امکان جذب غیر فعال به سطح جامد را فراهم می‌کند. ایمونواسی‌های کاهش‌دهنده آنتی‌ژن برای



نتیجه گیری

عیارسنجی ایمنی، نوعی از روش‌های بیوشیمیایی هستند که در فرمت‌ها و انواع مختلفی وجود دارند. امروزه گسترش تکنولوژی باعث پیشرفت تکنیک‌های مختلف در این شاخه شده که زمینه را برای توسعه در تمامی شاخه‌های علوم زیستی فراهم کرده است.



منابع

1. Michael J. Day, Veterinary Immunology
2. ME Jolley, CHJ Wang, SJ Ekenberg, MS Zuelke - Journal of, 1984 – Elsevier. Particle concentration fluorescence immunoassay (PCFIA): a new, rapid immunoassay technique with high sensitivity
3. DJ Litman, TM Hanlon, EF Ullman - Analytical biochemistry, 1980 – Elsevier. Enzyme channeling immunoassay: A new homogeneous enzyme immunoassay technique
4. Abul Abbas, Andrew Lichtman, Shiv Pillai. Cellular and Molecular Immunology

ایمونواسی شیمی لومینسانس

((Chemiluminescence Immunoassay (CLIA))

اصول ایمونواسی شیمی لومینسانس مانند ELISA یا فلوروایمونواسی است، اما گزارش گر متفاوت است. لومینسانس انتشار نوری است که به دلیل پرتاب الکترون به حالت انرژی بالاتر و انتشار فوتون در حین شل شدن آن است که همان اصل فلورسانس است. تفاوت در درجه اول در مکانیسم پرتاب الکترون به انرژی بالاتر نهفته است. این امر در فلورسانس با فرکانس‌های خاصی از نور به دست می‌آید. در نورتایی شیمیایی این امر با یک واکنش شیمیایی به دست می‌آید.

شمارش ایمونواسی

((The counting immunoassay (CIA))

در روش شمارش ایمونواسی، دانه‌های پلی‌استایرن با بسیاری از آنتی‌بادی‌های مکمل آنتی‌ژن هدف پوشانده می‌شوند. در طول انکوباسیون، دانه‌ها به چندین آنتی‌ژن متصل می‌شوند و به صورت توده بزرگی در کنار هم قرار می‌گیرند. برخی از مهره‌ها بدون بند باقی می‌مانند. کل محلول از یک شمارنده سلولی عبور داده می‌شود و تنها دانه‌های بسته نشده شمارش می‌شوند. تعداد مهره‌های متصل نشده با مقدار آنتی‌ژن نسبت معکوس دارند.

Immunochromatographic analysis (ICA)

یک تست ایمنی آزمایشی سریع برای تشخیص وجود (یا عدم وجود) آنالیت هدف در یک نمونه (ماتریس) است. در این روش، آنتی‌بادی جذب به عنوان یک سیم متقاطع بر روی یک ماده آبدوست متخلخل بی‌حرکت می‌شود. سپس آنالیت موجود در بافر به یک طرف نوار تست اضافه می‌شود و توسط نیروهای مویرگی جانبی هدایت می‌شود. آزمایش از طریق خط آنتی‌بادی جذب، جریان می‌یابد و توسط آنتی‌بادی گرفته می‌شود. در نهایت، این مجموعه را می‌توان با یک برچسب نانوذره (معمولاً طلائی کلونیدی) آشکار کرد.

Liposome immunoassay (LIA)

یک سنجش شامل نشان‌گرهای کپسوله‌سازی لیپوزوم است. در LIA، لیپوزوم‌ها تهیه می‌شوند و سپس با روش مناسب به آنالیت یا آنتی‌بادی جفت می‌شوند و به روش معمولی مورد سنجش قرار می‌گیرند. تشخیص در LIA به برش لیپوزوم و آزاد شدن برچسب محصور شده بستگی دارد، که سپس اندازه‌گیری و با غلظت آنالیت مرتبط می‌شود.



روش های تشخیصی تریپانوزوما اوانسی

فریال خنافره^۱

استاد راهنما: دکتر حسین حمیدی نجات^۲

دانشجوی دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

گروه پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران، اهواز-ایران^۲

Email: fkhanaferah@yahoo.com

چکیده

سورا^۱ یا تریپانوزومیاژیس در حیوانات مهره دار توسط تریپانوزوما اوانسی^۲، یک تک یاخته بزاقی از خانواده تریپانوزوماتیده^۳ ایجاد می شود. فرض بر این است که تریپانوزوما اوانسی در ابتدا در شتر رشد کرده و از آن زمان به بسیاری از پستانداران اهلی و وحشی سرایت کرده است. تریپانوزوما اوانسی باعث ایجاد تریپانوزوموزیس معروف به «سورا» می شود. تعداد زیادی از گونه های حیوانات وحشی و اهلی در آفریقا، آسیا، آمریکای مرکزی و جنوبی را تحت تاثیر قرار می دهد. گونه میزبان اصلی از نظر جغرافیایی متفاوت است، اما شتر، اسب، گاو میش و گاو به طور ویژه تحت تاثیر قرار می گیرند. سایر حیوانات، از جمله حیوانات حیات وحش نیز مستعد ابتلا به تریپانوزوموزیس هستند. علائم کلینیکی عفونت تریپانوزوما اوانسی به اندازه کافی شاخصی برای تشخیص نیست. روش های انگل شناسی مستقیم کلاسیک برای تشخیص تریپانوزوموزیس، حساسیت بالایی ندارند، اما تعدادی از تکنیک ها از جمله غنی سازی نمونه، تلقیح جوندگان و روش های DNA ممکن است حساسیت را افزایش دهند.

کلمات کلیدی: تریپانوزومیاژیس، سورا، تریپانوزوما اوانسی، روش های تشخیصی.

1- surra

2- T. evansi

3- Trypanosomatidae

تریپانوزوما اوانسی باعث ایجاد تریپانوزوموزیس معروف به «سورا» می‌شود. تعداد زیادی از گونه‌های حیوانات وحشی و اهلی در آفریقا، آسیا، آمریکای مرکزی و جنوبی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. گونه میزبان اصلی از نظر جغرافیایی متفاوت است، اما شتر، اسب، گاو میش و گاو به‌طور ویژه تحت تاثیر قرار می‌گیرند. اگرچه سایر حیوانات، از جمله حیوانات حیات وحش نیز مستعد ابتلا به تریپانوزوموزیس هستند.

تریپانوزوموزیس یک بیماری منتقله از بندپایان است. چندین گونه از مگس‌های خونخوار از جمله تابانیدها^۴ و استوموکس‌ها^۵ در انتقال عفونت از میزبانی به میزبان دیگر نقش دارند و به عنوان ناقل مکانیکی عمل می‌کنند (شکل ۱).



شکل ۱: تریپانوزوما

علائم بالینی و تشخیص

علائم بالینی عمومی عفونت‌های تریپانوزوما اوانسی عبارت‌اند از: تب همراه با کم خونی پیشرونده، از دست دادن وضعیت پایدار و سستی. ولی این علائم برای تشخیص پاتوزنومیک کافی نیستند. دوره‌های مکرر تب و پارازیتمی در طول دوره بیماری رخ می‌دهد. گاهی اوقات ادم، به‌ویژه در قسمت‌های تحتانی بدن، پلاک‌های کهیر و خونریزی‌های پتشیال غشاهای سروزی در اسب‌ها مشاهده می‌شود. سقط جنین در بوفالوها و شترها گزارش شده است. علائم عصبی در اسب‌ها رایج است. این بیماری باعث نقص ایمنی می‌شود که ممکن است هنگام تداخل با سایر بیماری‌ها یا کمپین‌های واکسیناسیون (بیماری تب برفکی و سیتی سمی هموراژیک) تأثیر زیادی داشته باشد. علائم کلینیکی عفونت تریپانوزوما اوانسی به اندازه کافی شاخصی برای تشخیص نیست. بلکه نیازمند روش‌های آزمایشگاهی برای تشخیص این انگل است.

در اوایل عفونت یا موارد حاد، زمانی که پارازیتمی^۶ بالا است، بررسی گسترش‌های خونی مرطوب، اسمیر خون یا مواد غدد لنفاوی رنگ آمیزی شده ممکن است تریپانوزوم‌ها را نشان دهد. در موارد مزمن، یا به‌طور کلی زمانی که پارازیتمی کم است، معاینه اسمیر غلیظ خون^۷ و همچنین روش‌های غلظت انگل و تلقیح جوندگان آزمایشگاهی مورد نیاز است. در ناقلان به ظاهر سالم (حیوانات بدون علائم بالینی)، انگل به ندرت مشاهده می‌شود و تلقیح موش بهترین نتیجه را می‌دهد. چندین جفت آغازگر که زیرجنس را هدف قرار می‌دهند (تریپانوزون^۸) یا توالی‌های DNA انگلی خاص گونه تریپانوزوما اوانسی برای تشخیص با واکنش زنجیره ای پلیمرز^۹ در دسترس هستند. PCR حساس‌تر از معاینه انگلی سیتولوژی است،

اما ممکن است نتایج منفی کاذب را در موارد پارازیتمی بسیار کم، نشان دهد. در این موارد، شک به ناقلین بالقوه را فقط می‌توان با معاینه سرولوژیکی تایید کرد.

تکنیک‌های تشخیصی

عفونت باعث بروز پاسخ آنتی بادی‌های خاصی می‌شود. انواع آزمایش‌های تشخیصی آنتی بادی برای استفاده آزمایشگاهی و میدانی معرفی و تا حدی تایید شده‌اند، اما در انتظار ارزیابی و استانداردسازی در مقیاس بزرگ هستند. مرتبط‌ترین آن‌ها تست ایمونوفلورسانس^{۱۰}، سنجش ایمونوسوربنت مرتبط با آنزیم^{۱۱} و تست آگلوتیناسیون کراتی^{۱۲} است. برای استفاده در فیلد، فقط تست آگلوتیناسیون کراتی را می‌توان اعمال کرد. در حال حاضر تست قلم^{۱۳} در دسترس نیست. ارزیابی معیارهای پیش‌بینی شده نشان می‌دهد الایزا، برای تشخیص IgG، جهت طبقه‌بندی حیوانات غیر عفونی مناسب است. در حالیکه تست آگلوتیناسیون کراتی بیشتر به طبقه‌بندی حیوانات عفونی می‌پردازد. بنابراین الایزا، برای تأیید وضعیت سلامت حیوانات قبل از جابه‌جایی یا در طول قرنطینه مناسب است. تست آگلوتیناسیون کراتی می‌تواند برای هدف قرار دادن حیوانات منفرد برای درمان با داروهای تریپانوسیدال استفاده شود. برای اعلام وضعیت عاری از بیماری، آزمایش سریال - CATT و ELISA به دنبال آزمایش مجدد نمونه‌های مشکوک، توصیه می‌شود که ترجیحاً توسط PCR تکمیل شود. در مناطقی که - T. equi، T. cruzi، peridum یا تریپانوزوم‌های منتقل شده از طریق تسه رخ می‌دهند، واکنش‌های متقابل ممکن است با هر آزمایش سرولوژیکی به کار گرفته شده رخ دهد. روش‌های انگل‌شناسی مستقیم کلاسیک برای تشخیص تریپانوزوموزیس، یعنی بررسی میکروسکوپی خون یا مواد غدد لنفاوی، حساسیت بالایی ندارند، اما تعدادی از تکنیک‌ها از جمله غنی‌سازی نمونه، تلقیح جوندگان و روش‌های DNA ممکن است حساسیت را افزایش دهند. در مناطقی که سایر گونه‌های Tryp- anozoon علاوه بر T. evansi حضور دارند، شناسایی با میکروسکوپ امکان پذیر نیست. ابزارهای مولکولی برای تشخیص گونه‌های خاص بسیار مفید هستند.

انواع تکنیک‌های تشخیصی تریپانوزوما اوانسی

- ۱- بررسی مستقیم میکروسکوپی شامل نمونه‌گیری خون، گسترش خونی، اسمیرهای نازک و ضخیم رنگ آمیزی شده، بیوپسی غدد لنفاوی.
- ۲- روش‌های متمرکز شامل؛ تکنیک سانتریفیوژ هماتوکریت^{۱۴}، روش بافی کت^{۱۵}، تکنیک سانتریفیوژ تبادل مینی آنیونی^{۱۶} (شکل ۲)

4- Tabanids

5- Stomoxes

۶- محتوای کمی انگل در خون

7- Thick blood smear

8- Trypanozoon

9- PCR

10- IFAT

11- ELISA

12- CATT

13- Pen side

14- HCT

15- buffy coat method(BCM)

16- mini anion exchange centrifugation technique

را با تصاویر واکنش‌های مختلف ارائه شده در کیت مقایسه کنید. رسوبات دانه‌ای آبی یک واکنش مثبت را نشان می‌دهد که با چشم غیر مسلح قابل مشاهده است.

از آنجایی که CATT اساساً IgM (ایمونوگلوبولین‌های پنج ظرفیتی آگلوتینه کننده که نیمه عمر آن کوتاه است) را تشخیص می‌دهد، برای تشخیص عفونت‌های اولیه یا عفونت‌های دیررس با گردش اخیر انگل‌ها در خون مناسب است و می‌تواند عفونت‌های فعال را با پیش‌بینی مثبت بالا تشخیص دهد. تست CATT حیوانات واقعا آلوده را به درستی طبقه بندی کرده و می‌توان از آن برای هدف قرار دادن حیوانات جداگانه برای درمان با داروهای تریپانوسیدال استفاده کرد. یک فرمت تست جایگزین (LATEX/T.evansi) با استفاده از دانه‌های لاتکس پوشش داده شده با RoTat 1.2 VSG بومی در حال حاضر در دست ارزیابی است.

نتیجه‌گیری

مانند اکثر آزمایشات بیولوژیکی، روش‌های شرح داده شده در بالا هم از نظر حساسیت و هم از نظر ویژگی محدود هستند. علاوه بر این، عملکردها و پارامترهای آزمایش بسته به گونه میزبان یا منطقه جغرافیایی که میزبان در آن رخ می‌دهد، بسیار متغیر هستند. تا به امروز، هیچ آزمایش رایجی (انگلی، سرولوژیکی یا حتی مولکولی) وجود ندارد که بتواند T. evansi را از سایر گونه‌ها یا زیر گونه‌های Trypanozoon متمایز کند. تشخیص نهایی سورا به اطلاعات اپیزوتولوژیک و نتایج و مشاهدات آزمایشگاهی بستگی دارد. به این دلایل، تعدادی از ترکیبات آزمایشی سازگار با شرایط مختلف مربوط به یک گونه میزبان خاص در حال حاضر توصیه می‌شود. متأسفانه هیچ واکنشی برای این بیماری در دسترس نیست.

منابع

- 1- DIA M.L., DIOP, C., AMINETOU M., JACQUIET P. & THIAM A. (1997). Some factors affecting the prevalence of T. evansi in camels in Mauritania. Vet. Parasitol., 72, 111–120.
- 2- DIA M.L., VAN MEIRVENNE N., MAGNUS E., LUCKINS A.G., DIOP C., THIAM A., JACQUIET P. & HAMERS R. (1997). Evaluation de 4 tests de diagnostic: Frottis sanguins, CATT, IFI et ELISA-Ag dans l'étude de l'épidémiologie de la trypanosomose cameline à Trypanosoma evansi en Mauritanie. Rev. Elev. Med. Vet. Pays Trop., 50, 29–36.
- 3- Manual, O. T. (2018). Chapter 3.1. 21. Trypanosoma evansi infection (surra), 660-674.
- 4- WUYTS N., CHOKESAJJAWATEE N., SARATAPHAN N. & PANYIM S. (1995). PCR amplification of crude blood on microscope slides in the diagnosis of Trypanosoma evansi in dairy cattle. Ann. Soc. Belge Med. Trop., 75, 229–237.
- 5- VERLOO D., TIBAYRENC R., MAGNUS E., BÜSCHER P. & VAN MEIRVENNE N. (1998). Performance of serological tests for Trypanosoma evansi infections in camels from Niger. J. Protozool. Res., 8, 190–193.

17- DNA probes

18- PCR

19- IFAT

20- ELISA

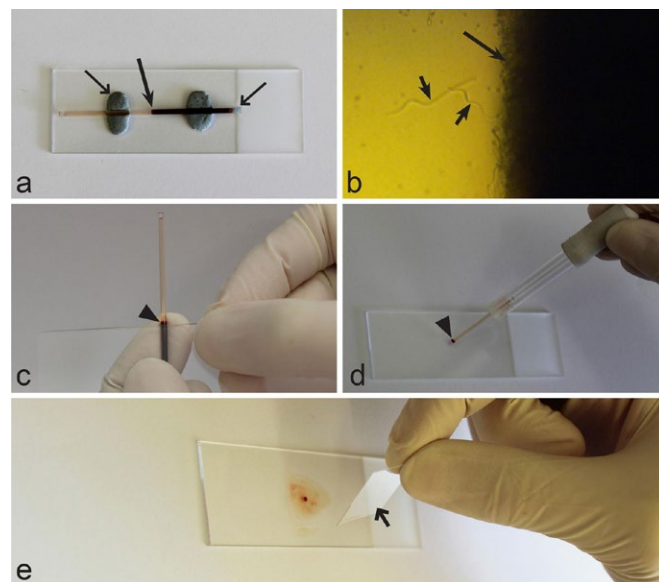
21- CATT

22- Immune trypanolysis test

۲۳- روش بافی کت: ابزاری برای تشخیص انگل‌های خون بدون روش‌های رنگ آمیزی

۳- تشخیص DNA تریپانوزومی شامل؛ کاوشگرهای DNA¹⁶، واکنش زنجیره‌ای پلیمرز^{۱۷}
۴- ردیابی آنتی ژن

۵- تست‌های سرولوژیکی شامل؛ تست آنتی بادی غیر مستقیم ایمونوفلورسنت^{۱۸}، الایزا^{۱۹}، تست‌های آگلوتیناسیون کارت^{۲۰}، تست ایمونوتریپونولایز^{۲۱}.



