

التیام

نشریه علمی

مجموعه ای از مقالات پژوهشی



دوره ۱۳، شماره ۱، ۱۴۰۵

التیام

نشریه علمی انجمن جراحی دامپزشکی ایران

با اعتبار علمی به شماره ۸۴/۱۸/۸۰۵۵ مورخ ۱۳۹۳/۱۰/۲۵

از وزارت علوم، تحقیقات و فناوری

نمایه شده در پایگاه استنادی علوم جهان اسلام www.isc.gov.ir

پایگاه مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی www.sid.ir

بانک اطلاعات نشریات کشور www.magiran.com



دوره ۱۳ شماره ۱. ۱۴۰۵

Print-ISSN: 5695-2423

Electronic-ISSN: 27833291

التیام

مجموعه‌ای از مقالات پژوهشی

صاحب امتیاز: انجمن جراحی دامپزشکی ایران

سردبیر: دکتر احمدرضا محمدنیا

(دانشیار جراحی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد)

مدیر داخلی: دکتر مرضیه فائزی

هیئت تحریریه (به ترتیب حروف الفبا)

دکتر بهارک اختردانش (استاد داخلی دام های کوچک، دانشکده دامپزشکی شهید باهنر کرمان)

دکتر آذین توکلی (دانشیار جراحی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه آزاد گرمسار)

دکتر محمد مهدی دهقان (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)

دکتر ابوتراب طباطبایی نایینی (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز)

دکتر محمد مهدی علومی (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان)

دکتر سید مهدی قمصری (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)

دکتر احمدرضا محمدنیا (دانشیار جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد)

دکتر ایرج نوروزیان (استاد جراحی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران)

آدرس دبیرخانه: خراسان رضوی - مشهد - بزرگراه آسیایی - روبه روی بیمارستان رضوی - بیمارستان و

پلی کلینیک تخصصی دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، کد پستی: ۹۱۸۷۱۹۵۷۸۶

تلفن: ۳۶۵۷۹۴۳۰ - ۰۵۱ نمابر: ۳۶۵۷۹۴۳۰ - ۰۵۱

وب سایت: www.eltiamjournal.ir

پست الکترونیک: eltiam.ivsa@gmail.com

شماره بعد: بیماری های پرندگان زینتی، شناسایی و مداخلات جراحی

فهرست مطالب

۵.....	سخن سردبیر
۶.....	فراوانی و توزیع اختلالات اندام حرکتی در اسب‌های سواری و پرشی باشگاه‌های سوارکاری استان فارس
۱۸.....	ارزیابی اثر ملاتونین خوراکی بر تابلوی خونی به‌دنبال جراحی برداشت تخمدان در سگ
۳۰.....	جداسازی و شناسایی باکتری‌های مولد بیوفیلم در لوله‌های داخل‌نایی حیوانات کوچک
۴۶.....	بررسی اثر ونکومايسين بر ضربان قلب و شاخص‌های نوار قلب در سگ‌های از نظر بالینی سالم
۵۳... ..	ارزیابی اثربخشی نانوبیوزوم‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی در درمان کراتیت باکتریایی القا شده با <i>استافیلوکوکوس آئروس</i>
۶۴.....	تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر التیام زخم‌های جلدی در موش صحرایی: ارزیابی بالینی و هیستوپاتولوژیک

سخن سردبیر

شرایط جنگ و سختی‌های اقتصادی روشن‌گر برخی از نیازهای بنیادی در توسعه باشد. در طی چند سال گذشته بارها مجلات داخل کشور از جمله مجله التیام مورد بی‌مهری دانشگاهیان و حتی دست‌اندرکاران در وزارت علوم، تحقیقات و فناوری و سایر قسمت‌ها قرار گرفته‌اند. بارها به زبان‌های متفاوت و در مقایسه با مجلات خارج از کشور محکوم به انتشار مقالات بی‌کیفیت شدیم، بارها توسط نهادهای مرجع محکوم به انتشار نامنظم، بی‌کیفیت، بدون روندهای مورد قبول و غیره شدیم و در همه شرایط در حالی که مجله بدون بودجه و تنها با حمایت انجمن جراحی منتشر می‌شود، به کار خود ادامه دادیم. بودجه‌های وزارتی تنها به مجلات با رتبه الف یا بین‌المللی اختصاص پیدا می‌کند و این پرسش که مجله‌ای که مقالات مروری سفارشی منتشر می‌کند و سهم موثری در ارتقای علوم را به خود اختصاص می‌دهد و طبیعتاً برای انتشار این مقالات نه تنها پولی نمی‌گیرد بلکه باید هزینه‌های فرآوری آن را نیز بدهد چگونه به راه خود ادامه می‌دهد؟ نشانگر نقش انجمن جراحی در حمایت از این رخدادهای ملی است که البته با توجه به سازوکارهای بودجه‌ای انجمن‌ها به آن نیز نمی‌توان دل بست. در این بین تنها شاید قدردانی و ارزش‌گذاری دانشگاه‌ها و وزارت علوم و سایر نهادهای بالادستی دلگرمی برای ادامه کار باشد که متأسفانه این نیز با وجود بیانات فراوان مسئولین مختلف محقق نشده و هرروز به شکلی شاهد دست‌کم‌گیری جدیدی از سوی این نهادها هستیم و به شکل دائم مجله التیام و سایر مجلات چاپ داخل کشور در مقابل مجلات ISI و نمایه شده در پایگاه‌هایی مانند web of science و غیره قرار می‌گیرند و با جدی نگرفتن این مجلات تمایل نویسندگان و پژوهشگران داخلی به انتشار نتایج کارهای خود در این مجلات کاهش پیدا می‌کند.

با وجود همه این تنگناهای مالی، پشتیبانی معنوی و غیره هنوز به کار خود ادامه می‌دهیم و خوشحالیم که این شماره از مجله نیز به موقع به زیر و طبع آراسته گردیده است. در این شماره شاهد تغییر مختصری در عملکرد مجله هستیم به گونه‌ای که این شماره از نیروی سردبیر مهمان بهره نگرفته است و تنها به انتشار مجموعه مقالات پژوهشی دریافت شده پرداخته است. برخورد لازم می‌دانم که از اختلال به وجود آمده در پایگاه اطلاع‌رسانی مجله پوزش بخواهم، در هر صورت این اختلال از بین رفته و مجله در حال حاضر کاملاً روان، مشغول کارهای خود است. امیدوارم از شماره آینده شاهد انتشار مقالات مروری مبتنی بر روش معمول مجله باشیم.

از لطف و همراهی همه خوانندگان محترم مجله، دست‌اندرکاران انتشار و همه نویسندگان صمیمانه سپاسگزارم و امیدوارم که همه شاهد فرادهایی بسیار بهتر و آرام‌تر باشیم.