شکل ۱: مراحل اصلی آماده سازی نمونه خون برای استفاده از روش بافی کت^{۲۳} یک لوله موئین با خون سانتریفیوژ شده، که برای بررسی اولیه میکروسکوپی آماده شده است. b: لایه همانطور که در زیر نور میکروسکوپ (با بزرگمایی ×۱۵۰) به نظر می‌رسد توجه داشته باشید که میکروفیلاریاها به راحتی قابل مشاهده هستند و نزدیک به لایه بافی کت قرار می‌گیرند (فلش بلند، لایه بافی کت، فلش‌های کوتاه، میکروفیلاریا). c: شکسته شدن لوله موئین نزدیک به لایه پوشش بافی با استفاده از لوله تیز لام شیشه‌ای هدف (سر پیکان، محلی که لوله موئین باید شکسته شود). d: خون و لایه بافی کت به لام شیشه‌ای هدف (سر پیکان، لایه بافی کت و بخش کوچکی از گلبول‌های قرمز خون) منتقل می‌شود. e: خون و لایه پوشش بافی بر روی لام شیشه‌ای و موجود منتقل شده است. پوشیده شده با یک لامل (فلش: لامل)

تست‌های آگلوتیناسیون کاردی

برخی از انواع آنتی ژن‌های متغیر (VATs) به طور مشترک در سویه‌های مختلف تریپانوزوما از مناطق مختلف، به صورت غالب بیان می‌شوند. این یافته به عنوان مبنایی برای آزمایش تشخیص T. evansi، تست آگلوتیناسیون کاردی استفاده می‌شود. این آزمایش از تریپانوزوم‌های رنگ آمیزی شده از VAT تعریف شده است. در این آزمایش هر آنتی ژن سطحی متغیر و غیر قابل تغییر در واکنش آگلوتیناسیون شرکت می‌کنند. CATT در قالب کیت از آزمایشگاه مرجع OIE ITM موجود است، که شامل؛ انگل‌های رنگ آمیزی شده، PBS، pH 7.4، کارت‌های با پوشش پلاستیکی، کاردک‌ها، سرم‌های کنترل مثبت و منفی است.

برای غربالگری، سرم‌های آزمایشی ۴/۱ یا ۸/۱ را در PBS روی دایره‌های درج شده روی کارت‌های پلاستیکی رقیق کنید. ۴۵ میکرولیتر از سوسپانسیون آنتی ژن آماده شده (که قبلاً به خوبی تکان داده شده بود تا سوسپانسیون انگل همگن شود) را روی دایره‌های درج شده روی کارت‌های پلاستیکی اضافه کنید. ۲۵ میکرولیتر از هر سرم آزمایشی اضافه کنید. معرف‌ها را با یک کاردک مخلوط کرده و پخش کنید و کارت را به مدت ۵ دقیقه با استفاده از روتاتور ارائه شده در کیت بچرخانید. الگوی آگلوتیناسیون

مصاحبه با جناب آقای دکتر محمد خسروی

دانشیار ایمنی شناسی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز

مصاحبه کنندگان: شیرین جلیلیان، حورا شوشتری^۱

دانشجوی دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

Email: Shyryn.j2000@gmail.com



سلام جناب آقای دکتر خسروی عزیز، وقت عالی به خیر
۱. استاد عزیز لطفاً یک بیوگرافی از خودتان به ما بدهید و از سوابق علمی و پژوهشی خود برای ما توضیح دهید؟

سلام خدمت شما و خوانندگان نشریه خوب بیووت. محمد خسروی، فارغ التحصیل دکترای عمومی دامپزشکی از دانشگاه شهرکرد در سال ۱۳۸۷ و دکترای تخصصی ایمنی شناسی از دانشگاه تهران در سال ۱۳۹۲. دارای سوابق کاری در مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی شعبه اهواز، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله تهران و در حال حاضر دانشگاه شهید چمران اهواز هستم.

۲. علاقه به ایمنی شناسی از کجا شروع شد؟
از ترم های یک تا شش دوران عمومی به بسیاری از گرایش های دامپزشکی علاقه مند بودم از جمله آزیان، فیزیک پزشکی، طیور، سم شناسی، میکروبیولوژی و کتاب های غیر درسی مرتبط را مطالعه می کردم و در نهایت در ترم ۱۰ علاقه واقعی خودم را در رشته میکروبیولوژی و گرایش ایمنی شناسی دیدم.

۳. آیا در زندگی، فردی را الگوی خود قرار داده اید؟
بله سعی می کنم تا حد توان مطالب با خصوصیات اخلاقی پدرم زندگی کنم.

۴. آقای دکتر، از چه زمانی عضو هیئت علمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز شدید؟
از بهمن ماه ۱۳۹۲ تا کنون این افتخار را داشته ام در خدمت دانشگاه شهید چمران اهواز باشم.

۵. به عنوان یک استاد دوست دارید چه ویژگی هایی در دانشجویان خود ببینید؟
برای زندگی و آینده خود هدف بزرگ تعیین کنند و برای رسیدن به آن اهداف تلاش بی وقفه داشته باشند.

۶. آقای دکتر برایمان از مؤسسه معروف سرم و واکسن سازی رازی بگویید. چه قدر در سطح جهانی حرف برای گفتن دارد؟
مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی از افتخارات کشورمان بوده و هستند؛ ان شاء الله بتواند با روزآمد کردن روش های تولید واکسن، بیش از پیش در راستای ارتقای بهداشت دامپزشکی و پزشکی مؤثر واقع شوند.

۷. آیا مؤسسات خصوصی برای تولید سرم و واکسن دامپزشکی در داخل وجود دارند؟ این مؤسسات چه قدر شناخته شده هستند؟

بله شرکت های دانش بنیانی هستند که در سال های اخیر با اخذ حمایت های دولتی به تولید و یا متاسفانه به واردات واکسن های دامپزشکی مشغول فعالیت شده اند. شرکت های خصوصی برخاسته از مؤسسه واکسن و سرم سازی رازی نیز در سال های اخیر به این امر پرداخته اند.

۸. آقای دکتر، به نظر شما از آن جایی که مؤسسه رازی، مؤسسه با پیشینه ای است و بسیاری از نخبگان کشور در آن

فعالیت دارند، به چه دلیل بیماری های مهم دامپزشکی که در غرب ریشه کن شده اند (مثل تب برفکی)، هنوز در ایران بسیار شایع اند؟

زمان ریشه کنی یک بیماری بستگی به میزان سرمایه گذاری دولت دارد؛ سیاست واکسیناسیون تا هنگام پایین آوردن میزان شیوع یک بیماری تا حدی که بتوان کلیه دام های بیمار را با پرداخت خسارت به دامدار معدوم کرد و کنترل بیماری را دست گرفت ادامه خواهد داشت.

۹. چه روش های تشخیصی برپایه ایمنی شناسی در ایران بیش تر رایج هستند؟ در کشورهای همسایه و همین طور کشورهای توسعه یافته چه طور؟

روش های تشخیصی بر مبنای آگلوتیناسیون، آزمون های رسوبی، الیزا، کیت های نواری ایمونوکروماتوگرافی، واکنش زنجیره ای پلی مرز (PCR) و Real-Time PCR اغلب در کشور ما و سایر نقاط دنیا استفاده می شوند. گرچه روش های جدید بر مبنای استفاده از ملکول های بیوسنسور و فلورسنت طی ده سال اخیر جای خودشان را در حوزه پزشکی و دامپزشکی در سایر نقاط دنیا باز کرده اند و کشور ما در این زمینه قدری کند پیش می رود.

۱۰. بعضی کلینسین ها به محض آن که به بیماری مشخصی در دام مشکوک می شوند سریعاً درخواست تهیه کیت می کنند و کم تر به جست و جوی علائم بیشتر در دام می پردازند. نظر شما در این خصوص چیست؟ آیا این میزان اتکای کلینسین ها به کیت های تشخیصی مطلوب است یا خیر؟ چه قدر این کیت ها قابل اعتماد هستند؟

بله موافق تشخیص دقیق عامل بیماری هستیم. بررسی دقیق علائم بیماری برای تشخیص های تفریقی ضروری است منتها تأیید تشخیص نهایی با کیت های تشخیصی است. متاسفانه در کشور ما بسیاری از کیت های تشخیصی، وارداتی هستند و این مسئله ضمن هزینه بردار بودن تشخیص، سبب موارد کاذب تشخیص نیز می شود؛ چرا که هر کیت دارای آستانه ای است که موارد منفی، مثبت و مشکوک را مشخص می کند و این حد که اصطلاح علمی آن Cut off کیت است، برای هر کشور با توجه به شرایط اندمیک بودن بیماری و نژادهای حیوانی متفاوت است. بسیاری از روش های تشخیصی دارای حساسیت و ویژگی مناسبی هستند و با نظر گرفتن علائم بالینی و نتیجه روش های آزمایشگاهی، می توان به تفسیر نتیجه پرداخت و یا در صورت ضرورت از روش های تشخیصی دیگر و یا تکرار آزمایش در چند بازه زمانی جهت کسب اطمینان استفاده نمود.

۱۱. ایمنی شناسی دامپزشکی در قیاس با ایمنی شناسی پزشکی، چه در بخش کلینیکی و چه در بخش تئوری، به چه میزان پیشرفت کرده است؟ به نظر شما این تلاش ها باید چه سمت و سویی پیدا کنند؟

ریشه علم ایمنی شناسی از بررسی بر روی بیماری های دامی، واکسن های حیوانی و بیماری های مشترک انسان و حیوانات آغاز شده است؛ در ادامه بررسی های سلولی و ملکولی در رده های سلولی انسان به انجام رسیده است. لذا علم کنونی، حاصل کنار هم قرار گرفتن همه این موارد است و قابل تفکیک نیستند. جنبه های کشف شده



۱۳. باتوجه به شرایط کرونایی و عدم حضور دانشجویان مقطع پیش‌درمانگاهی دکتری عمومی دامپزشکی در دانشگاه، چه نصیحتی به دانشجویان برای استفاده هرچه مفیدتر از این شرایط دارید؟

مطالعه دقیق منابع معرفی شده توسط اساتید و استفاده از فیلم‌های آموزشی موجود در سایت‌های مختلف اینترنت می‌تواند کمک کننده باشد.

۱۴. پیام شما به افراد علاقه‌مند و دانشجویان دامپزشکی که به تازگی علاقه خود را در زمینه ایمنی‌شناسی کشف کرده‌اند، چیست؟

در صورت داشتن علاقه، تحصیل در این رشته را به دانشجویان عزیز توصیه می‌کنم. برای خود بنده ورود به دنیای شگفتی‌ها و درک قدرت لایزال خداوند متعال بوده و کماکان از مطالعه این علم لذت می‌برم.

نشریه بیووت از جناب آقای دکتر محمد خسروی که وقت ارزشمند خویش را در اختیار این نشریه گذاشتن، صمیمانه تشکر و قدردانی می‌کند. ■

در انسان به صورت کامل در حیوانات قابل تعمیم نیستند و هر گونه، دارای ویژگی‌های منحصر به خود نیز است؛ بنابراین با توجه به تنوع گونه‌های حیوانی، تا کشف و توضیح کامل اجزای ملکولی سیستم ایمنی در حیوانات، کماکان راه درازی در پیش است. وابستگی غذایی، بیماری‌های مشترک و مسائل عاطفی سبب پررنگ کردن اهمیت مطالعه بر روی حیوانات خواهد شد و روز به روز بر غنای این علم و اهمیت موارد مرتبط با حیوانات افزوده می‌شود.

۱۲. آقای دکتر خیلی از مواقع صحبت از این می‌شود که ما باید دانش نوین دامپزشکی در زمینه‌های مختلف را از خارج از کشور به ایران آوریم؛ دانشجویان علاقه‌مند چگونه می‌توانند در این راستا عمل کنند؟

شناخت اپیدمیولوژی بیماری، راه‌های پیشگیری و پایش سلامت حیوانات می‌تواند در جلوگیری از گسترش بیماری در سطح گله و یا مزرعه مؤثر باشد. ارتقا سلامت حیوانات با بهبود شرایط نگهداری و پرورش، افزایش سطح بهداشت و کاهش تنش‌های محیطی امکان‌پذیر است. سیستم ایمنی مناسب جهت توان مقابله با بیماری و پاسخ مناسب به واکسیناسیون، تحت تاثیر عوامل برشمرده است.

سگ‌های مواد یاب

ترجمه‌ی بخشی از مقاله 6-05939-021-s12879/10.1186/doi.org/https



نیوشا کایدزاده^۱، زهرا همایون نژاد^۱

استاد راهنما: دکتر رضا آویزه^۲

دانشجوی دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۲

Email: zahrahoma37@gmail.com

چکیده

سگ‌های مواد یاب (Sniffer dogs) می‌توانند ذرات شیمیایی خاصی را تشخیص دهند؛ از این روی برای کمک در تشخیص بعضی از شرایط پزشکی خاص همانند سرطان کولورکتال، ملانوم، سرطان مثانه و حتی شرایط بحرانی مانند هیپوگلیسمی در بیماران دیابتی، پیشنهاد شده‌اند. با گسترش جهانی ویروس کووید ۱۹ در سراسر جهان و نیاز به غربالگری در زمان وقوع در جمعیت به‌ویژه در مکان‌های شلوغ، این مطالعه با هدف بررسی کاربرد سگ‌های مواد یاب برای انجام چنین کاری انجام شده‌است. برای انجام این پژوهش، ابتدا سه سگ نر و ماده نژاد ژرمن شفرد (سارای)، ژرمن بلک (کوژی) و لابردور (مارکو) طی ۷ هفته با روش‌های کلاسیک آموزش این نوع سگ‌ها، تربیت شدند. آن‌ها به نمونه‌های انسانی به‌دست‌آمده از ترشحات گلو و حلق شرکت‌کنندگانی که قبلاً برای عفونت SARS-COV-2 مثبت یا منفی گزارش شده بود با PCR معرفی شدند. هر سگ تقریباً ۱۰۰۰ بار تحت این فرآیند قرار گرفت. در همین حین، فرآیند وضعیت مشابه دیگری روی لباس‌ها و ماسک‌های بیمار کووید-۱۹ با استفاده از سه سگ نر و ماده دیگر از نژادهای لابردور (لکسی)، کولی مرزی (سامی) و گلدن رتریور (ژیکو) انجام شد. در تست صحت سنجی برای سه قلابه سگ اول، ۸۰ نمونه ترشح حلقی شامل ۲۶ نمونه مثبت و ۵۴ نمونه منفی از مراکز درمانی مختلف که تحت آزمایش PCR قرار گرفتند، به روش سینگل بلایند انجام شد. در تست دوم، برای سه سگ دیگر از ماسک و لباس ۵۰ مورد PCR مثبت و ۷۰ مورد PCR منفی از مراکز درمانی مختلف استفاده شد. در تست تأیید با استفاده از ترشح حلقی، قابلیت تشخیص سگ‌های مواد یاب با ۶۵٪ حساسیت (Sensitivity) و ۸۹٪ ویژگی (Specificity) همراه بود و آن‌ها از ۲۶ نمونه مثبت ۱۷ و از ۵۴ نمونه منفی واقعی ۴۸ مورد را شناسایی کردند. در تست تأیید بعدی با استفاده از ماسک و لباس بیماران، ۴۳ نمونه از ۵۰ نمونه مثبت توسط سگ‌ها به‌درستی شناسایی شدند. هم‌چنین از ۷۰ نمونه منفی، ۶۵ نمونه به‌درستی منفی تشخیص داده شد. حساسیت این آزمون تا ۸۶ درصد و ویژگی آن ۹۲/۹ درصد بود. هم‌چنین ارزش اخباری مثبت و منفی به ترتیب ۸۹/۶ و ۹۰/۳ درصد بود. در نتیجه، سگ‌ها می‌توانند برای شناسایی موارد COVID-19 با استشمام بوی آن‌ها آموزش ببینند؛ بنابراین می‌توان از آن‌ها به عنوان ابزاری قابل اعتماد در غربالگری محدود استفاده کرد.

کلمات کلیدی: تشخیص، غربالگری، سگ‌های مواد یاب، کووید-۱۹، سلامت، ترشحات حلقی

یا منفی بودنشان با تست PCR مشخص شده بود، صورت پذیرفت. نمونه‌ها نیز از بستریان ICU در بیمارستان‌های کلان‌شهر تهران انتخاب شد. موارد منفی افراد سالمی بودند که در PCR منفی بودند و همچنین نمونه‌های ترشحات حلقی، ماسک صورت و لباس در جعبه‌های در بسته به محل تحویل داده شد. در نهایت نیز تست تأیید صلاحیت به روش Single blind انجام شد.

در بخش اول آموزش، سه قلاده سگ شامل یک ژرمن شفره، یک لابردور و یک بوردر کالی به مدت ۷ هفته تحت آموزش شدید روش کلاسیک (Classical conditioning method) قرار گرفتند. سپس با نمونه‌های ترشحات حلقی شرکت‌کنندگان آشنا شدند. بیماران روزانه از بیمارستان تحت شرایط کنترل شده‌ای به آزمایشگاه آورده شدند. این نمونه‌ها در گروه‌های ده‌تایی متشکل از یک تا سه نمونه مثبت کووید-۱۹ در روند آموزش سگ قرار گرفتند. بیماران از هر دو جنس مؤنث و مذکر بودند و از سنین مختلف انتخاب شدند. همچنین باید توجه داشت که بعضی بیماران قبل از درگیری به کووید-۱۹ کاملاً سالم بودند در حالی که بعضی از آن‌ها به بیماری‌هایی مانند دیابت، نارسایی‌های قلبی و کلیوی، بیماری‌های تنفسی مثل آسم و سایر بیماری‌ها مبتلا بودند.

در دومین بخش پژوهش، مجموعه آموزشی شامل ماسک صورت و لباس و سه سگ دیگر با استفاده از ۱۳۰۰ لباس و ۱۳۰۰ ماسک صورت بیماران کووید-۱۹ آموزش دیدند. این موارد قبل از استفاده به عنوان نمونه به مدت ۲۴ ساعت پوشیده شده بودند. نمونه‌های کنترل این بخش شامل همان لباس‌ها و ماسک‌های بیمارستانی از بیماران بستری شده در بیمارستان بود اما با PCR ثابت شد که مورد COVID-19 نیستند.

تست تأیید

در اواخر آوریل ۲۰۲۰، پس از ۷ هفته تمرین فشرده که در طی آن هر سگ به طور متوسط حدود ۱۰۰۰ بار تحت فرآیند آموزش قرار گرفت و ۱۲۰ آزمایش در طول دوره انجام شد، تست‌های تأیید برای هر دو گروه از سگ‌ها انجام گرفت. برای تست صحت‌سنجی سگ‌های گروه اول، ۸۰ نمونه ترشحات حلقی که به ترتیب ۲۶ و ۵۴ نمونه مثبت و منفی (نمونه‌های منفی از افراد سالم بود) به صورت Single blind استفاده شد. در گروه دوم از سگ‌ها ۱۲۰ نمونه شامل لباس و ماسک صورت استفاده شد که ۵۰ نمونه مثبت و ۷۰ نمونه منفی بود. موارد منفی با روش PCR شناسایی شد؛ اما علائم منفی آزمودنی‌ها ۲ هفته قبل و بعد از آزمایش بررسی شد. باید به این نکته توجه داشت که نمونه‌ها از مراکز درمانی مختلف و افراد با شدت درگیری متفاوتی گرفته شدند. برای به حداکثر رساندن پراکندگی، نمونه‌ها از بیمارستان‌های مختلف تهران گرفته شد. در انتهای پژوهش هیچ‌کدام از سگ‌ها مبتلا به کووید-۱۹ نبوده و کاملاً سالم بودند.

آنالیز آماری

تست‌های اپیدمیولوژیک و آماری از جمله تست حساسیت (TPR)، ویژگی (TNR)، وضعیت مثبت و منفی، درصد منفی کاذب (FNR)، درصد مثبت کاذب (FPR)، درصد‌های احتمالی (LR+/LR-) صورت گرفت و اطلاعات توسط نرم افزار SPSS ورژن ۲۳ آنالیز شدند.

نتایج

در بخش ابتدای پژوهش، پس از تکمیل پروسه آموزش، ترشحات

از اواخر سال ۲۰۱۹، پاندمی ویروس SARS-COV-2 شروع شد و تاکنون نیز میلیون‌ها نفر را درگیر و باعث کشته شدن صدها هزار انسان خصوصاً کادر درمان شده‌است و سایر جنبه‌های زندگی انسان و کسب‌وکار نیز تحت تأثیر این بیماری قرار گرفته‌اند. در ابتدای پاندمی، بسیاری از کشورها از سیاست قرنطینه برای جلوگیری از انتشار بیماری استفاده کردند. هر چند که این کار باعث خسارات اقتصادی زیادی خصوصاً در کشورهای در حال توسعه و فقیر شد.

به نظر می‌رسد روش بالینی اصلی در تشخیص کووید-۱۹، سی تی اسکن (CT-scan) باشد و روش استاندارد طلایی تشخیص کووید ۱۹ تست PCR است که البته هر دوی این روش‌ها با محدودیت‌هایی روبه‌رو هستند. همچنین نتایج نشان داده‌اند که در PCR کشورهای مختلف، حساسیت و ویژگی‌های متفاوتی دارد که از به کارگیری روش کار متفاوت، ناشی می‌شود. همچنین CT-scan به دلیل پرتوهایی که دارد خطر ابتلا به عوارض متعدد از جمله بدخیمی‌های سرطان‌زا را افزایش می‌دهد. علاوه بر این، این دو تست برای غربالگری عمومی مناسب نبوده و از طرفی در همه مناطق نیز موجود نیستند.

سیستم بویایی سگ، مجهز به اپیتلیوم بویایی گسترده (۱۷۰ سانتی‌متر مربع و ۱۷ برابر بیشتر انسان) و همچنین دارای تعداد زیادی گیرنده بویایی (بیش از ۲۰۰ میلیون) است در حالی که در انسان ۵ میلیون گیرنده وجود دارد. این توانایی باعث شده که از سگ‌ها در شناسایی مواد منفجره، مواد مخدر، اجساد مرده و همچنین در تشخیص بیماری‌هایی مانند بدخیمی‌ها، دیابت، پارکینسون، تشنج‌ها، هورمون‌ها و آنزیم‌های خاص نیز استفاده شود. وقوع تغییرات متابولیکی در بدن باعث ایجاد بوهای خاصی می‌شود که به وسیله بعضی حیوانات به‌ویژه سگ‌ها- به دلیل داشتن سیستم بویایی خاص‌شان- قابل تفسیر است. اعتقاد بر این است که این بوها عمدتاً از ترکیبات آلی فرار (VOCs) ناشی می‌شوند که در اثر فعل و انفعالات بیوشیمیایی تغییر یافته در داخل بدن طی حضور رویدادهای پاتولوژیک ایجاد می‌شود. استفاده از سگ‌های آموزش دیده باعث تشخیص سریع‌تر بیماران، با هزینه‌ای کمتر از CT-scan و سایر روش‌های موجود می‌شود. سگ‌ها با ظرفیت تشخیص ۲۵۰ نمونه در هر ساعت، برای تشخیص و جداسازی ناقلان بدون نشانه نیز در جمعیت‌های موجود در یک مکان، مناسب هستند. طبق پیشنهادات سازمان بهداشت جهانی (WHO)، یکی از چالش‌های استفاده از راهکارهای مختلف، غربالگری بیماری در جمعیت‌های بزرگ است. پس فرض می‌شود که استفاده از سگ‌های آموزش دیده تشخیص بیماری‌ها مانند کووید-۱۹ را در چنین جمعیت‌هایی تسریع می‌کند.

روش کار

در این پژوهش فرض بر این شد که سگ‌های مواد یاب می‌توانند تغییرات متابولیکی ناشی از فعالیت ویروس SARS-COV-2 را در بدن انسان تشخیص دهند. برای این هدف، یک برنامه آموزشی برای ۶ سگ نر و ماده از ۵ نژاد مختلف (از آنجایی که تاکنون هیچ گونه شواهدی مبنی بر موفقیت یک نژاد خاص در تشخیص کووید-۱۹ وجود نداشته‌است، در این پژوهش از نژادهای مختلف استفاده شد) ژرمن شفره، ژرمن بلک، لابردور، گلدن رتریور و بوردر جیپسی طراحی شد. این پژوهش در ۲ بخش آموزشی مختلف انجام شد.

یک پژوهش روی نمونه‌های ترشحات حلقی شرکت‌کنندگان و دیگری بر روی لباس و ماسک شرکت‌کنندگانی که قبلاً مثبت و

که با آن‌ها روبه‌رو بودیم شامل نداشتن درصد شیوع و هم‌چنین بررسی مجدد افراد با PCR منفی (کنترل) با یک تست PCR مجدد امکان پذیر نبود و تقریباً در انتهای فاز آموزش سگ‌ها، ایران توانست موارد جدید را کاهش دهد؛ در نتیجه افزایش تعداد نمونه‌ها جهت دستیابی به نتایج بهتر امکان‌پذیر نبود. در نهایت اگر موارد منفی کاذب به نزدیک صفر می‌رسید، حساسیت می‌توانست به مقدار قابل توجهی افزایش یابد.

نتیجه‌گیری

می‌توان با آموزش از سگ‌ها برای شناسایی افراد مبتلا به کووید ۱۹ به‌عنوان یک وسیله قابل اتکا در برنامه‌های آزمایشی همراه با محدودیت استفاده نمود. این پژوهش یک تجربه محدود بود که می‌تواند به عنوان یک پایه برای دیگر محققان جهت ایده گرفتن استفاده شود. شناسایی VOCs مرتبط با کووید ۱۹، یک فرصت مناسب برای بهبود حس‌گرهای زیستی برای آزمایش انبوه جمعیت است.

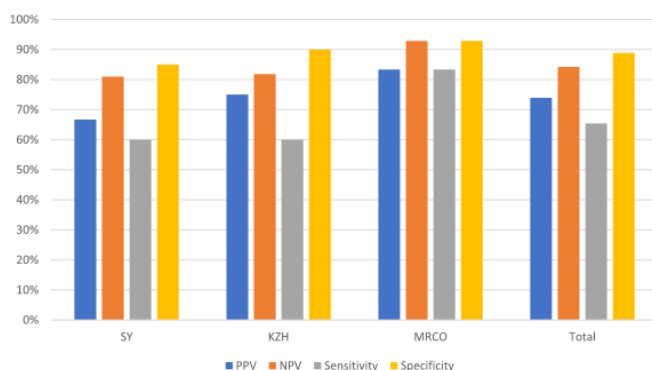
مقاله حاضر، ترجمه مستقیم از مقاله «Sniffer dogs as a screening/ diagnostic tool for COVID-19» بود.

منابع

1. World Health Organization. Clinical management of severe acute respiratory infection (SARI) when COVID-19 disease is suspected: interim guidance, 13 March 2020. World Health Organization; (2020).
2. Coibion O, Gorodnichenko Y, Weber M. Labor markets during the COVID-19 crisis: a preliminary view. National Bureau of Economic Research; (2020).
3. Tahamtan A, Ardebili A. Real-time RT-PCR in COVID-19 detection: issues affecting the results. Expert Rev Mol Diagn; 20(5):453–4. (2020)
4. Diederich S, HJC L. Radiation exposure associated with imaging of the chest: comparison of different radiographic and computed tomography techniques. Cancer; 89(S11):2457–60. (2000)
5. Lippi G, Cervellini G, Medicine L. Canine olfactory detection of cancer versus laboratory testing: myth or opportunity? Clin Chem Lab Med; 50(3):435–9. (2012)
6. Los EA, Ramsey KL, Guttman-Bauman I, Ahmann AJ. Reliability of trained dogs to alert to hypoglycemia in patients with type 1 diabetes. J Diabetes Sci Technol.; 11(3):506–12. (2017)
7. Wells DL. Dogs as a diagnostic tool for ill health in humans. Altern Ther Health Med. 2012; 18(2).
8. Eskandari, E., Ahmadi Marzaleh, M., Roudgari, H. et al. Sniffer dogs as a screening/diagnostic tool for COVID-19: a proof of concept study. BMC Infect Dis 21, 243 (2021).
9. Spicuzza L, Montineri A, Manuele R, Crimi C, Pistorio MP, Campisi R, et al. Reliability and usefulness of a rapid IgM-IgG antibody test for the diagnosis of SARS-CoV-2 infection: a preliminary report. 2020.
10. Yang Y, Yang M, Shen CJ. Evaluating the accuracy of different respiratory specimens in the laboratory diagnosis and monitoring the viral shedding of 2019-nCoV infections, vol. 11, 2020. Posted February 17
11. Ashrafi M, et al. Volatile organic compound detection as a potential means of diagnosing cutaneous wound infections. Wound infections. Wound Rep Regen. 2017, 25(4): 574-90.

گلو و حلق به سگ‌های معرفی شدند. سگ‌ها توانستند با دقت بالای ۸۰٪، نمونه‌های مثبت را از بین تمام نمونه‌ها شناسایی کنند. در تست تأیید، ۸۰ نمونه در لوله آزمایش به صورت ۸ ست ۱۰ تایی (مثبت و منفی) استفاده شدند که سگ‌ها از ۲۶ نمونه مثبت، ۱۷ مورد را به‌درستی تشخیص دادند و به‌صورت شگفت‌انگیزی از ۵۴ نمونه منفی، ۴۸ مورد را به‌درستی تشخیص دادند. اگرچه عملکرد سگ‌های آموزش داده شده تاحدی با هم متفاوت بود. سگ‌های نژاد ژرمن شپرد سارای (SY) و ژرمن بلک کوژی (KZH) با موفقیت ۶ نمونه از ۱۰ نمونه مثبت را در یک ست ۳۰ تایی مثبت و منفی به‌درستی تشخیص دادند. سگ سوم در این آزمایش مارکو بود (MRC)، یک لابردور که ۵ مورد مثبت از یک ست ۲۰ تایی که ۶ مورد مثبت و ۱۴ مورد منفی داشت را تشخیص داد. به‌طور متوسط، هر سه سگ ۱۷ مورد از ۲۶ نمونه مثبت را با یک حساسیت ۶۵٪ به‌درستی تشخیص دادند. هرچند، درصد ردیابی صحیح نمونه‌های منفی برای هر سه ۸۹٪ بود.

در بخش دوم پژوهش، ست تست شامل ۵۰ نمونه مثبت (لباس و ماسک بیماران با PCR مثبت) و ۷۰ نمونه کنترل (افراد با PCR منفی) بود. از ۵۰ نمونه مثبت، ۴۳ مورد به‌درستی توسط لکسی، سمی و ژیکو تشخیص داده شدند. علاوه بر این از ۷۰ نمونه منفی، ۶۵ مورد را به درستی ردیابی کردند. حساسیت این تست ۸۶٪ و ویژگی ۹۲٪ بود که با کیت‌های تشخیص آزمایشگاهی هم‌چون PCR قابل مقایسه است؛ هم‌چنین مقادیر قابل پیش‌بینی مثبت و منفی به ترتیب ۸۹/۶ و ۹۰/۳ درصد بودند (شکل ۱).



شکل ۱- نتایج آماری عملکرد سگ‌ها.

بحث

با توجه به نتایج بدست آمده می‌توان چنین بیان نمود که این پژوهش با موفقیت توانست حضور یک بو خاص و قابل ردیابی در افراد با بیماری COVID-19 را به اثبات برساند. همان‌طور که می‌دانیم، حداقل 3481 VOCs در تنفس انسان وجود دارد؛ بنابراین امیدواریم که با استفاده از آن‌ها بتوان حس‌گرها و بین‌های الکترونیکی برای ردیابی کووید ۱۹ طراحی کرد. در حال حاضر ارتباط VOCs با بدخیمی‌ها به اثبات رسیده است. به‌عنوان مثال وابستگی 4-Methyl decane، Dodecane و Undecane با ملانوم بدخیم گزارش شده است. سگ‌ها نوعی ردیاب‌های آبی برای تشخیص سریع هستند که به‌شدت در تنظیمات پندمیک‌ها مورد نیازند؛ سگ‌های ردیاب را می‌توان برای شناسایی موارد مشکوک به کووید ۱۹ در مکان‌های شلوغ مانند فرودگاه، پایانه مسافری و مراکز بین‌المللی مهم استفاده کرد. برخی محدودیت‌هایی



کم کاری تیروئید در سگ ها

زهرا احمدی^۱

استاد راهنما: دکتر محمد راضی جلالی^۲

دانشجوی دکتری تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران^۲

Email: zahra.ahmadi9996@gmail.com

چکیده

کم کاری تیروئید شایع ترین بیماری غدد درون ریز تشخیص داده شده در سگ ها است که با کاهش تولید هورمون های تیروئید مانند تیروکسین (T4) و تیرونین (T3) مشخص می شود و شامل سه نوع است: کم کاری تیروئید اولیه (بیش از ۹۵ درصد)، کم کاری تیروئید ثانویه و کم کاری تیروئید ثالثیه. در حدود ۹۵ درصد موارد شروع بزرگ سالان، یک اختلال اولیه تیروئید و در ۵ درصد یا کم تر به دلیل کمبود تیروتروپین (TSH) است. در سگ های بالغ، ثابت ترین علائم بالینی کم کاری تیروئید به دلیل کاهش متابولیسم سلولی و تظاهرات پوستی است. علائم بالینی بیشتر ممکن است بر سیستم عصبی عضلانی، دستگاه گوارش و دستگاه تناسلی تأثیر گذارد. وجود علائم بالینی مناسب، به ویژه زمانی که برای تشخیص به غلظت پایه هورمون تیروئید تکیه می شود، ضروری است. شناسایی کم خونی غیر جبرانی خفیف در شمارش کامل خون و افزایش غلظت کلسترول سرم در پانل بیوشیمی سرم، به تشخیص کم کاری تیروئید کمک می کند. T4 پایین سرم، T4 آزاد و افزایش غلظت TSH سرم در سگ با علائم بالینی مناسب و ناهنجاری های بالینی نشان دهنده کم کاری تیروئید است.