احمد رضا محمدنیا

سردبیر مجله التیام



التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

<http://eltiamjournal.ir/>

فراوانی و توزیع اختلالات اندام حرکتی در اسب‌های سواری و پرشی باشگاه‌های سوارکاری

استان فارس: یک مطالعه مقطعی

ابوالفضل فتحی^۱، ابوتراب طباطبایی نائینی^{۲*}، فاطمه رهسپار^۳

۱. فارغ التحصیل دکتری عمومی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. استاد جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. رزیدنت جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* t-naeini@shirazu.ac.ir

<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.1>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۲۲



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد، کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان. ناشر: انجمن دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: بیماری‌های اندام حرکتی و لنگش از مهم‌ترین مشکلات سلامت اسب‌ها به شمار می‌روند که سالانه خسارات اقتصادی قابل توجهی به صنعت پرورش اسب و باشگاه‌های سوارکاری وارد می‌کنند. شناخت الگوی شیوع این بیماری‌ها و عوامل مرتبط با آن‌ها می‌تواند در پیشگیری، تشخیص زودهنگام و مدیریت مؤثر این اختلالات نقش مهمی داشته باشد.

هدف: تعیین فراوانی و الگوی بروز آسیب‌های اندام حرکتی در اسب‌های مورد استفاده در باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان و بررسی ارتباط آن‌ها با سن و جنس حیوان.

روش کار: این مطالعه توصیفی - مقطعی بر روی ۵۰ رأس اسب با کاربری سواری و پرشی در باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان انجام شد. تشخیص آسیب‌های اندام حرکتی بر اساس معاینات بالینی، آزمون‌های کمک‌تشخیصی ارتوپدی، ارزیابی‌های رادیوگرافی و نیز در مواردی مانند تاندونیت ارزیابی از طریق اولتراسونوگرافی صورت گرفت. آسیب‌های شناسایی‌شده در سه گروه اصلی شامل آسیب‌های استخوانی و مفصلی، آسیب‌های بافت نرم و آسیب‌های سم طبقه‌بندی شدند. فراوانی هر ضایعه بر اساس سن و جنس اسب‌ها محاسبه و ثبت گردید.

نتایج: نتایج نشان داد آسیب‌های بافت نرم شایع‌ترین گروه آسیب‌های اندام حرکتی در اسب‌های مورد بررسی بودند؛ در این میان، تاندونیت با فراوانی ۲۴ درصد شایع‌ترین ضایعه مشاهده‌شده بود، کمردرد نیز با فراوانی ۱۲ درصد در رتبه بعدی قرار داشت. در مقابل، آسیب‌های مربوط به سم کمترین میزان شیوع را در میان اختلالات اندام حرکتی و موارد لنگش نشان دادند.

نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس یافته‌های این مطالعه، آسیب‌های بافت نرم به‌ویژه تاندونیت از مهم‌ترین مشکلات اندام حرکتی در اسب‌های باشگاه‌های سوارکاری منطقه زرقان محسوب می‌شوند؛ توجه به مدیریت صحیح تمرینات، بهبود شرایط نگهداری و اجرای برنامه‌های پیشگیرانه می‌تواند در کاهش بروز این آسیب‌ها و ارتقای سلامت و عملکرد ورزشی اسب‌ها مؤثر باشد.

کلمات کلیدی: اسب، لنگش، اختلالات اندام حرکتی، تاندونیت، کمردرد

مقدمه

اسب از دیرباز علاوه بر نقش اقتصادی و کاربردی خود، جایگاه ویژه‌ای در فعالیت‌های ورزشی، تفریحی و فرهنگی جوامع مختلف داشته است. امروزه با گسترش صنعت پرورش اسب و افزایش استقبال از رشته‌های مختلف سوارکاری، حفظ سلامت و توانایی حرکتی این حیوان از اهمیت ویژه‌ای برخوردار شده است. عملکرد مطلوب اسب در فعالیت‌های ورزشی و تفریحی وابستگی مستقیمی به سلامت دستگاه اسکلتی-عضلانی دارد و هرگونه اختلال در این سیستم می‌تواند موجب کاهش عملکرد، افت بازده ورزشی و تحمیل هزینه‌های قابل توجه درمانی و مدیریتی شود (۱). حرکت طبیعی در اسب حاصل هماهنگی پیچیده میان استخوان‌ها، مفاصل، عضلات، تاندون‌ها، رباط‌ها و سم است. هرگونه اختلال در عملکرد طبیعی این ساختارها می‌تواند منجر به بروز لنگش شود. لنگش یکی از شایع‌ترین دلایل ارجاع اسب‌ها به مراکز دامپزشکی بوده و به عنوان نشانه‌ای از وجود اختلالات آناتومیک یا عملکردی در اندام‌های حرکتی یا ناحیه پشتی شناخته می‌شود. این عارضه ممکن است در نتیجه آسیب‌های تروماتیک، اختلالات مادرزادی یا اکتسابی، بیماری‌های التهابی، اختلالات متابولیک، مشکلات عصبی و یا ترکیبی از این عوامل ایجاد شود. از آن‌جا که لنگش مستقیماً بر توانایی حرکتی و عملکرد ورزشی اسب تأثیر می‌گذارد، تشخیص و شناسایی عوامل ایجادکننده آن از اهمیت بالایی برخوردار است (۲).

بیماری‌های اندام حرکتی یکی از مهم‌ترین چالش‌های سلامت در اسب‌های ورزشی محسوب می‌شوند و سالانه خسارات اقتصادی قابل توجهی را به مالکان، مربیان و باشگاه‌های سوارکاری تحمیل می‌کند. علاوه بر هزینه‌های مستقیم ناشی از تشخیص و درمان، کاهش عملکرد ورزشی، حذف از مسابقات، طولانی شدن دوره نقاهت و حتی بازنشستگی زود هنگام حیوان از جمله پیامدهای مهم این بیماری‌ها به شمار می‌روند. به همین دلیل، شناخت بیماری‌های شایع دستگاه حرکتی و عوامل مؤثر بر بروز

آن‌ها می‌تواند نقش مهمی در تدوین برنامه‌های پیش‌گیری و مدیریت سلامت اسب‌ها ایفا کند (۳). آسیب‌های اندام حرکتی در اسب‌ها طیف گسترده‌ای از بیماری‌های استخوانی، مفصلی، تاندونی، عضلانی و بیماری‌های سم را شامل می‌شوند. در میان این اختلالات، آسیب‌های بافت نرم به‌ویژه التهاب تاندون از مهم‌ترین علل کاهش عملکرد در اسب‌های ورزشی به شمار می‌رود. تاندون‌ها نقش اساسی در انتقال نیروی عضلانی و حرکت اندام‌ها دارند و به دلیل تحمل مداوم نیروهای کششی مستعد آسیب هستند. فعالیت‌های ورزشی شدید، کشش بیش از حد، تحمل وزن زیاد و ضربات مستقیم از جمله عوامل اصلی بروز التهاب تاندون محسوب می‌شوند (۴). همچنین مشکلات ناحیه سینه‌ای - کمری و کمردرد نیز از علل شایع کاهش عملکرد و نارضایتی سوارکاران از عملکرد اسب بوده و می‌توانند با لنگش اندام‌های خلفی، کاهش انعطاف‌پذیری و افت توان ورزشی همراه باشند (۵). از سوی دیگر، بیماری‌های سم، آسیب‌های مفصلی، شکستگی‌ها و برخی اختلالات ارتوپدی نظیر قفل شدگی فوقانی کشکک نیز از جمله عوامل مهم ایجادکننده لنگش در اسب‌ها هستند. شیوع و الگوی بروز این آسیب‌ها تحت تأثیر عوامل مختلفی از جمله سن، جنس، نژاد، نوع فعالیت، شدت تمرینات، شرایط نگهداری، وضعیت زمین تمرین و مدیریت باشگاه قرار دارد (۶). بنابراین، بررسی فراوانی این بیماری‌ها در هر منطقه می‌تواند اطلاعات ارزشمندی در خصوص عوامل خطر و راهکارهای پیشگیرانه فراهم آورد. مطالعات اپیدمیولوژیک نقش مهمی در شناسایی بیماری‌های شایع و تعیین اولویت‌های بهداشتی در جمعیت‌های اسبی دارد. با وجود توسعه روزافزون صنعت پرورش اسب و افزایش تعداد باشگاه‌های سوارکاری در ایران، اطلاعات منطقه‌ای درباره فراوانی آسیب‌های اندام حرکتی و علل اصلی لنگش همچنان محدود است. این موضوع به‌ویژه در مناطقی که فعالیت‌های پرورش و نگهداری اسب با سرعت بیشتری در حال گسترش است، اهمیت بیشتری پیدا می‌کند.

قلب و تعداد تنفس بود. سپس وضعیت بدنی، نحوه ایستادن، تقارن اندام‌ها، وجود تورم، تغییر شکل‌های ظاهری، آتروفی عضلانی و سایر ناهنجاری‌های قابل مشاهده بررسی شد. به‌منظور ارزیابی لنگش، اسب‌ها در گام‌های قدم و یورتمه در مسیر مستقیم مشاهده شدند. در مواردی که لنگش خفیف، متناوب یا نامشخص بود، ارزیابی حرکت در مسیرهای دایره‌ای در هر دو جهت و بر روی سطوح مختلف شامل سطوح سخت و مانژ شنی انجام شد تا تشخیص اختلالات حرکتی با دقت بیشتری صورت گیرد. پس از شناسایی اندام یا ناحیه مشکوک، معاینه اختصاصی ارتوپدی انجام شد. این معاینه شامل ملامسه عضلات، تاندون‌ها، رباط‌ها، مفاصل و ساختارهای سم بود و وجود درد، تورم، افزایش حرارت موضعی و محدودیت دامنه حرکتی در هر مورد ثبت گردید. در موارد مشکوک به درد با منشأ سم، از سم‌آزما (Hoof Tester) برای تعیین دقیق محل درد استفاده شد. در صورت نیاز، آزمون‌های خمشی (Flexion Tests) نیز به‌عنوان بخشی از ارزیابی ارتوپدی انجام شدند. در این آزمون، اندام مورد نظر به مدت ۴۵ ثانیه در وضعیت خم‌شده نگه داشته شد و بلافاصله پس از آن اسب در مسیر مستقیم به یورتمه هدایت گردید. افزایش شدت لنگش پس از انجام آزمون به‌عنوان پاسخ مثبت تلقی شد.

روش‌های تشخیصی تکمیلی

در مواردی که یافته‌های حاصل از شرح حال و معاینه بالینی برای دستیابی به تشخیص قطعی در بالین کافی نبود، از رادیوگرافی پرتابل و همچنین اولتراسونوگرافی برای ارزیابی آسیب‌های بافت نرم مانند تورم تاندون، به‌عنوان روش‌های تشخیصی تکمیلی استفاده شد. تشخیص نهایی بر اساس مجموعه اطلاعات به‌دست‌آمده از شرح حال، معاینه بالینی، آزمون‌های ارتوپدی و یافته‌های رادیوگرافیک و سونوگرافیک تعیین گردید.

درجه‌بندی لنگش

شدت لنگش بر اساس سیستم استاندارد انجمن دامپزشکان اسب آمریکا (American Association of Equine

شهرستان زرقان در استان فارس به دلیل شرایط اقلیمی مناسب، دسترسی به منابع مطلوب و افزایش تعداد باشگاه‌های سوارکاری طی سال‌های اخیر، به یکی از مراکز فعال پرورش و نگهداری اسب تبدیل شده است. با این حال، تاکنون مطالعه جامعی در خصوص وضعیت بیماری‌های اندام حرکتی و الگوی لنگش در اسب‌های این منطقه انجام نشده است. نبود چنین اطلاعاتی می‌تواند برنامه‌ریزی برای پیشگیری، تشخیص زودهنگام و مدیریت مؤثر این بیماری‌ها را با محدودیت مواجه سازد. بنابراین، مطالعه حاضر با هدف بررسی فراوانی اختلالات اندام حرکتی در اسب‌های باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان و شناسایی شایع‌ترین علل لنگش در آن‌ها انجام شد. نتایج این پژوهش می‌تواند به عنوان شاخصی برای طراحی برنامه‌های پیشگیرانه، بهبود مدیریت سلامت اسب‌ها و ارتقای عملکرد ورزشی آن‌ها در سطح منطقه مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش کار

طراحی مطالعه و جمعیت مورد بررسی

این مطالعه به‌صورت توصیفی-مقطعی در بهار و تابستان سال ۱۴۰۳ در باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان استان فارس، انجام شد. جامعه مورد مطالعه شامل ۵۰ رأس اسب ورزشی با کاربری سواری و پرش بود که طی دوره مطالعه از نظر وجود اختلالات دستگاه حرکتی و علائم لنگش مورد ارزیابی قرار گرفتند.

جمع‌آوری داده‌ها

برای هر اسب، اطلاعاتی شامل سن، جنس، نوع فعالیت ورزشی، سابقه بیماری‌های اخیر، شرایط نگهداری، زمان آخرین نعل‌بندی و قیاب، تغییرات اخیر در برنامه تمرینی، تغییر سوارکار و نوع زین مورد استفاده از طریق مصاحبه با اسبداران و تکمیل فرم استاندارد شرح حال جمع‌آوری و ثبت شد.

معاینه بالینی و ارتوپدی

در ابتدا تمامی اسب‌ها تحت معاینه عمومی قرار گرفتند که شامل اندازه‌گیری دمای بدن از طریق رکتوم، تعداد ضربان

نتایج:

در این مطالعه، ۵۰ رأس اسب شامل ۲۹ نریان (۵۸٪) و ۲۱ مادیان (۴۲٪) از لحاظ وجود یا عدم وجود لنگش مورد ارزیابی قرار گرفتند. دامنه سنی اسبها از ۲۰ روز تا ۱۸ سال متغیر بود. بر اساس معاینات بالینی، آزمونهای ارتوپدی و بررسیهای تصویربرداری، اختلالات دستگاه حرکتی در سه گروه اصلی شامل بیماریها و آسیبهای استخوانی - مفصلی، اختلالات بافت نرم و اختلالات سم طبقه‌بندی شدند.

در مجموع، اختلالات استخوانی - مفصلی و اختلالات بافت نرم هر یک با ۲۳ مورد، ۴۶ درصد از کل موارد تشخیص داده شده را به خود اختصاص دادند، در حالی که اختلالات مرتبط با سم تنها در ۴ مورد (۸٪) مشاهده شدند (جدولهای ۱ تا ۳).

Practitioners Lameness Grading Scale, AAEP) در شش درجه از ۰ تا ۵ طبقه‌بندی شد؛ به طوری که درجه ۰ نشان‌دهنده عدم وجود لنگش و درجه ۵ بیانگر عدم تحمل وزن و ناتوانی کامل در حرکت بود.