کلمات کلیدی: کم کاری تیروئید، هورمون تیروکسین، سگ، هورمون تیرونین

کم کاری تیروئید اولیه پاتوژنز

در شکل خود به خودی، یک فرآیند خودایمنی پیشرونده منجر به نفوذ لنفوسیتی و ناپدید شدن فولیکول های تیروئید می شود. به اصطلاح اشکال ایدیوپاتیک، که در آن ها آتروفی تیروئید بدون ارتشاح التهابی وجود دارد، هم چنین تصور می شود که نتیجه نهایی یک اختلال خودایمنی باشد. تخریب با واسطه ایمنی کند است. روند و علائم بالینی کمبود هورمون تیروئید تنها پس از تخریب بیش از ۷۵ درصد از فولیکول های تیروئید آشکار می شود. اگرچه ممکن است از اهمیت بیماری زایی بالایی برخوردار نباشند، اتوانتی بادی ها علیه تیروگلوبولین (Tg) ممکن است به عنوان نشانگر تیروئیدیت خودایمنی عمل کنند. آنتی بادی های در گردش علیه Tg در بیش از ۵۰ درصد از سگ های کم کاری تیروئید شناسایی می شوند. آنتی بادی های ضد Tg یک گروه ناهمگن را تشکیل می دهند که به سمت چندین اپی توپ هدایت می شوند. هنگامی که یک اپی توپ شامل یک محل هورمون ز باشد، یک آنتی بادی می تواند علیه قطعه ای که حاوی T4 یا T3 است هدایت شود. این آنتی بادی های Tg گاهی اوقات با آزمایش های ایمنی مورد استفاده برای اندازه گیری غلظت پلاسمايي هورمون های تیروئید، به ویژه T3 تداخل می کنند. بسته به نوع سنجش، آنتی بادی هایی که اپی توپ های هورمون تیروئید را تشخیص می دهند ممکن است باعث افزایش یا کاهش کاذب مقادیر شوند (۱).

علائم بالینی

تیروئیدیت معمولاً مورد توجه قرار نمی گیرد، اگرچه به ندرت علائم گذرا پرکاری تیروئید (که عمدتاً با پلی اوری مشخص می شود) مشاهده شده است. این احتمالاً به دلیل آزاد شدن هورمون تیروئید در گردش خون در طول مرحله حاد تیروئیدیت مخرب است. در نهایت، بیشتر سگ های مبتلا به تیروئیدیت احتمالاً علائم کمبود هورمون تیروئید را نشان می دهند. کم کاری تیروئید اولیه اکتسابی عمدتاً وضعیت سگ های جوان و بالغ و میانسال است. اگرچه

سگ های نژادهای بزرگ ممکن است بیشتر از سگ های نژادهای کوچک تحت تأثیر قرار گیرند، اما هیچ استعداد نژادی مشخصی وجود ندارد. بروز به طور مساوی بین نر و ماده توزیع می شود. هورمون های تیروئید بر عملکرد تقریباً تمام بافت های بدن تأثیر می گذارند و بنابراین تصویر بالینی کلاسیک کم کاری تیروئید آشکار شامل تظاهرات تقریباً از همه سیستم های اندام است (جدول ۱) (۲). زمان مورد نیاز برای اثرات قابل توجه بالینی متفاوت است: بی حالی ممکن است در عرض چند ماه مشاهده شود، اما تغییرات پوستی ممکن است تقریباً یک سال طول بکشد. مرکز علائم بالینی معمولاً سابقه کند شدن فعالیت های ذهنی و بدنی است. بیشتر سگ های کم کاری تیروئید در جاتی از کسالت ذهنی، بی حالی و بی میلی به ورزش دارند. این علائم تدریجی شروع می شوند، اغلب ظریف هستند و گاهی اوقات تا زمانی که درمان شروع نشده است، توسط مالک تشخیص داده نمی شود. از جمله تغییرات قابل مشاهده در مو و پوست می توان به آلوپسی (اغلب با رنگدانه)، چین خوردگی ضخیم پوست و ظاهر پف کرده صورت اشاره کرد. ضخیم شدن و پف کردگی نشانه ای از موسینوز جلدی یا میکسدم است که تجمع در درم گلیکوز آمینو گلیکان ها و اسید هیالورونیک همراه با ادم است. گاهی کم کاری تیروئید با عفونت های پوستی ثانویه از جمله عفونت های مالاسزیا همراه است (۳).

تشخیص های افتراقی

از آن جایی که علائم کم کاری تیروئید می تواند بسیار متفاوت باشد، یک مشکل رایج در تشخیص، صرفاً نادیده گرفتن این احتمال است که مشکلات ارائه شده به دلیل کم کاری تیروئید باشد. به عنوان مثال، برای سگ های مبتلا به کم کاری تیروئید غیرمعمول نیست که برای توجه به شرایط قلب و عروق (بی حالی که به اشتباه به عنوان عدم تحمل ورزش تعبیر می شود) یا ارتوپدی (اختلال حرکتی) وجود داشته باشد. بی حالی، شایع ترین علامت کم کاری تیروئید، ممکن است با بیماری متابولیک (هیپاتو آنسفالوپاتی) یا مغزی (آنسفالیت، هیدروسفالی) اشتباه گرفته شود. آتروفی پوست و اجزای جانبی

آن باید در شرایطی مانند افزایش استروژن و هیپرکورتیزولیسم را در نظر بگیرد.

سیستم	رایج	کمتر رایج یا نادر
متابولیسم	افزایش وزن اشتها بدون تغییر یا کاهش یافته است عدم تحمل سرما	دمای بدن پایین
پوست و مو	کت درشت و کم شروع آلوپسی تنه بدون خارش پیش از نقاط سایش ضخیم شدن پوست موکوپلی ساکارید (میکسدم)	هایپرپیگمانتاسیون پیودرمی ثانویه سبوره
قلبی عروق	برادی کاردی، نبض محیطی ضعیف و ضربان اوج ECG ولتاژ پایین	گردش خون محیطی ضعیف پوست خشک
تولید مثل و غدد درون ریز	آنتستروس ماندگار از دست دادن میل جنسی آتروفی بیضه	ژنیکو ماستی گالاکتوره کمبود چند غده ای (سندرم آشمیت)
عصبی و عضلانی	بی حالی و خواب آلودگی راه رفتن سفت -	آتاکسی دهلیزی کج شدن سر فلج عصب صورت لنگش
گوارشی	-	اسهال
خون	-	کم خونی غیر جبران پذیر
بیوشیمیایی	هیپرکلسترولمی هیپرتری گلیسیریدمی هیپرگلیسمی خفیف	افزایش کراتینین کیناز هیپوناترمی هیپرکالمی

تشخیص

به عنوان معیاری برای عملکرد تیروئید، T4 باید بر T3 ترجیح داده شود زیرا منحصراً توسط غده تیروئید تولید می شود در حالی که T3 در پلازما عمدتاً از تبدیل محیطی حاصل می شود. در اکثر سگ های مبتلا به کم کاری تیروئید اولیه، غلظت پلاسمایی T4 کل (TT4) و T4 آزاد (fT4) کم تر از محدوده مرجع است. با این حال، می توان آن ها را در سگ های بدون اختلال تیروئید به دلیل داروها یا بیماری کاهش داد. اصطلاحات بیماری غیر تیروئیدی و سندرم تیروتروئید بیمار برای این اختلال هموستاز تیروئید معرفی شده است. در نتیجه، یافتن غلظت پایین هورمون تیروئید در پلازما ارزش تشخیصی کمی دارد. به همین دلیل، آزمایش های تحریکی با استفاده از TSH یا TRH پیشنهاد شده اند. آزمایش تحریک TRH با استفاده از اندازه گیری غلظت TT4 پلازما با دقت کافی بین سگ های مبتلا به کم کاری تیروئید و سگ های مبتلا به بیماری غیر تیروئیدی تمایز قائل نمی شود. تا پایان قرن گذشته، کم کاری تیروئید اولیه در سگ ها با یافتن غلظت کم TT4 و یا (fT4) پلازما که به اندازه کافی به تحریک با TSH گاو (bTSH) پاسخ نمی دهد، تشخیص داده می شد (۴). TSH در سگ ها ارزیابی محور هیپوفیز-تیروئید با اندازه گیری T4 و TSH بسیار آسان تر می کند. امید بود که یک نمونه خون برای تأیید تشخیص کم کاری تیروئید اولیه با آشکار کردن غلظت T4 پایین در حضور غلظت TSH بالا کافی باشد. با این حال، با استفاده از تست تحریک TSH به عنوان استاندارد طلایی، مشخص شد که در یک سوم سگ های مبتلا به کم کاری اولیه تیروئید، غلظت TSH پلازما افزایش نمی یابد. دامپزشکان

منابع

استفاده از آزمایش تحریک TSH را از تکرار کنند، اگرچه در حال حاضر معمولاً به جای bTSH از نوترکیب انسانی TSH (rh) استفاده می شود.

در سگ هایی که علائم بالینی کم کاری تیروئید دارند، ترکیبی از TT4 پلازما پایین و غلظت TSH پلازما به وضوح بالا برای کم کاری تیروئید اولیه تشخیصی است. هنگامی که TT4 پایین است اما TSH در محدوده مرجع است، آزمایش تحریک TSH می تواند انجام شود. به نظر می رسد روش هایی که شامل ارزیابی بیوشیمیایی محور هیپوفیز-تیروئید نمی شوند مانند اسکن رادیونوکلئید یا اندازه گیری جذب تیروئید با $^{99m}\text{TcO}_4$ ، سونوگرافی با وضوح بالا، یا حتی بیوپسی تیروئید - برای تشخیص کم کاری تیروئید اولیه در سگ ها قابل اعتماد هستند. در مطالعه ای روی جذب $^{99m}\text{TcO}_4$ در سگ ها با کم کاری تیروئید اولیه و بیماری غیر تیروئیدی، هیچ هم پوشانی در جذب تیروئید در ۴۵-۱۲۰ دقیقه پس از تزریق وجود نداشت. در سونوگرافی با وضوح بالا غدد تیروئید، از دست دادن اکوژنیسیته، همگنی و شکل دوکی به ویژه مشخصه کم کاری تیروئید اولیه است. نشان دادن آنتی بادی های در گردش به Tg نشان دهنده وجود تیروئیدیت است اما هیچ اطلاعاتی در مورد عملکرد تیروئید ارائه نمی دهد. همان طور که در بخش پاتوژن نشان داده شد، عدم وجود آنتی بادی علیه Tg، کم کاری تیروئید را رد نمی کند. علاوه بر این، سگ های دارای آنتی بادی علیه Tg ممکن است. اخیراً مشخص شد که تجویز TRH منجر به افزایش غلظت هورمون رشد پلازما (GH) در سگ ها با کم کاری تیروئید می شود، در حالی که در سگ های مبتلا به بیماری غیر تیروئیدی هیچ افزایشی در غلظت GH پلازما مشاهده نمی شود. این مشاهدات نشان می دهد که آزمایش تحریک TRH با اندازه گیری غلظت GH پلازما ممکن است ابزاری ارزشمند برای شناسایی سگ های مبتلا به کم کاری تیروئید باشد. در کم کاری تیروئید مرکزی، تیروئید در درجه اول تحت تأثیر قرار نمی گیرد، اما از تحریک TSH محروم می شود. بررسی بافت شناسی عدم از دست دادن فولیکول ها را نشان می دهد. این وضعیت در مقایسه با نارسایی اولیه تیروئید نادر است. علل خود به خودی شامل تومور هیپوفیز یا نواحی مجاور و ضربه به سر است. تصویر بالینی شبیه به کم کاری تیروئید اولیه است، اگرچه به طور کلی کم تر مشخص است. ممکن است بی حالی و آلوپسی وجود داشته باشد، اما ضخیم شدن پوست کم تر مشخص می شود. به طور غیر معمول، ضایعاتی که باعث کاهش ترشح TSH می شود، یک تومور ترشح کننده هورمون است، مانند آدنوم کورتیکوتروف که ACTH بیش از حد ترشح می کند. علائم و نشانه های ناشی از چنین تومور هیپوفیز ممکن است جلوتر، همراه و حتی تظاهرات نارسایی هیپوفیز را پنهان کند. در حضور تومور ترشح کننده ACTH، کم کاری تیروئید مرکزی ممکن است تنها پس از معکوس شدن هیپرکورتیزولیسم مرتبط آشکار شود. تشخیص کم کاری تیروئید مرکزی باید بر اساس نشان دادن غلظت پایین T4 و TSH در پلازما باشد (۵). در کم کاری تیروئید ثانویه، غلظت T4 پلازما در آزمایش تحریک TSH افزایش می یابد، اگرچه تحریک مکرر ممکن است ضروری باشد. شرط لازم برای تفسیر صحیح این آزمایش ها این است که مطمئن شوید که غلظت پایین T4 (و TSH) ناشی از بیماری یا دارو نیست. علاوه بر این، ارزیابی تشخیصی باید شامل ۱- ترشح هورمون هیپوفیز دیگر و ۲- مورفولوژی هیپوفیز و نواحی مجاور با تصویربرداری تشخیصی باشد (۵).

- 1- P. A. Graham, K. R. Refsal, R. F. Nachreiner, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 2007, 37, 617-631.
- 2- S. Strey, R. Mischke, J. Rieder, Tierärztliche Praxis. Ausgabe K, Kleintiere/heimtiere 2021, 49, 195-205.
- 3- J. C. Scott-Moncrieff, Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 2007, 37, 709-722; bT. Lokes-Krupka, M. Tsvilichovsky, S. Zarytskyi, Scientific Messenger of LNU of Veterinary Medicine and Biotechnologies. Series: Veterinary Sciences 2020, 22, 80-83.
- 4- M. Shin, D. Lee, T. Yun, Y. Koo, B.-T. Kang, M.-P. Yang, H. Kim, The Thai Journal of Veterinary Medicine 2021, 51, 655-665.
- 5- N. Sasaki, N. Nagata, K. Morishita, T. Osuga, K. Sasaoka, N. Yokoyama, H. Ohta, M. Takiguchi, Journal of Veterinary Medical Science 2020, 20-0183.

گزارش یک مورد راشیتیس ناشی از پوکی استخوان مربوط به کمبود ویتامین دی در یک قلاده سگ نر نژاد پیتبول

امیر محمد حسینی^{۱*}، شهرزاد گیتی جمال^۲

استاد راهنما: دکتر احمد خواجه^۳

دانشجوی تخصص جراحی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

دانشجوی دکترای عمومی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۲

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۳

Email: Amirmohammadhosseini1993@gmail.com

چکیده

ویتامین D در طبیعت دارای دو شکل غیر فعال است: کوله کلسیفرول ویتامین (D3) و ارگوکلسیفرول (ویتامین D2). پس از مصرف، ویتامین D تا زمان تبدیل تحت یک تبدیل آنزیمی چند مرحله‌ای قرار گرفته تا به فرم فعال ۱،۲۵-دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (OH)(2D3)1،25 تبدیل شود. متابولیسم ویتامین D در سگ‌ها در مقایسه با سایر پستانداران تفاوت‌هایی دارد. سگ‌ها قادر به انجام سنتز پوستی ویتامین D از طریق قرار گرفتن در معرض نور خورشید نیستند؛ بنابراین برای دریافت این ماده مغذی به رژیم غذایی وابسته هستند. نقش به‌سزای ویتامین D، در تحریک جذب کلسیم و فسفات رودهای، باز جذب کلیوی کلسیم و فسفات و تنظیم متابولیسم مواد معدنی استخوان است. علاوه بر این، به‌وضوح هویدا است که هم استئوبلاست‌ها و هم سلول‌های غضروفی آنزیم 1- α -هیدروکسیلاز و VDR را بیان می‌کنند و نشان داده شده که ویتامین D می‌تواند به طور مستقیم بر رشد و معدنی شدن استخوان و همچنین در بازسازی استخوان عمل کند. مقادیر کلسیم و فسفر مورد مصرف در سگ‌های بالغ به نسبت صحیح کلسیم ۱،۲ بخش برای هر فسفر ۱ بخش (۱،۲:۱) و ۱،۴ بخش کلسیم برای هر فسفر ۱ بخش (۱،۴:۱) برای توله سگ‌ها است. این میزان باید توسط تغذیه مناسب تأمین شود. در این مطالعه گزارش یک مورد راشیتیس و پوکی استخوان ناشی کمبود ویتامین D در یک قلاده سگ نر نژاد پیتبول در استان خوزستان پرداخته شده است. یک سگ نر دو ماهه نژاد پیتبول با تاریخچه مصرف زیاد گوشت و محل نگهداری محدود و علائم بدشکلی استخوان‌ها در ناحیه ساعد، مچ و انگشتان به کلینیک ارجاع داده شد که آزمایشات نشان‌دهنده کمبود ویتامین دی و تأییدی بر بیماری بود. به دلیل پیش‌آگهی مناسب در مورد ارجاعی پس از دریافت هفتگی هزار واحد ویتامین D تا یک ماه و دریافت روزانه کلسیم با دوز ۲۵ میلی گرم بر کیلوگرم بهبود پیدا کرد. در موارد کمبود ویتامین‌ها استفاده از جیره مناسب و مکمل‌ها نقش به‌سزایی دارد. در نمونه مشابه در صورت پیشرفت نرمی استخوان و نبود پیش‌آگهی مناسب عدم پاسخ به درمان محتمل است.