طبقه‌بندی اختلالات دستگاه حرکتی

اختلالات تشخیص داده شده بر اساس ماهیت درگیری در سه گروه اصلی شامل بیماریها و آسیبهای استخوانی - مفصلی، اختلالات بافت نرم و اختلالات سم دسته‌بندی شدند. فراوانی هر اختلال و توزیع آن بر حسب سن (در سه دامنه سنی یک ماه تا چهار سال، پنج سال تا ده سال و بالاتر از ده سال) و جنس (نریان - مادیان) محاسبه و به صورت درصد گزارش شد.

جدول ۱- فراوانی آسیب‌های مربوط به استخوان‌ها و مفاصل در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	تعداد اسب‌های مبتلا	درجه لنگش	میزان شیوع در کل جمعیت
قفل شدگی فوقانی کشکک	۴	۲-۵	۸٪
شکستگی استخوان	۳	۵	۶٪
فتق کیسه مفصلی	۲	۱	۴٪
باکدشینز	۳	۰-۱	۶٪
قره قوش	۳	۲	۶٪
رینگ بون	۳	۳	۶٪
باگ اسپاوبین	۱	۱	۲٪
لمینایتیس	۲	۴	۴٪
سندروم نوبیکولار	۲	۲	۴٪
کل	۲۳	-	۴۶٪

جدول ۲- فراوانی آسیب‌های مربوط به بافت نرم در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	تعداد اسب‌های مطالعه (n=50)	درجه لنگش	میزان شیوع در کل جمعیت
تاندونیت	۱۲	۲-۳	۲۴٪
کمر درد	۶	۲-۳	۱۲٪
التهاب عضله سه سر بازو	۳	۲-۳	۶٪
آسیب رباطات	۱	۴	۲٪
بورسیت مفصل خرگوشی	۱	۲	۲٪
کل	۲۳	-	۴۶٪

جدول ۳- فراوانی آسیب‌های مربوط به سم در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	تعداد اسب‌های مبتلا (n=50)	درجه لنگش	میزان شیوع در کل جمعیت
ترک خوردگی سم	۲	۲	۴٪
عفونت سم	۱	۳	۲٪
عدم بالانس پاشنه سم	۱	۱	۲٪
کل	۴	-	۸٪

اختلالات سم کمترین سهم را در میان اختلالات دستگاه حرکتی داشتند و تنها ۴ مورد (۸٪) را شامل شدند. ترک خوردگی دیواره سم (Hoof Crack) با ۲ مورد (۴٪) شایع‌ترین اختلال این گروه بود، در حالی که عفونت سم (Hoof Infection) و عدم تعادل پاشنه سم (Heel Imbalance) هر کدام در یک مورد (۲٪) مشاهده شدند (جدول ۳). عفونت سم تنها در مادیان‌ها و عدم تعادل پاشنه سم تنها در نریان‌ها ثبت شد (جدول ۶). همچنین عفونت سم در اسب‌های کمتر از ۴ سال و عدم تعادل پاشنه در اسب‌های بالاتر از ۱۰ سال مشاهده گردید. (جدول ۹).

از نظر توزیع آناتومیک، بیشتر اختلالات دستگاه حرکتی در اندام‌های قدامی مشاهده شد و سهم اندام‌های خلفی کمتر بود. تمامی موارد التهاب تاندون در اندام‌های قدامی تشخیص داده شدند. به طور کلی، التهاب تاندون شایع‌ترین تشخیص در کل جمعیت مورد مطالعه بود و پس از آن کمردرد و گیرکردگی فوقانی کشکک بیشترین فراوانی را داشتند.

بحث

اختلالات دستگاه اسکلتی - عضلانی و لنگش از مهم‌ترین علل کاهش عملکرد ورزشی، افت ارزش اقتصادی و بازنشستگی زود هنگام اسب‌های ورزشی محسوب می‌شوند. بروز این اختلالات معمولاً نتیجه برهم‌کنش عوامل متعددی از جمله سن، نوع فعالیت ورزشی، شدت تمرین، شرایط نگهداری، کیفیت سطوح تمرینی و ویژگی‌های آناتومیک و بیومکانیکی اسب است. از این‌رو، شناخت الگوی شیوع بیماری‌های اندام حرکتی در جمعیت‌های مختلف اسب می‌تواند در طراحی برنامه‌های پیشگیری، تشخیص زود هنگام و مدیریت درمانی مؤثر باشد (۷).

در گروه بیماری‌ها و آسیب‌های استخوانی - مفصلی، گیرکردگی فوقانی کشکک (Upward Fixation of the Patella) با ۴ مورد (۸٪) شایع‌ترین تشخیص بود. شکستگی‌های استخوانی، باکدشینز ناشی از تمرین (Bucked Shins)، اسپلینتس (Splints) و رینگ‌بون (Ringbone) هر یک در ۳ مورد (۶٪) مشاهده شدند. اتساع کیسه مفصلی، لامینایتیس و سندرم ناویکولار هر کدام در ۲ مورد (۴٪) و تورم مفصل خرگوشی ناشی از تجمع مایع مفصلی (Bog Spavin) در یک مورد (۲٪) ثبت شدند (جدول ۱). لامینایتیس، سندرم ناویکولار و باگ‌اسپاوین فقط در نریان‌ها مشاهده شدند، در حالی که موارد باکدشینز و اسپلینتس صرفاً در مادیان‌ها ثبت گردیدند (جدول ۴). همچنین قفل‌شدگی فوقانی کشکک عمدتاً در اسب‌های کمتر از ۵ سال مشاهده شد (جدول ۷). اختلالات بافت نرم نیز در ۲۳ اسب (۴۶٪) شناسایی شد. در این گروه، التهاب تاندون (Tendonitis) با ۱۲ مورد، معادل ۵۲/۲ درصد و اختلالات بافت نرم ۲۴ درصد کل موارد، شایع‌ترین موارد تشخیص بود. کمردرد با ۶ مورد (۱۲٪ از کل جمعیت مورد مطالعه) در رتبه بعدی ثبت گردید. التهاب عضله سه‌سر بازویی در ۳ مورد (۶٪) و آسیب‌های رباطی و بورسیت مفصل خرگوشی (Capped Hock) هر کدام در یک مورد (۲٪) مشاهده شدند (جدول ۲). فراوانی اختلالات بافت نرم در نریان‌ها بیشتر از مادیان‌ها بود و کمردرد در نریان‌ها حدود پنج برابر بیش از مادیان‌ها ثبت شد (جدول ۵). بیشترین موارد التهاب تاندون و کمردرد در گروه سنی ۵ تا ۱۰ سال مشاهده گردید (جدول ۸).

جدول ۴- میزان شیوع آسیب‌های مربوط به استخوان‌ها و مفاصل در ارتباط با جنس در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	جنس	نر	ماده
قفل شدگی فوقانی کشکک		۷۵٪	۲۵٪
شکستگی استخوان		۳۳.۳٪	۶۶.۶٪
فتق کیسه مفصلی		۵۰٪	۵۰٪
باکدشینز		۰٪	۱۰۰٪
اسپیلینتس		۰٪	۱۰۰٪
رینگ بون		۶۶.۶٪	۳۳.۳٪
باگ اسپاوین		۱۰۰٪	۰٪
لمینایتیس		۱۰۰٪	۰٪
سندروم نوبیکولار		۱۰۰٪	۰٪

جدول ۵- میزان شیوع آسیب‌های بافت نرم در ارتباط با جنس در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	جنس	نر	ماده
تاندونیت		۵۴.۵٪	۴۵.۴٪
کمر درد		۸۳.۳٪	۱۶.۶٪
التهاب عضله		۱۰۰٪	۰٪
آسیب رباط		۱۰۰٪	۰٪
بورسیت مفصل خرگوشی		۰٪	۱۰۰٪

جدول ۶- میزان شیوع آسیب‌های سم در ارتباط با جنس در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	جنس	نر	ماده
ترک خوردگی سم		۵۰٪	۵۰٪
عفونت سم		۰٪	۱۰۰٪
عدم بالانس پاشنه سم		۱۰۰٪	۰٪

جدول ۷- میزان شیوع آسیب‌های مربوط به استخوان‌ها و مفاصل در ارتباط با سن در ۵۰ سر اسب

نوع ضایعه	سن	۴-۰	۱۰-۵	>۱۰
قفل شدگی فوقانی کشکک		۷۵٪	۲۵٪	۰٪
شکستگی استخوان		۳۳.۳٪	۳۳.۳٪	۳۳.۳٪
فتق کیسه مفصلی		۵۰٪	۵۰٪	۰٪
باکدشینز		۳۳.۳٪	۰٪	۶۶.۶٪
اسپیلینتس		۶۶.۶٪	۳۳.۳٪	۰٪
رینگ بون		۰٪	۱۰۰٪	۰٪
باگ اسپاوین		۰٪	۱۰۰٪	۰٪
لمینایتیس		۵۰٪	۵۰٪	۰٪
سندروم نوبیکولار		۰٪	۵۰٪	۵۰٪

جدول ۸- میزان شیوع آسیب‌های مربوط به بافت نرم در ارتباط با سن در ۵۰ سر اسب

سن / نوع ضایعه	۴-۰	۱۰-۵	>۱۰
تاندونیت	۲۵٪	۵۰٪	۲۵٪
کمر درد	۳۳.۴٪	۵۰٪	۱۶.۶٪
التهاب عضله	۶۶.۶٪	۰٪	۳۳.۳٪
آسیب رباطات	۱۰۰٪	۰٪	۰٪
بورسیت مفصل خرگوشی	۱۰۰٪	۰٪	۰٪

جدول ۹- میزان شیوع آسیب‌های مربوط به سم در ارتباط با سن در ۵۰ سر اسب

سن / نوع ضایعه	۴-۰	۱۰-۵	>۱۰
ترک خوردگی سم	۵۰٪	۵۰٪	۰٪
عفونت سم	۱۰۰٪	۰٪	۰٪
عدم بالانس پاشنه سم	۱۰۰٪	۰٪	۰٪

در مطالعه حاضر، آسیب‌های دستگاه حرکتی در سه گروه اصلی شامل آسیب‌های استخوانی - مفصلی، آسیب‌های بافت نرم و آسیب‌های سم طبقه‌بندی شدند. نتایج نشان داد که آسیب‌های بافت نرم و آسیب‌های استخوانی - مفصلی هر یک ۴۶ درصد از کل موارد تشخیص داده شده را تشکیل می‌دهند، در حالی که آسیب‌های سم تنها ۸ درصد موارد را شامل می‌شوند. در میان تمامی اختلالات شناسایی شده، تاندونیت با ۱۲ مورد، معادل ۲۴ درصد کل موارد و بیش از نیمی از آسیب‌های بافت نرم، شایع‌ترین بیماری تشخیص داده شده بود. این یافته نشان می‌دهد که آسیب‌های مرتبط با ساختارهای نرم اندام حرکتی همچنان یکی از مهم‌ترین مشکلات سلامت اسب‌های ورزشی منطقه مورد مطالعه هستند.

شیوع بالای التهاب تاندون در مطالعه حاضر با نتایج بسیاری از مطالعات پیشین همخوانی دارد. بودن و همکاران در بررسی آسیب‌های اسب‌های مسابقات کورس استرالیا گزارش کردند که ۸۱ درصد آسیب‌های ارتوپدی در اندام‌های قدامی رخ داده و تاندون‌های خم‌کننده با ۴۶

درصد، شایع‌ترین ساختارهای آسیب‌دیده بودند (۸). در مطالعه حاضر نیز ۷۲ درصد آسیب‌ها در اندام‌های قدامی مشاهده شد و تمامی موارد تاندونیت در دست‌ها ثبت شدند. این یافته از نظر بیومکانیکی قابل انتظار است، زیرا اندام‌های حرکتی قدامی وزن بیشتری از بدن اسب را تحمل می‌کنند و در طی دویدن، فرود پس از پرش و تغییر مسیرهای ناگهانی بیشترین نیروهای فشاری و کششی را متحمل می‌شوند. در نتیجه، تاندون‌های خم‌کننده سطحی و عمقی انگشتان بیش از سایر ساختارها در معرض آسیب‌های ناشی از بارگذاری مکرر قرار دارند.

آرتور و همکاران نیز التهاب تاندون تاندون خم‌کننده سطحی انگشتان (Superficial Digital Flexor Tendon, SDFT) را شایع‌ترین آسیب اولیه منجر به پایان فعالیت حرفه‌ای اسب‌های مسابقه‌ای تروبرد گزارش کرده‌اند (۹). همچنین ولنمن و همکاران در اسب‌های چوگان، تاندونیت SDF را مهم‌ترین علت بازنشستگی زودرس گزارش نمودند (۱۰). هم‌سویی نتایج مطالعه حاضر با این

گزارش‌ها اهمیت بالینی و اقتصادی این بیماری را در اسب‌های ورزشی منطقه زرقان نیز نشان می‌دهد. از سوی دیگر، توزیع سنی موارد تاندونیت در این مطالعه نشان داد که اغلب مبتلایان بیش از ۵ سال سن داشتند. این یافته با نتایج داوولینگ و همکاران مطابقت دارد که نشان دادند افزایش سن با بروز تغییرات دژنراتیو در ماتریکس تاندونی، کاهش خاصیت الاستیکی و کاهش توانایی ترمیم بافت همراه است (۱۱). همچنین پیلسورث گزارش کرد که تاندونیت در اسب‌های جوان ۲ تا ۳ ساله نسبتاً غیرمعمول بوده و بیشتر در اسب‌های بالغ و مسن‌تر مشاهده می‌شود (۱۲). نتایج مطالعه حاضر نیز مؤید نقش تجمعی استرس‌های مکانیکی و آسیب‌های میکروسکوپی در بروز تاندونوپاتی‌های مزمن است.