کلمات کلیدی: راشیتیس، کمبود ویتامین D، سگ، نرمی استخوان، پیتبول

مقدمه

ترشح هرمون پاراتیروئید (PTH) عمل می‌کند. همه این عملکردها می‌توانند به طور غیر مستقیم، رشد و معدنی شدن استخوان را تنظیم کنند. علاوه بر این، مشخص شده که هم استئوبلاست‌ها و هم سلول‌های غضروفی آنزیم 1- α -هیدروکسیلاز و VDR (۸) را بیان می‌کنند و نشان داده شده که ویتامین D می‌تواند به‌طور مستقیم بر رشد و معدنی شدن استخوان (۹-۱۱) و همچنین در بازسازی استخوان عمل کند (۱۲). در سگ‌ها، استفاده گسترده از غذاهای تجاری کامل و متعادل، موارد کمبود ویتامین D را کاهش داده (۱۴) با این حال، با افزایش علاقه به غذاهای خانگی، خطر فزاینده‌ای برای کمبود ویتامین D وجود دارد (۱۵، ۱۶). هم‌چنین کمبود ویتامین D می‌تواند منجر به هیپوکالسمی و هیپوفسفاتی که می‌توانند منجر به بیماری استخوانی استئومالاسی شود (۱۴، ۵).

مصرف بیش از حد ویتامین D نیز مضر است. مسمومیت حاد ویتامین D منجر به هیپرکالسمی که باعث علائم بالینی مانند؛ پلی-دیپسی، پلی‌اور، بی‌اشتهایی، استفراغ، یبوست، تشنج و غیره. در

ویتامین D یک ماده مغذی ضروری برای سگ‌ها است، زیرا آن‌ها قادر به سنتز ویتامین D3 از طریق قرار گرفتن در معرض آفتاب و سطح پوست نیستند؛ بنابراین، ضروری است که این ماده مغذی را از رژیم غذایی خود دریافت کنند (۱، ۲). ویتامین D در طبیعت دارای دو شکل غیر فعال است: کوله کلسیفرول ویتامین (D3) و ارگوکلسیفرول (ویتامین D2). پس از مصرف، ویتامین D تا زمان تبدیل تحت یک تبدیل آنزیمی چند مرحله‌ای قرار گرفته تا به فرم فعال ۱،۲۵-دی هیدروکسی کوله کلسیفرول (OH)(2D3)1،25 تبدیل شود (۳). با توجه به عملکردهای ویتامین D متابولیسم استخوان، اندام‌های هدف کلسیتریول (فرم فعال ویتامین دی) عبارت‌اند از؛ روده، کلیه‌ها، بافت استخوانی و غده پاراتیروئید (۴، ۵). در روده، کلسیتریول علاوه بر جذب فسفات، بر انتقال کلسیم پراسلولی و غیرفعال نیز نقش دارد (۶، ۷). در کلیه‌ها، کلسیتریول باز جذب کلسیم و فسفات از کلیه را تحریک می‌کند. در نهایت، کلسیتریول در تنظیم فعالیت غده پاراتیروئید و

موارد مزمن مسمومیت، پوکی استخوان و تأخیر در بازسازی استخوان می‌تواند رخ دهد (۱۷).

تشخیص

شرایط تغذیه نامناسب و محل نگهداری محدود می‌تواند موجب ایجاد کمبود ویتامین D و هم‌چنین نرمی استخوان شود. چالشی که یک دامپزشک با آن مواجه است، شناسایی دقیق و علت وضعیت موجود و اصلاح شرایط است.

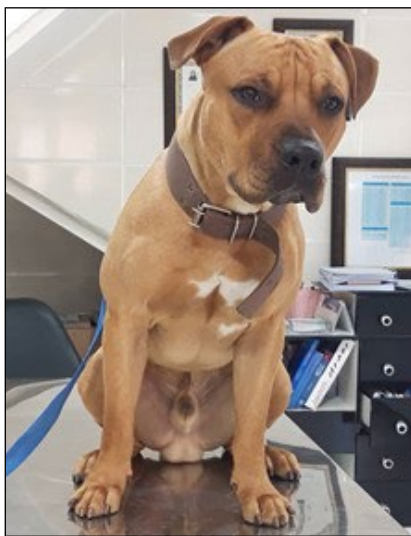
یک سگ دو ماهه نر نژاد پیتبول با تاریخچه مصرف فراوان گوشت بدون استخوان و محل نگهداری محدود و علامت نرمی و بدشکلی استخوان‌های زند زیرین، زند زیرین و قلم دست در خوزستان به کلینیک ارجاع داده شد. یافته‌های آزمایشگاهی مربوط به ویتامین D، فسفر و کلسیم این سگ به شکل زیر بود:

Test	Result	Unit	Reference Range
Ca (Calcium)	10.9	mg/dL	7.8 – 12.6
P(Phosphorus)	7.8	mg/dL	2.5 – 6.8
Vitamin D3	30.4	ng/mL	43 – 170
Lab Director:			

شکل ۱- در این نمونه میزان فسفر خون بالاتر میزان طبیعی و ویتامین D پایین‌تر از میزان طبیعی گزارش شده است. کمبود ویتامین D علت بروز بدشکلی و پوکی استخوان در این سگ نژاد پیتبول بود.

درمان

در این بیمار، ویتامین دی به مدت ۱ ماه و با دوز ۱۰ هزار واحد/کیلوگرم (تکرار هفتگی) و سپس کاهش دوز تا ۵ میلی‌گرم/کیلوگرم و کلسیم با دوز ۲۵ میلی‌گرم/کیلوگرم تا یک ماه و سپس کاهش دوز تا ۱۰ میلی‌گرم/کیلوگرم تجویز شد و جیره غذایی به شکل کاهش مصرف گوشت نیز اصلاح گردید. با توجه به ارجاع به موقع حیوان به کلینیک وضعیت بیمار بعد از مصرف دارو و اصلاح جیره غذایی بهبود یافت و علائم مربوط به بدشکلی و پوکی استخوان کاملاً اصلاح گردید.



شکل ۳- وضعیت سگ بعد از تکمیل دوره درمان

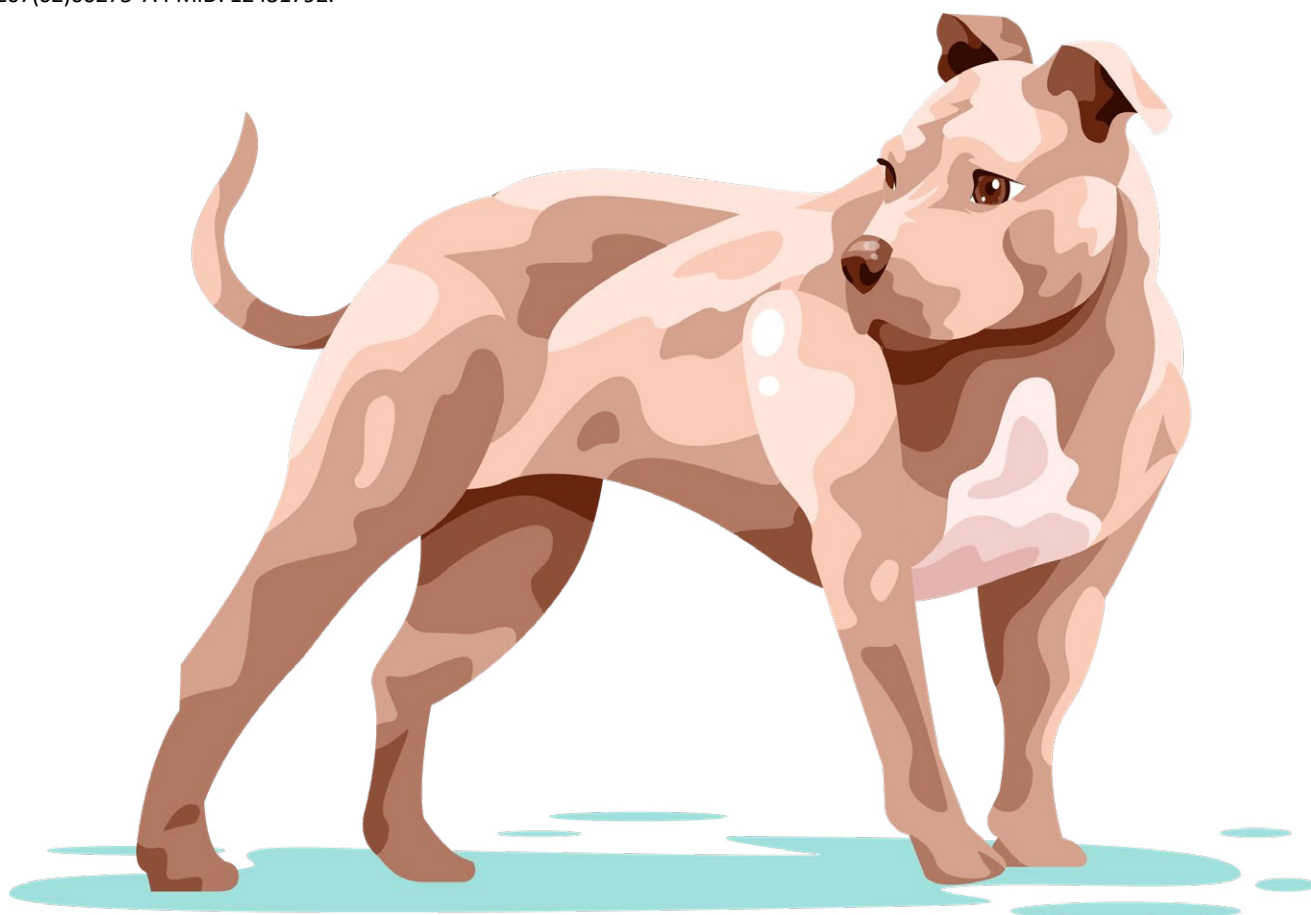


شکل ۲- وضعیت سگ سه روز پس از ارجاع اولیه

نتیجه‌گیری

پیشنهاد شده که جهت کاهش خطر کمبود ویتامین D و بیماری‌های استخوانی ناشی از آن، از غذاهای تجاری مخصوص استفاده شود. هم‌چنین می‌توان از مکمل‌های غذایی حاوی ویتامین دی و کلسیم نیز استفاده کرد. استفاده از غذاهای گوشتی به همراه مواد حاوی کلسیم مثل استخوان یا شیر بدون لاکتوز، انجام چکاب‌های دوره‌ای، محدود کردن استفاده از غذاهای خانگی تا حدود زیادی از ایجاد این عارضه جلوگیری کرده و تأثیر به سزایی در رشد و سلامتی حیوانات همدم دارد. در مورد این سگ ارجاعی با توجه به ارجاع به موقع و روند درمان صحیح، درمان با موفقیت همراه بود.

1. National Research Council (NRC). Nutrient Requirements of Dogs and Cats; National Academies Press: Washington, DC, USA, 2006; ISBN 0309086280.
2. Battault, S.; Whiting, S.J.; Peltier, S.L.; Sadrin, S.; Gerber, G.; Maixent, J.M. Vitamin D metabolism, functions and needs: From science to health claims. *Eur. J. Nutr.* 2013, 52, 429–441. (CrossRef) (PubMed)
3. Zafalon, R.V.; Risolia, L.W.; Pedrinelli, V.; Vendramini, T.H.; Rodrigues, R.B.; Amaral, A.R.; Kogika, M.M.; Brunetto, M.A. Vitamin D metabolism in dogs and cats and its relation to diseases not associated with bone metabolism. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.* 2020, 104, 322–342. (CrossRef) (PubMed)
4. Dusso, A.S.; Brown, A.J.; Slatopolsky, E. Vitamin D. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2005, 289, F8–F28. (CrossRef)
5. Dittmer, K.E.; Thompson, K.G. Vitamin D metabolism and rickets in domestic animals: A review. *Vet. Pathol.* 2011, 48, 389–407. (CrossRef)
6. Wasserman, R.H. Vitamin D and intestinal absorption of calcium: A view and overview. In *Vitamin D*; Feldman, J.W.P.D., Glorieux, F., Eds.; Academic Press: San Diego, CA, USA, 2005; p. 411. ISBN 9780080543642.
7. Fujita, H.; Sugimoto, K.; Inatomi, S.; Maeda, T.; Osanai, M.; Uchiyama, Y.; Yamamoto, Y.; Wada, T.; Kojima, T.; Yokozaki, H.; et al. Tight junction proteins claudin-2 and -12 are critical for vitamin D dependent Ca²⁺ absorption between enterocytes. *Mol. Biol. Cell.* 2008, 19, 1912–1921. (CrossRef)
8. St-Arnaud, R. The direct role of vitamin D on bone homeostasis. *Arch. Biochem. Biophys.* 2008, 473, 225–230. (CrossRef)
9. Li, Y.C.; Pirro, A.E.; Amling, M.; Dellling, G.; Baron, R.; Bronson, R.; Demay, M.B. Targeted ablation of the vitamin D receptor: An animal model of vitamin D-dependent rickets type II with alopecia. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1997, 94, 9831–9835. (CrossRef)
10. Baldock, P.A.; Thomas, G.P.; Hodge, J.M.; Baker, S.U.; Dressel, U.; O'Loughlin, P.D.; Nicholson, G.C.; Briffa, K.H.; Eisman, J.A.; Gardiner, E.M. Vitamin D action and regulation of bone remodeling: Suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. *J. Bone Miner. Res.* 2006, 21, 1618–1626. (CrossRef)
11. Fretz, J.A.; Zella, L.A.; Kim, S.; Shevde, N.K.; Pike, J.W. 1, 25-Dihydroxyvitamin D₃ regulates the expression of low-density lipoprotein receptor-related protein 5 via deoxyribonucleic acid sequence elements located downstream of the start site of transcription. *J. Mol. Endocrinol.* 2006, 20, 2215–2230. (CrossRef) (PubMed)
12. Anderson, P.H.; Atkins, G.J. The skeleton as an intracrine organ for vitamin D metabolism. *Mol. Asp. Med.* 2008, 29, 397–406. (CrossRef) (PubMed)
13. Hurst, E.A.; Homer, N.Z.; Mellanby, R.J. Vitamin D metabolism and profiling in veterinary species. *Metabolites* 2020, 10, 371. (CrossRef)
14. Uhl, E.W. The pathology of vitamin D deficiency in domesticated animals: An evolutionary and comparative overview. *Int. J. Paleopathol.* 2018, 23, 100–109. (CrossRef) (PubMed)
15. Laflamme, D.P.; Abood, S.K.; Fascetti, A.J.; Fleeman, L.M.; Freeman, L.M.; Michel, K.E.; Bauer, C.; Kemp, B.L.E.; Van Doren, J.R.; Willoughby, K.N. Pet feeding practices of dog and cat owners in the United States and Australia. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 2018, 232, 687–694. (CrossRef)
16. Verbrugghe, A.D.; Paepe, L.; Verhaert, J.; Saunders, J.; Fritz, J.; Janssens, G.P.J.; Hesta, M. Metabolic bone disease and hyperparathyroidism in an adult dog fed an unbalanced homemade diet. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 2011, 80, 61–68.
17. Hazewinkel HA, Tryfonidou MA. Vitamin D₃ metabolism in dogs. *Mol Cell Endocrinol.* 2002 Nov 29;197(1-2):23-33. doi: 10.1016/s0303-7207(02)00275-7. PMID: 12431792.