دومین یافته مهم مطالعه حاضر، شیوع نسبتاً بالای کمردرد بود. اگرچه کمردرد یک تشخیص آناتومیک اختصاصی محسوب نمی‌شود و می‌تواند منشأ عضلانی، لیگامانی، ساکروایلیاک یا لومبوساکرال داشته باشد، اما از دیدگاه بالینی یکی از علل مهم کاهش عملکرد ورزشی در اسب‌ها محسوب می‌شود. در مطالعه حاضر، موارد کمردرد بر اساس یافته‌های معاینه بالینی در گروه اختلالات بافت نرم و عضلانی-اسکلتی طبقه‌بندی شدند. دالگلیش و ریک گزارش کردند که دردهای ناحیه لومبوساکرال و ساکروایلیاک در اسب‌های عرب مسابقه‌ای خاورمیانه نسبتاً شایع بوده و می‌توانند به‌صورت لنگش اندام‌های حرکتی خلفی یا کاهش عملکرد ورزشی تظاهر یابند (۱۳). همچنین بوسول و همکاران دردهای مزمن ناحیه ساکروایلیاک را یکی از مشکلات رایج اسب‌های پرش نمایشی معرفی کرده‌اند (۱۴). در مطالعه حاضر نیز دو سوم موارد کمردرد در اسب‌های پرشی مشاهده شد که احتمالاً با فشارهای بیومکانیکی ناشی از پرش، فرودهای مکرر و بارگیری طولانی مدت ستون مهره‌ها مرتبط است.

در گروه آسیب‌های استخوانی - مفصلی، قفل شدگی فوقانی کشک (Upward Fixation of the Patella, UFP) شایع‌ترین اختلال مشاهده‌شده بود. بیشتر مبتلایان در

سنین پایین قرار داشتند و ۷۵ درصد موارد در اسب‌های چهار ساله مشاهده شد. این یافته با گزارش دالگلیش و ریک همخوانی دارد که UFP را یکی از شایع‌ترین اختلالات مفصل استیفل در اسب‌های جوان، به‌ویژه اسب‌های عرب مسابقه‌ای، معرفی کرده‌اند (۱۳). سور و همکاران نیز این بیماری را یکی از علل مهم درد مفصل استیفل و لنگش اندام خلفی دانسته‌اند. شیوع بیشتر این بیماری در اسب‌های جوان احتمالاً به تکامل ناکامل عضلات چهارسر ران، وضعیت بدنی نامناسب و ناپایداری نسبی مکانیسم قفل‌شدگی کشک در سنین پایین مرتبط است (۱۵).

در بررسی سایر آسیب‌های استخوانی، مشاهده موارد باکدشینز در اسب‌های مسن‌تر از الگوی کلاسیک بیماری تبعیت نمی‌کرد. آرتور و همکاران و گودمن و بیکر این بیماری را عمدتاً در اسب‌های جوان در حال تمرین گزارش کرده‌اند (۹، ۱۶). در حالی که در مطالعه حاضر، دو مورد از سه مورد باکدشینز در اسب‌های ۱۰ و ۱۲ ساله مشاهده شد. این اختلاف می‌تواند ناشی از تفاوت در نوع استفاده از اسب‌ها، مدت فعالیت ورزشی، شدت تمرین یا محدود بودن حجم نمونه مطالعه باشد و نیازمند بررسی در مطالعات گسترده‌تر است.

یکی از یافته‌های قابل توجه مطالعه حاضر، فراوانی بیشتر آسیب‌های اندام‌های حرکتی قدامی نسبت به اندام‌های حرکتی خلفی بود. این نتیجه با مطالعات متعدد انجام‌شده در اسب‌های مسابقه‌ای و ورزشی مطابقت دارد. کوبلاک گزارش کرد که بیش از ۹۰ درصد آسیب‌های مرتبط با مسابقات در اندام‌های حرکتی قدامی رخ می‌دهند. علاوه بر تحمل سهم عمده وزن بدن، اندام‌های حرکتی قدامی در جذب شوک‌های ناشی از تماس با زمین نیز نقش اصلی دارند که این امر احتمال آسیب به ساختارهای تاندونی، لیگامانی و استخوانی را افزایش می‌دهد (۱۷).

در مقابل، سور و همکاران در اسب‌های کاتینگ شیوع بیشتری از مشکلات اندام‌های حرکتی خلفی را گزارش کردند. این تفاوت احتمالاً ناشی از تفاوت در ماهیت فعالیت ورزشی است؛ زیرا در رشته کاتینگ نیروهای چرخشی و

از محدودیت‌های این مطالعه می‌توان به حجم نمونه نسبتاً محدود و انجام پژوهش در یک منطقه جغرافیایی اشاره کرد. انجام مطالعات چندمرکزی با جمعیت‌های بزرگ‌تر می‌تواند درک دقیق‌تری از اپیدمیولوژی بیماری‌های اندام حرکتی در اسب‌های ورزشی ایران فراهم سازد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اختلالات بافت نرم و بیماری‌های استخوانی - مفصلی مهم‌ترین مشکلات دستگاه حرکتی در اسب‌های باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان را تشکیل می‌دهند، در حالی که اختلالات مرتبط با سم سهم نسبتاً محدودی در بروز لنگش داشتند. تورم تاندون شایع‌ترین عارضه در تشخیص بالینی در جمعیت مورد مطالعه بود و عمدتاً در اسب‌های بالغ و در اندام‌های حرکتی قدامی مشاهده شد. همچنین فراوانی قابل توجه کمردرد و قفل شدگی فوقانی کشکک نشان‌دهنده اهمیت توجه به اختلالات ناحیه پشت و مفصل استیفل در برنامه‌های پایش سلامت اسب‌های ورزشی است. الگوی توزیع بیماری‌ها در این مطالعه با بسیاری از گزارش‌های بین‌المللی همخوانی داشت و نقش عوامل مرتبط با نوع فعالیت ورزشی، سن و بارهای مکانیکی وارد بر اندام‌های حرکتی را برجسته ساخت. بر این اساس، اجرای برنامه‌های منظم معاینه ارتوپدی، تشخیص زودهنگام آسیب‌های تاندونی و مفصلی، بهینه‌سازی مدیریت تمرین و توجه ویژه به شرایط نگهداری و نعل‌بندی می‌تواند در کاهش شیوع لنگش و بهبود عملکرد ورزشی اسب‌ها مؤثر باشد.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکرده‌اند.

شتاب‌گیری ناگهانی بیشتری بر اندام‌های حرکتی خلفی وارد می‌شود، در حالی که در اسب‌های سواری و پرشی مورد بررسی در مطالعه حاضر، فشار مکانیکی بیشتری متوجه اندام‌های حرکتی قدامی است (۱۵).

آسیب‌های سم کمترین سهم را در جمعیت مورد مطالعه داشتند. با این حال، اهمیت این گروه از بیماری‌ها نباید نادیده گرفته شود. بوسول و همکاران درد ناحیه سم را شایع‌ترین علت لنگش در اسب‌های پرش معرفی کردند (۱۴). میشف گزارش کرد که اختلالات مرتبط با دستگاه نوبکولار، شامل آسیب‌های استخوان نوبکولار و ساختارهای نرم اطراف آن، از علل مهم لنگش در اسب‌های ورزشی و استقامتی محسوب می‌شوند (۱۸). در مطالعه حاضر نیز مواردی از سندرم نوبکولار شناسایی شد که اهمیت این ناحیه آناتومیکی را در بروز لنگش نشان می‌دهد. فراوانی پایین‌تر آسیب‌های سم در مطالعه حاضر احتمالاً نشان‌دهنده وضعیت نسبتاً مطلوب نعل‌بندی و مراقبت از سم در باشگاه‌های مورد بررسی است، هرچند حجم نمونه محدود مطالعه نیز می‌تواند در این موضوع نقش داشته باشد.

به طور کلی، یافته‌های این پژوهش نشان می‌دهد که الگوی بیماری‌های اندام‌های حرکتی در اسب‌های باشگاه‌های سوارکاری شهرستان زرقان تا حد زیادی با الگوهای گزارش‌شده در سایر جمعیت‌های اسب ورزشی جهان همخوانی دارد. با این حال، تفاوت‌هایی در فراوانی برخی بیماری‌ها مشاهده شد که احتمالاً تحت تأثیر نوع فعالیت ورزشی، شرایط مدیریتی، کیفیت سطوح تمرینی و ویژگی‌های جمعیت مورد مطالعه قرار دارد. از دیدگاه کاربردی، نتایج این مطالعه بر اهمیت پایش منظم سلامت تاندون‌ها، توجه ویژه به اختلالات ناحیه پشت و کمر، ارزیابی دوره‌ای مفصل استیفل در اسب‌های جوان و بهبود برنامه‌های تمرینی و مدیریتی تأکید می‌کند.

منابع

1. Barrey E. Biomechanics of locomotion in the athletic horse. *Equine Exercise Physiology: the science of exercise in the athletic horse*. 2008 Feb 6:143-68. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7020-4771-8.00010-7>
2. Van Weeren PR, Pfau T, Rhodin M, Roepstorff L, Serra Bragança F, Weishaupt MA. Do we have to redefine lameness in the era of quantitative gait analysis?. *Equine veterinary journal*. 2017 Sep;49(5):567-9. <https://doi.org/10.1111/evj.12715>
3. Dockery A, Beasley B, Moorman VJ. Review of experimental equine synovitis models for inducing lameness. *Equine Veterinary Education*. 2025 Oct;37(10):547-60. <https://doi.org/10.1111/eve.14207>
4. Thorpe CT, Clegg PD, Birch HL. A review of tendon injury: why is the equine superficial digital flexor tendon most at risk?. *Equine veterinary journal*. 2010 Mar;42(2):174-80. <https://doi.org/10.2746/042516409X480395>
5. Marshall-Gibson ME, Durham MG, Seabaugh KA, Moorman VJ, Ferris DJ. Survey of equine veterinarians regarding primary equine back pain in the United States. *Frontiers in Veterinary Science*. 2023 Jul 26;10:1224605. <https://doi.org/10.3389/fvets.2023.1224605>
6. Merridale-Punter MS, Wiethoelter AK, El-Hage CM, Hitchens PL. Prevalence and factors associated with working equid lameness in low-and middle-income countries: A systematic review and meta-analysis. *Animals*. 2022 Nov 10;12(22):3100. <https://doi.org/10.3390/ani12223100>
7. van Loon G, Decloedt A, Hinchcliff K, Kaneps A, Geor R, van Erck-Westergem E. *Equine Sports Medicine and Surgery*. <https://doi.org/10.1016/C2019-0-00789-3>
8. Boden LA, Anderson GA, Charles JA, Morgan KL, Morton JM, Parkin TD, Slocombe RF, Clarke AF. Risk of fatality and causes of death of Thoroughbred horses associated with racing in Victoria, Australia: 1989–2004. *Equine Veterinary Journal*. 2006 Jul;38(4):312-8. <https://doi.org/10.2746/042516406777749182>
9. Arthur RM, Blea JA, Ross MW, Moloney PJ, Cheney MW. The North American Thoroughbred. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* 2011 Jan 1 (pp. 977-993). WB Saunders. <https://www.sciencedirect.com/science/book/9781416060697>
10. Wollenman P, McMahon PJ, Knapp S, Ross MW. Lameness in the polo pony. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* 2003 Jan 1 (pp. 1003-1017). WB Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00119-X>
11. Dowling BA, Dart AJ. Mechanical and functional properties of the equine superficial digital flexor tendon. *The Veterinary Journal*. 2005 Sep 1;170(2):184-92. <https://doi.org/10.1016/j.tvjl.2004.03.021>
12. Pilsworth RC. The European Thoroughbred. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* 2011 Jan 1 (pp. 994-1013). WB Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00107-3>
13. Dalglish RA, Rick MC. Lameness in the Arabian Racehorse: Middle East and North America. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* 2011 Jan 1 (pp. 1057-1061). WB Saunders.

- <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00111-5>
14. Boswell RP, Mitchell RD, Dyson SJ. Lameness in the show hunter and show jumper. *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 2003:965-75. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-6069-7.00115-2>
 15. Swor TM, Dabareiner RM, Honnas CM, Cohen ND, Black JB. Musculoskeletal problems associated with lameness and poor performance in cutting horses: 200 cases (2007–2015). *Journal of the American Veterinary Medical Association*. 2019 Mar 1;254(5):619-25. <https://doi.org/10.2460/javma.254.5.619>
 16. Goodman NL, Baker BK. Lameness diagnosis and treatment in the Quarter Horse racehorse. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice*. 1990 Apr 1;6(1):85-108. [https://doi.org/10.1016/S0749-0739\(17\)30558-8](https://doi.org/10.1016/S0749-0739(17)30558-8)
 17. Kobluk CN. Epidemiology of racehorse injuries. In *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse* 2003 Jan 1 (pp. 861-867). WB Saunders. <https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-8342-3.50113-3>
 18. Misheff MM, Alexander GR, Hirst GR. Management of fractures in endurance horses. *Equine Veterinary Education*. 2010 Dec;22(12):623-30. <https://doi.org/10.1111/j.2042-3292.2010.00150.x>

Abstracts in English

Prevalence and Distribution of Musculoskeletal Disorders in Riding and Jumping Horses from Equestrian Clubs in Fars Province: A Cross-Sectional Study

Abolfazl Fathhi¹, Aboutorab Tabatabaei Naeini^{1*}, Fatemeh Rahsepar¹

1. Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

* t-naeini@shirazu.ac.ir

Background: Locomotor diseases and lameness are significant health issues for horses, leading to considerable economic losses for the horse breeding industry and equestrian clubs each year. Understanding the prevalence patterns of these conditions and their associated factors is crucial for the prevention, early diagnosis, and effective management of these disorders.

Objectives: This study aims to determine the frequency and occurrence patterns of locomotor lesions in horses used in equestrian clubs in Zarqan city and to investigate the relationship of these lesions with the age and sex of the affected animals.

Methods: A descriptive cross-sectional study was conducted involving 50 horses used for riding and jumping in equestrian clubs in Zarqan city. The diagnosis of musculoskeletal lesions was determined through clinical examinations, orthopedic diagnostic tests, radiographic evaluations, and, in cases like tendonitis, ultrasound assessments. The identified lesions were categorized into three main groups: bone and joint lesions, soft tissue lesions, and hoof lesions. The frequency of each type of lesion was recorded based on the age and sex of the horses.

Results: The findings indicated that soft tissue lesions were the most prevalent type of locomotor injury among the horses studied, with tendonitis being the most commonly observed lesion, occurring in 24% of the cases. Back pain ranked second, with a prevalence of 12%. In contrast, hoof-related lesions were found to be the least common among locomotor disorders and lameness cases.

Conclusion: This study concludes that soft tissue lesions, particularly tendonitis, are the most critical locomotor issues affecting horses in equestrian clubs in the Zarqan region. Attention to proper training management, improved maintenance conditions, and the implementation of preventive programs could be effective in reducing the incidence of these lesions, ultimately enhancing the health and athletic performance of the horses.