تعیین مرحله سیکل استروس سگ به وسیله گسترش واژینال (بخش اول)

ابوالفضلبرزگر بفروئی^۱

استاد راهنما: دکتر سعد گورانی نژاد^۲

دانشجوی تخصص مامایی و بیماری های تولید مثل دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۱

گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز-ایران^۲

Email: 950barzegar@gmail.com

چکیده

روش گسترش واژینال، روشی آسان بر پایه حساسیت اپیتلیوم واژن به تحریک ایجاد شده توسط هورمون های جنسی است که به صورت تغییر در اندازه (تعداد لایه های سلولی) و ضخامت (تعداد ردیف سلول ها در هر لایه) سلول های اپیتلیوم واژن مشخص می شود. در پستانداران، فعالیت استروژنیک سبب شاخی شدن و ورقه ورقه شدن اپیتلیوم واژن می شود. از سیتولوژی واژن در تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس و تعیین شرایط غیر طبیعی سیستم تولید مثلی قبل و بعد از زایمان استفاده می شود. این تغییرات به وسیله درصد و انواع سلول های موجود در اپیتلیوم واژن تعیین می شود که به سیکل تخمدانی و غلظت های استروژن در سرم وابسته است؛ بنابراین سیتولوژی واژن همیشه انعکاسی از فعالیت استروژنیک در جنس ماده است. از روش سیتولوژی واژن به طور قابل اطمینانی می توان برای تشخیص مرحله سیکل استروس و زمان بهینه برای جفت گیری یا تلقیح مصنوعی در گونه های مختلف استفاده نمود.

کلمات کلیدی: گسترش واژینال، سگ، سیکل استروس، سیتولوژی

مقدمه

ترشحات آن مشاهده شده و نوک پنبه ای سوآب به آرامی روی اسلاید چرخانده می شود. برای رنگ آمیزی آن می توان از رنگ آمیزی های

روش سیتولوژی واژینال به عنوان یک نشان گر حساس در تعیین مرحله سیکل استروس در بسیاری از گونه ها در نظر گرفته می شود که بازتابی از تعادل بین آثار استروژن ها و پروژسترون است. از سیتولوژی واژن در تشخیص مراحل مختلف سیکل استروس و تعیین شرایط غیر طبیعی سیستم تولید مثلی قبل و بعد از زایمان استفاده می شود. سلول های اپیتلیال واژن بر طبق محل قرارگیری آن ها در مخاط واژن به انواع سلول های بازال، پارابازال، بینابینی (اینترمیدیت) و سوپرفیشیال (سطحی) طبقه بندی می شوند. در برخی از گونه ها همانند سگ، گربه، موش سوری و خرگوش تغییرات ایجاد شده در واژن تحت تأثیر مرحله سیکل استروس نسبتاً یک پارچه است؛ بنابراین می توان روش سیتولوژی واژن را تشخیص مرحله سیکل استروس و زمان بهینه برای جفت گیری یا تلقیح مصنوعی به طور قابل اعتمادی در گونه های مذکور به کار گرفت. در نگاشته حاضر ضمن معرفی انواع سلول های موجود در گسترش واژینال به تعیین مراحل سیکل استروس به وسیله این تکنیک نیز پرداخته شده است.



شکل ۲- سوآب را در جهت قدامی- پشتی به طرف ستون مهره ها حرکت داده می شود. همواره باید به این نکته توجه نمود که باید از برخورد سوآب با ناحیه گودی کلیتوریس اجتناب کرد.



شکل ۱- لب های کلیتوریس با ملایمت از هم جدا می شود و امکان ورود سوآب فراهم می شود.

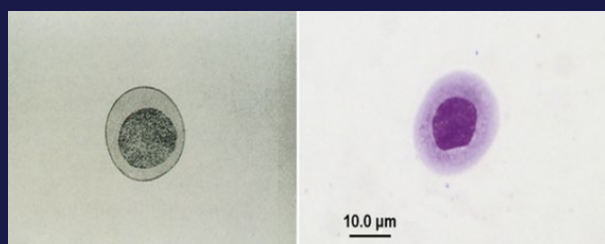
تری کروم، دیف کوئیک، متیلن بلو یا رایت گیسمای اصلاح شده استفاده کرد.

۲- انواع سلول های موجود در تست پاپ اسمیر

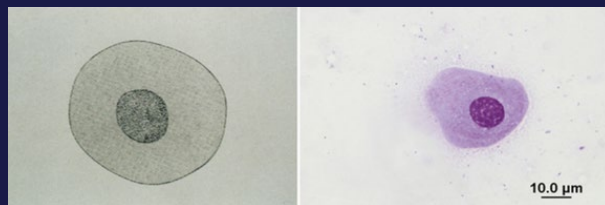
برای طبقه بندی انواع سلول ها می توان آن ها را به سلول های کراتینه در مقابل غیر کراتینه یا شاخی شده در برابر غیر شاخی تقسیم نمود که سلول های شاخی شده یا کراتینه بازتابی از فعالیت استروژن ها در گردش خون هستند.

۱- تکنیک اخذ سیتولوژی واژن

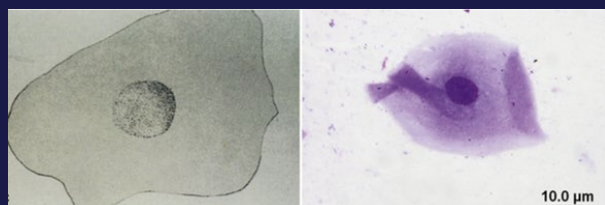
روش ترجیحی برای حصول سیتولوژی واژینال خوب، به کارگیری یک سوآب پنبه ای در واژن قدامی سگ ماده است. بعد از تمیز کردن، ضد عفونی و رعایت شرایط آسپسی در ناحیه پرینه و ولوا، لب های ولوا به آرامی به وسیله انگشتان یک دست از یک دیگر جدا شده و با دست دیگر سوآب پنبه ای به ناحیه پشتی ولوا هدایت می شود (شکل ۱). باید از برخورد سوآب با ناحیه گودی کلیتوریس اجتناب کرد و سوآب را در جهت قدامی- پشتی (craniodorsal) به طرف ستون مهره ها حرکت داد (شکل ۲). سپس سوآب به آرامی داخل واژن قدامی چرخانده شده و با ملایمت آن را خارج می شود. پس از خروج سوآب از واژن، رنگ و نوع



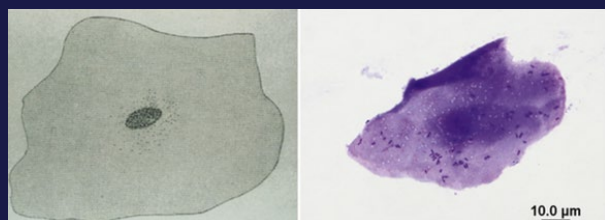
شکل ۳- سلول پارابازال در گسترش واژینال.



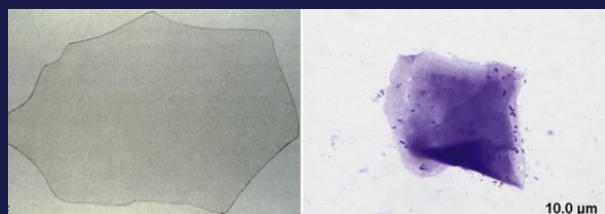
شکل ۴- سلول اینترمیدیت کوچک در گسترش واژینال



شکل ۵- سلول اینترمیدیت بزرگ در گسترش واژینال



شکل ۶- سلول های سوپرفیشیال با هسته پیکنوزه (به باکتری ها توجه شود).



شکل ۷- سلول بدون هسته در گسترش واژینال.

گلبول های قرمز ناشی از نشت خون از بستر مویرگی است که منشأ رحمی دارد و در مرحله پرواستروس به صورت تیپیک دیده می شود.

۳- تعیین سیکل استروس و مراحل آن به وسیله گسترش واژینال در سگ
همان طور که پیش تر نیز عنوان گردید، تغییرات سلولی ایجاد شده در سایتولوژی واژن در سیکل استروس بازتابی از تغییرات غلظت خونی

۱-۲ سلول های بازال
سلول های بازال، کوچک و کروی هستند که نسبت بالایی از هسته به سیتوپلاسم دارند و به صورت نادر در گسترش واژینال مشاهده می شوند.

۲-۲ سلول های پارابازال
سلول های پارابازال، کوچک، کروی و دارای مقدار کمی سیتوپلاسم هستند که غالباً اندازه و شکل یکسانی دارند (شکل ۳). تعداد زیادی از این سلول ها ممکن است در زمانی که از یک سگ ماده قبل از بلوغ گسترش واژینال گرفته شود؛ مشاهده گردد. این سلول ها دارای هسته و زیگولی بزرگ و سیتوپلاسم کم هستند که به خوبی رنگ می گیرد (شکل ۳).

۳-۲ سلول های اینترمیدیت
سلول های اینترمیدیت دارای اندازه های متفاوتی هستند که به میزان سیتوپلاسم وابسته است. اگرچه هسته سلول های اینترمیدیت کوچک و بزرگ اندازه های مشابه هسته سلول های پارابازال دارد اما سلول های اینترمیدیت تقریباً ۲ برابر سلول های پارابازال است. این سلول ها بیضوی تا کروی و دارای لبه های نامنظم هستند که هسته ای کوچک تر و سیتوپلاسمی بزرگ تر از سلول های پارابازال دارند و به سلول های اینترمیدیت کوچک و بزرگ تقسیم می شوند. در سلول های اینترمیدیت بزرگ نسبت سیتوپلاسم به هسته بیش تر از این نسبت در سلول های اینترمیدیت کوچک است (اشکال ۴ و ۵).

۴-۲ سلول های سوپرفیشیال
سلول های سوپرفیشیال بزرگ ترین سلول های اپیتلیومی ای هستند که در اسمیرهای واژینال مشاهده می شوند. این سلول ها زنده نیستند و هسته آن ها پیکنوزه است و غالباً تا مرحله بدون هسته نیز پیش می رود (شکل ۶). پروسه دژنراسیون سلول های اپیتلیومی سنگفرشی چند لایه سبب بزرگ و پهن شدن این سلول ها می شود که تحت عنوان سلول های شاخی شده از آن ها یاد می شود. سلول های سوپرفیشیال با هسته های کوچک پیکنوزه و سلول های اپیتلیومی سوپرفیشیال بدون هسته دارای اهمیت یکسانی در گسترش واژینال هستند.

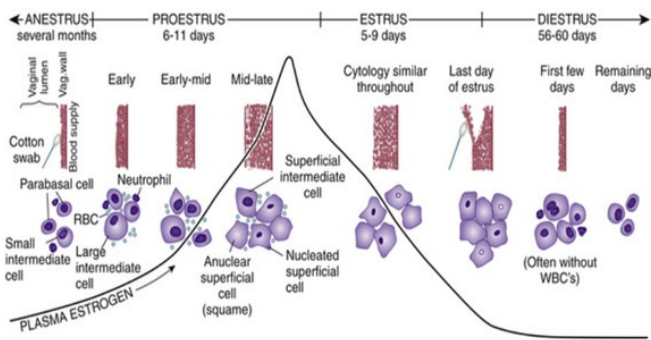
۵-۲ سلول های بدون هسته
سلول های بدون هسته، سلول های واژینال نامنظم، بدون هسته و کوچک تر از سلول های سوپرفیشیال هستند. از این سلول ها تحت عنوان سلول های کاملاً شاخی شده یاد می شود (شکل ۷).

۶-۲ سلول های متاستروس یا سلول های متاستروم
سلول های متاستروم، سلول های واژینال اینترمیدیت بزرگی هستند که به نظر می رسد یک یا تعداد بیشتری نوتروفیل در سیتوپلاسم خویش دارند. این سلول ها به صورت تیپیک در اوایل مرحله دای استروس مشاهده می شوند (در واژینیت هم مشاهده می شوند) (شکل ۸).

۷-۲ سلول های کف آلود
سلول های کف آلود، نوعی سلول های پارابازال و اینترمیدیت با سیتوپلاسم واکوئله هستند که ممکن است با مرحله دای استروس یا آنستروس مرتبط باشند. در زمان دژنره شدن سلول، ممکن است سیتوپلاسم آن حاوی واکوئل های کوچکی شود (شکل ۹).

۸-۲ نوتروفیل ها
نوتروفیل ها نوعی سلول های التهابی هستند که در حضور آن ها سایتولوژی واژن بسته به مرحله سیکل استروس می تواند طبیعی یا غیر طبیعی باشد.

۹-۲ گلبول های قرمز



شکل ۱۰- شکل شماتیکی که تغییرات سایتولوژی وابسته به سطوح پلاسمایی استروژن‌ها را نشان می‌دهد که با افزایش استروژن، سلول‌های اپیتلیومی به سمت شاخی شدن پیش می‌روند (اعداد حاکی از میانگین مدت زمان سیکل استروس در سگ هستند).

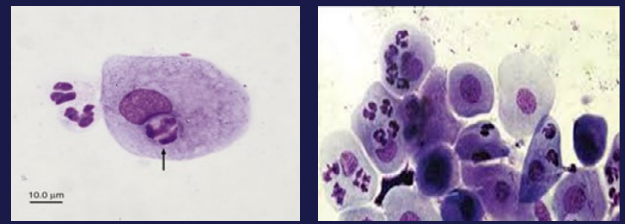
تقریباً تمامی این سلول‌های سوپرفیشیال حاوی هسته‌های کوچک پیکنوزه هستند (شکل ۱۳). با این حال، تست پاپ اسمیر برخی از سگ‌ها در این مرحله از سیکل استروس حاوی نزدیک به ۱۰۰ سلول‌های بدون هسته است اما در برخی دیگر از سگ‌ها در این مرحله هنوز سلول‌های اینترمدیت حضور دارند. حداکثر شاخی شدن متعاقب پیک استروژن سرم در اواخر پرواستروس است که تا مرحله استروس نیز ادامه می‌یابد. تخمک‌گذاری در حدود ۴۰ تا ۴۸ ساعت بعد از غلیان LH به صورت خود به خودی حدوداً در اوایل استروس صورت می‌گیرد. تخمک آزادشده به صورت نابالغ است و با انجام تقسیم میوز ۱ در لوله رحمی و دفع اوایل جسم قطبی به تخمک ثانویه تبدیل می‌شود که حدود ۵۰ تا ۶۰ ساعت به طول می‌انجامد و در حدود ۲ تا ۳ روز قدرت بارور شدن را دارا است.

۳-۳- مرحله دای استروس

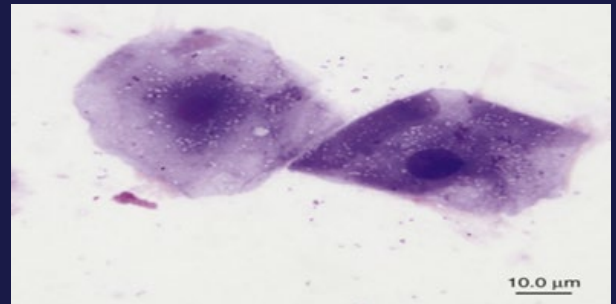
سگ فاقد مرحله متاستروس است زیرا مرحله‌ای که با تخمک‌گذاری، تشکیل جسم زرد و شروع تولید پروژسترون آغاز می‌شود و با به حداکثر رسیدن فعالیت جسم زرد خاتمه می‌یابد، متاستروس نام دارد؛ بنابراین در سگ‌ها متاستروس در مرحله استروس اتفاق می‌افتد و نمی‌توان زمان اختصاصی و مشخصی برای این مرحله در سگ در نظر گرفت. شروع مرحله دای-استروس به وسیله کاهش ناگهانی تعداد سلول‌های سوپرفیشیال و تظاهر دوباره سلول‌های اینترمدیت و پارابازال مشخص می‌شود. غالباً تغییرات پروفایل سلولی در یک روز و به سرعت اتفاق می‌افتد به طوری که تقریباً از ۱۰۰٪ سلول‌های سوپرفیشیال در مرحله استروس، این سلول‌ها به کم‌تر از ۲۰٪ در اوایل مرحله دای استروس می‌رسند (شکل ۱۴). این مرحله از سیکل استروس، دوره حیات جسم زرد است که پروژسترون ترشح می‌کند. مرحله دای استروس به طور میانگین در حدود ۵۶ تا ۶۰ روز به طول می‌انجامد.

۳-۴- آنستروس

مرحله آنستروس در سگ، جزئی از سیکل استروس در این حیوان است که چندین ماه به طول می‌انجامد و در بین نژادهای مختلف سگ متفاوت است. سلول‌های غالب گسترش واژینال در این مرحله از سیکل استروس، سلول‌های پارابازال و اینترمدیت هستند. سلول‌های سوپرفیشیال یا حضور ندارد یا به میزان بسیار کم در گسترش واژینال مرحله آنستروس مشاهده می‌شوند (شکل ۱۵). شواهد حاکی از حضور یا عدم حضور نوتروفیل‌ها در گسترش واژینال مرحله آنستروس است.



شکل ۸- وجود نوتروفیل (نوک پیکان) در سیتوپلاسم یک سلول اپیتلیومی که از آن تحت عنوان سلول متاستروس یا متاستروس یاد می‌شود.



شکل ۹- سلول‌های سوپرفیشیال دژره یا سیتوپلاسم واکوئل در گسترش واژینال سگ.

استروژن است. سطوح استروژن کمی قبل و در طول پرواستروس افزایش می‌یابد و قبل از غلیان پیش تخمک‌گذار LH کاهش می‌یابد. افزایش سطوح استروژن سبب القای شاخی شدن سلول‌ها در گسترش واژینال می‌شود (شکل ۱۰).

۳-۱- مرحله پرواستروس

با بالغ شدن فولیکول‌های تخمدانی و افزایش غلظت‌های سرمی استروژن (استرادیول)، موسم پرولیفراسیون اپیتلیوم واژن فرا می‌رسد. علاوه بر این، گلبول‌های قرمز نیز از مویرگ‌های رحمی عبور می‌کنند. این تغییرات منجر به ایجاد ظاهر تیپیک سایتولوژی واژن در دوره پرواستروس می‌شود (شکل ۱۱). نمونه‌های سایتولوژی واژن در اوایل یا اواسط پرواستروس به وسیله انواع سلول‌های اپیتلیومی مشخص می‌شوند که شامل سلول‌های پارابازال، اینترمدیت کوچک و بزرگ، سلول‌های سوپرفیشیال همراه با گلبول‌های قرمز و یا نوتروفیل‌ها هستند (شکل ۱۲). با پیشرفت مرحله پرواستروس، اپیتلیوم واژن ضخیم‌تر می‌شود. بعد از پیک سرمی استروژن در اواخر پرواستروس، بیش از ۸۰٪ از سلول‌های اپیتلیومی شاخی شده و نوتروفیل‌ها در گسترش واژینال مشاهده نمی‌شوند که شاخص ورود به مرحله استروس است. ارزیابی گسترش‌های واژینال در اوایل تا اواخر پرواستروس تغییری تدریجی از سلول‌های اینترمدیت و پارابازال به سمت سلول‌های سوپرفیشیال را هویدا می‌کند. میانگین مرحله پرواستروس در سگ‌های بالغ، ۹ روز است؛ اگرچه محدوده‌ای از ۲ تا ۱۷ روز در سگ‌های طبیعی مشاهده شده است. مرحله پرواستروس با شروع رفتار جفت‌گیری پایان می‌پذیرد و مرحله استروس شروع می‌شود که این زمان در حدود ۵/۰ تا ۳ روز بعد از حداکثر میزان استروژن و ۱ روز بعد از غلیان پیش تخمک‌گذاری LH است.

۳-۲- مرحله استروس

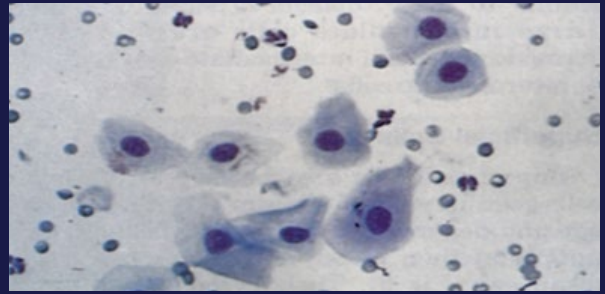
جمعیت غالب سلول‌های اپیتلیومی (۸۰٪ تا ۹۰٪) در مرحله استروس را سلول‌های سوپرفیشیال تشکیل می‌دهند. به طور تیپیک

نتیجه‌گیری

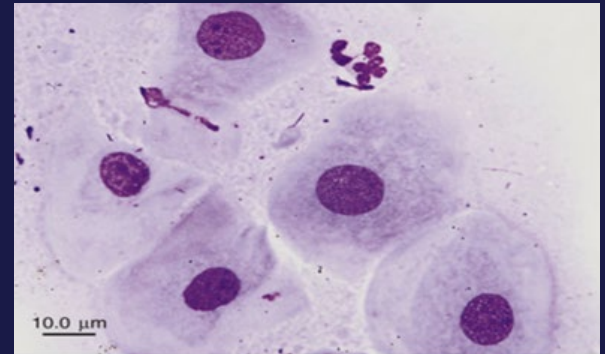
روش گسترش واژینال، روشی آسان بر پایه حساسیت اپیتلیوم واژن به تحرک ایجاد شده توسط هورمون‌های جنسی است که به صورت تغییر در اندازه (تعداد لایه‌های سلولی) و ضخامت (تعداد ردیف سلول‌ها در هر لایه) سلول‌های اپیتلیوم واژن مشخص می‌شود. در پستانداران، فعالیت استروژنیک سبب شاخی شدن و ورقه‌ورقه شدن اپیتلیوم واژن می‌شود. این تغییرات به وسیله درصد و انواع سلول‌های موجود در اپیتلیوم واژن تعیین می‌شود که به سیکل تخمدانی و غلظت‌های استروژن در سرم وابسته است. استروژن‌ها هورمون‌هایی هستند که به وسیله فولیکول‌های غالب ترشح می‌شوند و مسبب ضخیم شدن مخاط واژن، شاخی شدن سلول‌های اپیتلیومی و خروج گلبول‌های قرمز از بستر مویرگی هستند؛ بنابراین سایتولوژی واژن همیشه انعکاسی از فعالیت استروژنیک در جنس ماده است. در نگاشته حاضر ضمن معرفی انواع سلول‌های موجود در گسترش واژینال به تعیین مراحل سیکل استروس به وسیله این تکنیک نیز پرداخته شده است. بنابر مطالب مذکور، با روش سایتولوژی واژن می‌توان مراحل سیکل استروس سگ ماده را به خوبی تعیین نمود.

منابع

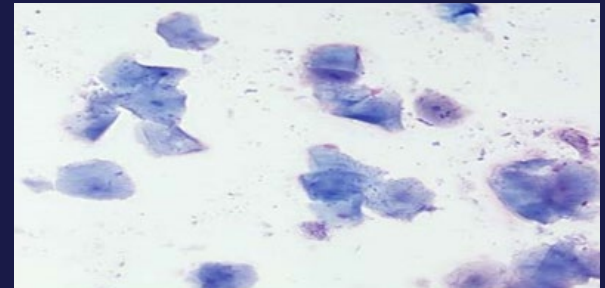
- 1- Feldman EC, Nelson RW: Ovarian Cycle and Vaginal Cytology. In: Feldman EC, Nelson RW, editors: Canine and feline endocrinology and reproduction, ed 3, Philadelphia, PA, 2004, Saunders, p. 755.
- 2- Papanicolaou GN (1954). Atlas of exfoliative cytology, Suppl- I, 1956, suppl-II, 1960, Cambridge Mass; commonwealth fund by Harvard University Press.
- 3- Rao RP, Sreeraman PK, Rammohan Rao A (1979). A note in utility of vaginal cytology in detecting oestrus cycle and certain reproductive disorders in bovines. Indian J. Anim. Sci. 49: 391-395.
- 4- Mayor P, Galvez H, Guimaraes DA, Lopez-G F, Lopez M (2005). Serum estradiol-17 α , vaginal cytology and vulval appearance as predictors of estrus cyclicity in the female collared peccary (*Tayassu tajacu*) from the eastern Amazon region. Anim. Reprod. Sci. 97: 165-174. <http://dx.doi.org/10.1016/j.anireprosci.2005.12.017>.
- 5- Wachtel EG (1969). Exfoliative cytology in Gynaecological practice. Second Edition.
- 6- Olsan PW, Thrall MA, Wykas PM, Nett TM, Sawyer HP (1984). Vaginal cytology part I A useful tool for staging canine oestrus cycle Ed. Compend. Cont. Ed. 6: 288-298.
- 7- Linde C, Karlsson J (1984). The correlation between the cytology of the vaginal smear and the time of ovulation in the bitch. J. small Animal Practice. 24: 77. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1748-5827.1984.tb00449.x>.
- 8- Blendiger K (2013). Physiology and pathology of oestrous cycle of the bitch. 56 Congresso Internazionale Multisala. Published in IVIS with the permission of the Editor. Pp. 73-7.
- 9- Reddy KCS, Raju KGS, Rao KS, Rao KBR (2011). Vaginal cytology, vaginoscopy and progesterone profile: breeding tools in bitches. Iraqi J. Vet. Sci. 25(2): 51-54.
- 10- Kusritz MVR (2012). Practical matters: Vaginal cytology for Gotwals S. Timing the fertile period the bitch. A Canine Reproduction Seminar. 19-30.
- 11- Feldman EC, Nelson RW (1996). Canine and feline endocrinology and reproduction W.B. Saunders Company. Philadelphia. 2 nd Edn. Pp. 537-546.



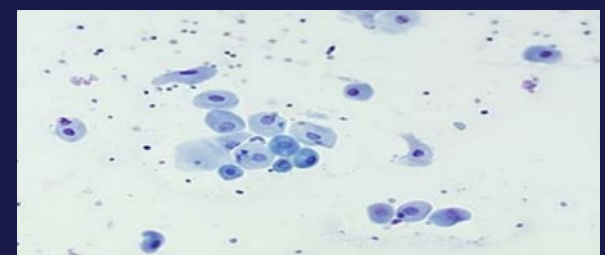
شکل ۱۱- گسترش واژینال مرحله پرواستروس از یک قلاده سگ. سلول‌های اینترمدیت در این گسترش غالب هستند. به گلبول‌های قرمز و تعداد کمی از نوتروفیل‌ها توجه شود (رنگ‌آمیزی رایت گیسما با بزرگ‌نمایی ۱۰۰).



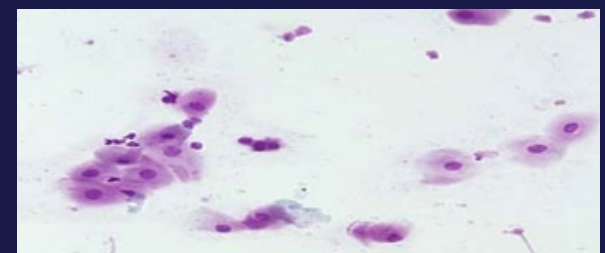
شکل ۱۲- سلول‌های اینترمدیت و نوتروفیل‌ها گسترش واژینال یک قلاده سگ در مرحله پرواستروس (رنگ‌آمیزی رایت گیسما با بزرگ‌نمایی ۱۰۰).



شکل ۱۳- گسترش واژینال تهیه شده از یک قلاده سگ در مرحله استروس. به سلول‌های اپیتلیومی سوپرفیشیال با هسته پیکنوزه دقت شود (رنگ-آمیزی رایت گیسما).



شکل ۱۴- گسترش واژینال تهیه شده از یک قلاده سگ در مرحله دای استروس (رنگ‌آمیزی رایت گیسما).



شکل ۱۵- گسترش واژینال تهیه شده از یک قلاده سگ در مرحله آنستروس (رنگ‌آمیزی رایت گیسما).

طبقه‌بندی و رویکرد تشخیصی به کم‌خونی

فرشاد شاهخواه^۱

استاد راهنما؛ دکتر محمد راضی جلالی^۲

دانشجوی دکتری تخصصی کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران^۱

گروه علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز- ایران^۲

Email: Shahkhahf@gmail.com

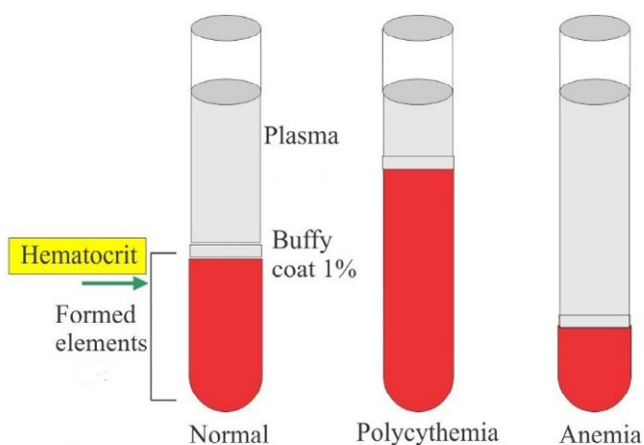
چکیده

کم‌خونی سندرم کاهش میزان گلبول‌های قرمز و ظرفیت آن‌ها جهت انتقال اکسیژن به بافت‌ها است که اندازه‌گیری حجم فشرده سلولی یا هماتوکریت (PCV) بهترین راه برای تشخیص آن قلمداد می‌شود. کم‌خونی تظاهر یک بیماری زمینه‌ای است که باعث افزایش تخریب گلبول‌های قرمز، از دست دادن گلبول‌های قرمز از طریق خون‌ریزی، کاهش تولید گلبول‌های قرمز یا ترکیبی از این وقایع می‌شود. طبقه‌بندی کم‌خونی با توجه به اندازه گلبول‌های قرمز و پاسخ مغز استخوان برای اهداف بالینی بسیار مفید و مهم است. قابل ذکر است که داده‌های ضروری آزمایشگاهی شامل PCV، MCV و شمارش رتیکولوسیت‌ها است و به‌طور سنتی، کم‌خونی از نظر حجم گلبول قرمز (به‌عنوان مثال، میانگین حجم کورپوسکولار یا MCV) و مقدار هموگلوبین درون گلبول‌های قرمز (به‌عنوان مثال، میانگین غلظت هموگلوبین کورپوسکولار (MCHC)) طبقه‌بندی می‌شود. در نهایت قابل ذکر است که کم‌خونی بر اساس تعداد گلبول‌های قرمز نابالغ در گردش خون بر اساس پاسخ مغز استخوان به دو شکل قابل جبران و غیر قابل جبران طبقه‌بندی می‌شود.

کلمات کلیدی: کم‌خونی، گلبول قرمز، اکسیژن‌رسانی

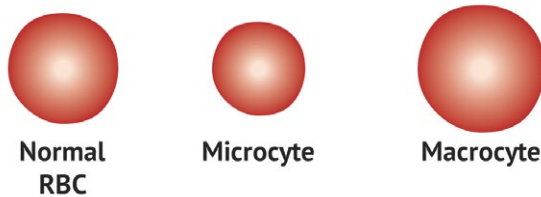
طبقه‌بندی کم‌خونی

از سه طرح کلی برای طبقه‌بندی کم‌خونی استفاده می‌شود؛ اندازه گلبول‌های قرمز و غلظت هموگلوبین، پاسخ مغز استخوان و طبقه‌بندی توسط مکانیسم‌های پاتوفیزیولوژیک (شکل ۱). طبقه‌بندی با توجه به اندازه گلبول‌های قرمز و پاسخ مغز استخوان برای اهداف بالینی بسیار مفیدتر است زیرا ابزاری هستند که به دامپزشک اجازه می‌دهند مسیر ذهنی مشخصی را برای تشخیص افتراقی دنبال کند. طبقه‌بندی پاتوفیزیولوژیک صرفاً یک چارچوب مفهومی برای تشخیص اکادمیک اختلالات ایجادکننده کم‌خونی را فراهم می‌کند.



شکل ۱- نمای شماتیک از حالات مختلف قابل مشاهده در سنجش PCV برای تعیین کم‌خونی

کم‌خونی به معنای کاهش حجم توده گلبول‌های قرمز خون (RBC) است که منجر به کاهش اکسیژن‌رسانی بافت‌ها می‌شود. توده RBC با اندازه‌گیری PCV (هماتوکریت)، مقدار هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز در خون تعیین می‌شود. از این سه فاکتور مذکور، PCV معمولاً به‌عنوان مقدار اصلی تفسیر در آمریکای شمالی استفاده می‌شود. کم‌خونی تظاهر یک بیماری زمینه‌ای است که باعث افزایش تخریب گلبول‌های قرمز، از دست دادن گلبول‌های قرمز از طریق خون‌ریزی، کاهش تولید گلبول‌های قرمز یا ترکیبی از این وقایع می‌شود. علائم بالینی معمولاً به کاهش اکسیژن یا مکانیسم‌های جبرانی مرتبط مربوط می‌شود و ممکن است شامل رنگ پریدگی غشاهای مخاطی، بی‌حالی، کاهش تحمل ورزش، افزایش تعداد تنفس یا دیسپنه، افزایش ضربان و سوزش قلبی ناشی از افزایش فشار خون باشد. اگر حیوان مبتلا به بیماری سیستمیک اساسی باشد علائم بالینی غیر اختصاصی مانند کاهش وزن، بی‌اشتهایی، تب یا لنفادنوپاتی ممکن است مشاهده شود. علائم بالینی اختصاصی که با تخریب خون همراه هستند ممکن است شامل اسپلنومگالی، زردی و ادرار پیگمنته تیره ناشی از هموگلوبینوری یا بیلی‌روبینوری باشد. شدت علائم بالینی معمولاً به مدت زمان شروع فرآیند مربوط می‌شود زیرا حیوانات با شروع آهسته فرآیند خون‌ریزی مزمن یا اختلال عملکرد مغز استخوان، معمولاً تا حدی هیپوکسمی را جبران می‌کنند. مکانیسم‌های جبرانی شامل افزایش غلظت ۲،۳-دی فسفوگلیسرات در گلبول‌های قرمز است که میل هموگلوبین به اکسیژن را کاهش می‌دهد و بنابراین اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها و برون‌ده قلب را افزایش می‌دهد و همچنین به توزیع مجدد جریان خون به اندام‌های حیاتی کمک می‌کند.



شکل ۲- نمای شماتیک از اندازه‌های مختلف RBC ها

پاسخ مغز استخوان

طبقه‌بندی کم‌خونی بر اساس پاسخ مغز استخوان از نظر تشخیصی بسیار مفید است. کم‌خونی بر اساس تعداد گلبول‌های قرمز نابالغ در گردش به دو فرم قابل جبران و غیر قابل جبران طبقه‌بندی می‌شود. آزادسازی زودرس گلبول‌های قرمز نابالغ یک پاسخ طبیعی مغز استخوان به افزایش اریتروپوئز است که در درجه اول توسط بافت کلیه و به‌طور ثانویه به هیپوکسی ایجاد می‌شود. در این حالت تعداد زیادی از گلبول‌های قرمز نابالغ پس از هموراژ یا همولیز در گردش خون آزاد می‌شوند که نشان‌دهنده کم‌خونی قابل جبران است. افزایش غلظت گلبول‌های قرمز نابالغ معمولاً طی ۴-۲ روز پس از بروز هموراژ یا همولیز دیده می‌شود. کمبود گلبول‌های قرمز نابالغ در گردش خون در مواجهه با کم‌خونی، نشان‌دهنده کم‌خونی غیر قابل جبران است و باید به‌عنوان شواهدی از عدم عملکرد مغز استخوان در نظر گرفته شود. گلبول‌های قرمز نابالغ که با استفاده از اسلاید خون رنگ‌آمیزی شده با رنگ رایت مشاهده می‌شوند، پلی‌کروماتوفیل هستند.

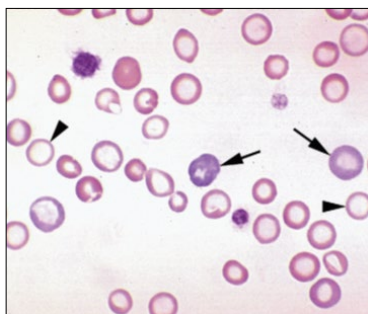
طبقه‌بندی بر اساس پاسخ پاتوفیزیولوژیک

طبقه‌بندی کم‌خونی بر اساس پاسخ پاتوفیزیولوژیک در اصل یک دسته‌بندی بر اساس اختلال زمینه‌ای است. کم‌خونی غیر قابل جبران ناشی از کاهش یا اختلال در روند اریتروپوئز است. کاهش تولید گلبول قرمز معمولاً بر اساس این‌که آیا تولید نوتروفیل و پلاکت نیز کاهش یافته است (به عنوان مثال کم‌خونی آپلاستیک) و یا این‌که آیا فقط تولید RBC کاهش یافته است (یعنی هیپوپلازی) یا کاملاً وجود ندارد (به عنوان مثال آپلازی) طبقه‌بندی می‌شود. علاوه بر این، اختلال در تولید گلبول‌های قرمز ممکن است به‌دلیل اختلال درونی در مغز استخوان (به‌عنوان مثال عوامل اولیه) مانند میلوپریوز، میلودیسپلازی یا اختلال میلوپرولیفراتیو ایجاد شود و یا ممکن است ناشی از یک عامل اثرگذار خارجی (یعنی عوامل ثانویه) باشد. برخی اختلالات ثانویه شامل بیماری مزمن کلیوی، برخی از اختلالات غدد درون ریز، بیماری‌های التهابی عوامل عفونی مانند گونه‌های ارلشیا، ویروس کم‌خونی عفونی اسبان و ویروس لوسمی گربه‌ها، تخریب ایمونولوژیک پیش‌سازهای گلبول قرمز و آسیب ناشی از دارو یا مواد شیمیایی هستند. کم‌خونی قابل جبران در اثر هموراژ یا همولیز ایجاد می‌شود. علل از دست‌دادن خون ممکن است خارجی یا داخلی و حاد یا مزمن باشد. علل از دست‌دادن خون حاد شامل تروما، ضایعات خون‌ریزی‌دهنده (به عنوان مثال، تومورها یا زخم‌های بزرگ) و اختلالات خون‌ریزی‌دهنده (به عنوان مثال ترومبوسیتوپنی یا کوagulopاتی‌های ارثی یا اکتسابی مانند مسمومیت با وارفارین یا انعقاد داخل عروقی منتشر) است. دلایل عمده از دست‌دادن مزمن خون شامل ضایعات خون‌ریزی‌دهنده به‌ویژه در دستگاه گوارش و انگل‌های دستگاه گوارش یا خارجی است. تخریب گلبول‌های قرمز (همانند همولیز)

به طور سنتی، کم‌خونی از نظر حجم گلبول قرمز (به عنوان مثال، میانگین حجم کورپوسکولار یا MCV و مقدار هموگلوبین درون گلبول‌های قرمز (به عنوان مثال، میانگین غلظت هموگلوبین کورپوسکولار (MCHC)) طبقه‌بندی می‌شود. کم‌خونی میکروسیتی به حالتی گفته می‌شود که گلبول‌های قرمز کوچک هستند اما وقتی حجم آن‌ها طبیعی باشد، نرموسیت و وقتی بزرگ‌تر از بازه مرجع باشند، ماکروسیتی نامیده می‌شوند (شکل ۲). علاوه بر این، هنگامی که گلبول‌ها دارای غلظت هموگلوبین کمتر از حد نرمال باشند هاپوکرومیک و هنگامی که غلظت هموگلوبین نرمال داشته باشند به‌عنوان نرموکرومیک شناخته می‌شوند. کم‌خونی هاپیرکرومیک اتفاق نمی‌افتد اما وقتی میزان هموگلوبین به‌دلیل همولیز داخل عروقی، لیپمی یا وجود هینزبادی‌ها افزایش می‌یابد، MCHC نیز به طور کاذب افزایش می‌یابد. اگر اندازه گلبول‌های قرمز زیر آستانه تشخیص گلبول قرمز دستگاه سنجش‌گر همتولوژی قرار گیرد، MCHC نیز به طور کاذب افزایش می‌یابد. این امر باعث کاهش همتوکریت و افزایش MCHC می‌شود. اگرچه به نظر می‌رسد اسفروسیت‌ها در اسلایدهای خون به دلیل شکل خود هاپیرکرومیک هستند، اما غلظت هموگلوبین در این گلبول‌های قرمز طبیعی است. با این وجود MCHC ممکن است به دلیل همولیز داخل عروقی یا آگلوتیناسیون که باعث اشتباه در اندازه‌گیری میزان توده گلبول‌های قرمز می‌شود، در بیماران دچار کم‌خونی همولیتیک با واسطه ایمنی نیز افزایش یابد. این سیستم طبقه‌بندی مفید است به‌ویژه که مربوط به حجم سلول است، کم‌خونی‌های میکروسیتیک تقریباً همیشه ناشی از کمبود آهن هستند. از دیگر دلایل میکروسیتوز می‌توان به شانت عروقی پورتوکوال کبدی در سگ‌ها و گربه‌ها و موارد طبیعی در برخی نژاد های سگ مثل آکیتاها و شیبا اینو اشاره کرد. کم‌خونی ماکروسیتیک معمولاً نشان‌دهنده عملکرد مغز استخوان است که سلول‌های نارس بزرگ‌تر از اندازه طبیعی آزاد می‌کند. ماکروسیتوز بدون پلی‌کرومازی یا رتیکولوسیتوز باید بیشتر بررسی شود زیرا احتمالاً پاسخ جبرانی دلیل این حالت نیست. MCV در اسب از ارزش ویژه‌ای برخوردار است زیرا رتیکولوسیت‌ها تقریباً هرگز در مقادیر قابل توجه در گردش خون آزاد نمی‌شوند. از دیگر دلایل ماکروسیتوز می‌توان به ویروس لوسمی گربه سانان، میلودیسپلازی، ماکروسیتوز پودل‌ها و استوماتوسیتوز ارثی اشاره کرد. حیوانات مبتلا به کم‌خونی نرموسیتیک معمولاً کم‌خونی غیر قابل جبران یا پیش‌جبرانی دارند (منظور از پیش‌جبرانی، کم‌خونی در حیواناتی است که هموراژ یا همولیز دارند اما در آن‌ها هنوز شواهدی از جبران در خون محیطی مشهود نیست). حیواناتی که دچار کم‌خونی قابل جبران هستند، ممکن است دارای MCV در بازه مرجع باشند و بنابراین به‌عنوان کم‌خونی نرموسیتیک طبقه‌بندی شوند. MCHC در طبقه‌بندی کم‌خونی کم‌تر مفید است، از این رو هیپوکرومی معمولاً به‌سادگی با افزایش غلظت سلول‌های بزرگ و نارس (به عنوان مثال کم‌خونی قابل جبران) همراه است. باید توجه داشت که رتیکولوسیت‌ها هنوز هموگلوبین را سنتز می‌کنند؛ بنابراین غلظت هموگلوبین آن‌ها کم‌تر از گلبول‌های قرمز بالغ است. گاهی اوقات، حیواناتی که دچار فقر آهن هستند ممکن است دچار کم‌خونی هیپوکرومیک و هم‌چنین میکروسیتیک باشند اما در اکثر حیوانات دچار کمبود آهن، MCHC در بازه مرجع قرار دارد.

(شکل ۳). سگ‌های دچار کم‌خونی به‌ویژه آن‌هایی که هم‌زمان دچار ترومبوسیتوپنی و هایپرگلوبولینمی هستند، باید از نظر وجود ارلیشیوز و گربه‌های کم‌خون نیز از نظر ویروس لوسمی گربه‌ها و ویروس نقص ایمنی گربه‌ها مورد آزمایش قرار گیرند. اسب‌های کم‌خون باید از نظر وجود ویروس کم‌خونی عفونی اسبان مورد آزمایش قرار گیرند. پروفایل بیوشیمیایی نیز ممکن است اطلاعات اساسی را ارائه دهد. بیماران مبتلا به کم‌خونی خفیف تا متوسط و غیر قابل جبران ممکن است اختلالات خارج از مغز استخوان داشته باشند که بر عملکرد مغز استخوان تأثیر می‌گذارند. به عنوان مثال، حیوانات مبتلا به کم‌خونی غیر قابل جبران که به دلیل اختلال عملکرد کلیه، ازوتیمیک نیز هستند، احتمالاً دچار کاهش تولید اریتروپویتین هستند. همه بیماران مبتلا به کم‌خونی غیر قابل جبران باید تحت عمل آسپیراسیون و معاینه مغز استخوان قرار گیرند.

شکل ۳- اسلاید خون از سگ مبتلا به کم‌خونی فقر آهن. توجه شود که تراکم اسلاید خون، نشانگر کم‌خونی شدید است. بیشتر اریتروسیت‌ها کوچک و هیپوکرومیک (نوک پیکان) هستند. کم‌خونی جبران شونده است و تعداد زیادی گلبول‌های پلی کروماتوفیلیک (فلش) وجود دارند (رنگ آمیزی راینت).



نتیجه‌گیری

به‌طور خلاصه، علائم بالینی، ارزیابی آزمایشگاهی، علامت‌گیری، سابقه و معاینه بالینی همه در تعیین تشخیص علت اصلی کم‌خونی مهم هستند. خون‌ریزی خارجی مزمن معمولاً منجر به کم‌خونی فقر آهن می‌شود که می‌تواند براساس کاهش MCV و آهن سرم تشخیص داده شود. خون‌ریزی خارجی حاد معمولاً در معاینه بالینی قابل تشخیص است. با این حال در ابتدا تفريق خون‌ریزی داخلی از همولیز می‌تواند دشوار باشد. خون‌ریزی داخلی قابل توجه معمولاً در حفره بدن اتفاق می‌افتد؛ بنابراین معاینه بالینی دقیق، آسپیراسیون از حفره بدن یا سایر روش‌های مشاهده معمولاً از ابزار تشخیص به‌شمار می‌روند. علاوه بر این، بسیاری از دلایل همولیز مانند تخریب با واسطه ایمنی، هینزبادی یا انگل‌های گلبول قرمز بر اساس بررسی اسلایدهای خون و مورفولوژی گلبول‌های قرمز قابل تشخیص هستند.

منابع

Mary Anna Thrall, Classification of and Diagnostic Approach to Anemia. In: Thrall, Weiser, Allison, Veterinary Hematology and Clinical Chemistry Second Edition, A John Wiley & Sons, Inc., Publication, P:75-80

منابع پیشنهادی برای مطالعه بیشتر

- 1- Hodges J, Christopher MM. Diagnostic accuracy of using erythrocyte indices and polychromasia to identify regenerative anemia in dogs. J Am Vet Med Assoc 2011; 238: 1452-8
- 2- Schalm OW. Morphologic classification of the anemias. Vet Clin Pathol 1978; 7: 6-8.
- 3- Tvedten HW. Morphologic classification of anemia. Vet Clin Pathol 1999; 28: 80-2.

ممکن است داخل عروقی یا خارج عروقی باشد و ممکن است در اثر نقایص درونی (یعنی اولیه) مانند نقص‌های ارثی غشا یا آنزیم و یا علل خارجی (یعنی ثانویه) مانند انگل‌های گلبول قرمز و یا تخریب با واسطه ایمنی باشد. همولیز داخل عروقی در واقع لیز و تخریب واقعی گلبول‌های قرمز در سیستم عروقی است. همولیز خارج عروقی هنگامی اتفاق می‌افتد که گلبول‌های قرمز غیر طبیعی توسط ماکروفاژها، معمولاً در طحال یا کبد فاگوسیت‌ه می‌شوند. دلایل عمده تخریب گلبول‌های قرمز شامل مکانیسم‌های واسطه ایمنی، انگل‌های گلبول قرمز، داروها و مواد شیمیایی است که آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد می‌کنند و در نتیجه هینزبادی‌ها ایجاد می‌شوند. علل کمتر معمول همولیز شامل هیپوفسفاتمی، مسمومیت با آب در نشخوارکنندگان جوان، باکتری‌ها (همانند لپتوسپیرو و گونه‌های کلستریدیوم)، مصرف بیش از حد هپارین، نقص‌های ارثی غشایی و آنزیمی گلبول قرمز است.

ارزیابی آزمایشگاهی

طبقه‌بندی کم‌خونی بر اساس اندازه گلبول قرمز و پاسخ مغز استخوان - که پیش‌تر مورد بررسی قرار گرفت - بسیار مهم است. داده‌های ضروری آزمایشگاهی شامل MCV، PCV و شمارش ریتیکولوسیت‌ها است. در هر صورت از دست‌دادن یا تخریب خون منجر به کم‌خونی قابل جبران می‌شود و اختلال عملکرد مغز استخوان منجر به کم‌خونی غیر قابل جبران می‌شود. علاوه بر این، میکروسیتوز معمولاً شاهدهی از کم‌خونی فقر آهن است و ماکروسیتوز نیز معمولاً حاکی از فرآیند کم‌خونی جبرانی است. اطلاعات اضافی را می‌توان از بررسی اسلاید خون به‌دست آورد به‌طوری که مورفولوژی گلبول‌های قرمز ممکن است یک تشخیص قطعی را ارائه دهند. سایر روش‌های آزمایشگاهی که ممکن است اطلاعات مفیدی را ارائه دهند شامل تخمین پروتئین تام توسط رفرکتومتر است. از دست‌دادن خون معمولاً نه تنها باعث از دست رفتن گلبول‌های قرمز بلکه سبب از بین رفتن سایر اجزای خون از جمله پروتئین نیز می‌شود؛ بنابراین بیماران مبتلا به خون‌ریزی ممکن است دچار کمبود پروتئین خون نیز باشند. با این وجود هنوز باید سایر علل هیپوپروتئینمی را هم در نظر گرفت. اگر خون‌ریزی داخلی باشد، پروتئین‌ها معمولاً ظرف چند ساعت دوباره جذب می‌شوند. سایر اجزای شمارش کامل خون (CBC) نیز ممکن است اطلاعات مفیدی را ارائه دهند. به عنوان مثال اگر یک بیمار به شدت ترومبوسیتوپنیک باشد، کم‌خونی ممکن است به دلیل از دست‌دادن خون ثانویه به اختلال در تشکیل لخته ایجاد شود. از طرف دیگر اگر غلظت لکوسیت‌ها، غلظت پلاکت‌ها و PCV همگی کاهش یافته و کم‌خونی هم از نوع غیرقابل جبران باشد، در این صورت نارسایی کامل مغز استخوان دلیل اصلی کم‌خونی است. در حیوانی با کم‌خونی خفیف و غیرقابل جبران و هم‌چنین افزایش نوتروفیل‌های نابالغ احتمالاً مبتلا به کم‌خونی ناشی از بیماری التهابی است. برای کمک به تأیید یا حذف یک تشخیص مشکوک، تست‌های آزمایشگاهی خاصی را می‌توان انجام داد. اگر اسفروسیت‌ها در اسلاید خون یک بیمار کم‌خون مشاهده شود؛ یک آزمایش کومیس یا یک تست شکنندگی سالین می‌تواند به تأیید کم‌خونی همولیتیک با واسطه ایمنی کمک کند. در بیماران مبتلا به کم‌خونی میکروسیتیک، باید آهن سرم اندازه‌گیری شود تا مشخص شود که آیا میکروسیتوز ناشی از کمبود آهن است یا خیر. علاوه بر این، مدفوع باید از نظر خون مورد بررسی قرار گیرد زیرا از دست‌دادن مزمن خون از دستگاه گوارش دلیل اصلی کم‌خونی فقر آهن است.



شماره نهم - اردیبهشت و خرداد ۱۴۰۱