Keywords: Horse, Lameness, Locomotor Disorders, Tendonitis, Back pain



التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

<http://eltiamjournal.ir/>

ارزیابی اثر ملاتونین خوراکی بر تابلوی خونی به دنبال جراحی برداشت تخمدان در سگ

خسرو صفری نیکرو^۱، احمد رضا محمدنیا^{۱*}، حسین کاظمی مهرجردی^۱، صبا احمدی^۲

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲. متخصص کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی، مشهد، ایران

*mohamadnia@um.ac.ir



<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.2>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۰۵، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۲۲



کپی رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد؛ کپی برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان. ناشر: انجمن دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: جراحی برداشت تخمدان از مداخلات رایج در سگ‌های ماده است که می‌تواند با پاسخ‌های استرسی و التهابی و در نتیجه تغییراتی در شاخص‌های هماتولوژیک همراه باشد. ملاتونین به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده ایمنی ممکن است در پاسخ‌های فیزیولوژیک ناشی از استرس جراحی نقش داشته باشد. مطالعه حاضر به صورت کارآزمایی تصادفی کنترل‌شده با هدف بررسی تغییرات هماتولوژیک پس از جراحی برداشت تخمدان در سگ‌های ماده انجام شد.

هدف: ارزیابی تغییرات شاخص‌های هماتولوژیک پس از جراحی برداشت تخمدان در سگ‌های ماده و بررسی ارتباط احتمالی این تغییرات با تجویز خوراکی ملاتونین.

روش کار: در این مطالعه ۱۸ قلاده سگ ماده سالم به طور تصادفی در سه گروه شامل بیهوشی تنها، برداشت تخمدان بدون دریافت ملاتونین و برداشت تخمدان همراه با تجویز خوراکی ملاتونین (۰.۳ mg/kg) تقسیم شدند. نمونه‌های خون در روزهای ۱-، ۰، ۳+ و ۸+ جمع‌آوری و شاخص‌های هماتولوژیک اندازه‌گیری شد. داده‌ها با استفاده از آزمون‌های ناپارامتریک و در سطح معنی‌داری ۰.۰۵ تحلیل شدند.

نتایج: پس از جراحی، در گروه برداشت تخمدان بدون ملاتونین افزایش معنی‌داری در برخی شاخص‌ها از جمله مونوسیت‌ها، هموگلوبین و MCHC مشاهده شد. همچنین تغییراتی در WBC، گرانولوسیت‌ها و برخی شاخص‌های اریتروسیتی طی دوره پس از عمل ثبت گردید که عمدتاً در محدوده فیزیولوژیک باقی ماندند. در گروه دریافت‌کننده ملاتونین نیز تغییراتی در برخی پارامترها مشاهده شد، اما الگوی نتایج امکان تعیین نقش مستقیم ملاتونین را فراهم نکرد.

نتیجه‌گیری نهایی: جراحی برداشت تخمدان در سگ‌های ماده می‌تواند با تغییرات خفیف و عمدتاً گذرای هماتولوژیک همراه باشد. اگرچه برخی تفاوت‌ها بین گروه‌ها مشاهده شد، مطالعه حاضر شواهد قطعی مبنی بر اینکه ملاتونین مستقیماً پاسخ‌های خونی پس از عمل را تغییر می‌دهد، ارائه نمی‌دهد.

کلمات کلیدی: عقیم‌سازی، ملاتونین، سگ ماده، لکوسیت، پاسخ التهابی

مقدمه

مشاهده شد که نشان‌دهنده فعال شدن پاسخ التهابی سیستمیک پس از مداخله جراحی است (۸). این یافته‌ها نشان می‌دهد که مداخلات جراحی در سگ‌ها ممکن است موجب بروز تغییرات قابل اندازه‌گیری در شاخص‌های خون‌شناسی شوند و بازتاب فعال شدن هم‌زمان مسیرهای التهابی و پاسخ استرس سیستمیک در دوره پس از جراحی هستند.

علاوه بر این، استرس فیزیولوژیک ناشی از جراحی و بیهوشی با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروژن منجر به بروز استرس اکسیداتیو می‌شود. این وضعیت از طریق القای پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب به غشای سلول‌های خونی، پایداری و طول عمر آن‌ها را تحت تأثیر قرار می‌دهد و ممکن است باعث بروز تغییراتی در شاخص‌های اریتروئیدی گردد. برای مثال در مطالعه‌ی تجربی بر روی سگ‌های ماده سالم که با پروتوکل خاصی بیهوش شده بودند و تحت عمل جراحی قرار گرفته بودند، برداشت رحم و تخمدان موجب تغییراتی گذرا اما قابل‌توجه در شاخص‌های خون‌شناسی از جمله کاهش تعداد سلول‌های قرمز خونی (RBC) و هماتوکریت (HCT) و افزایش WBC و نوتروفیل‌ها می‌شود که به‌تدریج در دوره‌ی پس از جراحی به وضعیت طبیعی باز می‌گردند (۹).

با توجه به تغییرات فیزیولوژیک، پاسخ‌های التهابی و فرایندهای مربوط به استرس اکسیداتیو که در پی مداخلات جراحی ایجاد می‌شوند، توجه به عوامل مؤثر در تعدیل این واکنش‌ها اهمیت ویژه‌ای یافته است. در این میان، ملاتونین هورمونی اندوژن است که عمدتاً توسط غده‌ی صنوبری (Pineal Gland) ترشح می‌شود (۱۰)، ملاتونین پس از ترشح از طریق دو مسیر اصلی گیرنده‌محور و مستقل از گیرنده، اثر خود را اعمال می‌کند. در مسیر گیرنده‌ای، این هورمون با اتصال به گیرنده‌های غشایی mT1 و mT2 از خانواده G-protein-coupled-receptors که در بافت‌های محیطی و سیستم عصبی مرکزی گسترده‌اند، پاسخ‌های

برداشت تخمدان (Ovariectomy) یکی از روش‌های متداول جراحی در دامپزشکی حیوانات کوچک است که به‌عنوان شیوه‌ای مؤثر برای کنترل تولیدمثل و پیشگیری از اختلالات وابسته به هورمون در سگ‌های ماده به‌کار می‌رود (۳-۱). اگرچه این جراحی به‌طور کلی ایمن محسوب می‌شود، اما همچنان یک مداخله تهاجمی است که با بیهوشی، آسیب بافتی و استرس پس از عمل همراه بوده و سبب بروز پاسخ‌های سیستمیک در بدن حیوان می‌شود (۴، ۵). شناخت این واکنش‌ها، به‌ویژه تغییراتی که در شاخص‌های خونی پس از جراحی رخ می‌دهد، به مدیریت دقیق‌تر دوره پس از عمل و کاهش عوارض احتمالی کمک می‌کند.

مراحل مختلف جراحی از جمله برش پوست، دستکاری و کشش بافت‌ها، جداسازی لیگامان‌ها و لیگاتور عروق با ایجاد آسیب بافتی موجب فعال شدن پاسخ التهابی حاد می‌شوند. در نتیجه این فرآیند، تغییراتی در شاخص‌های خون‌شناسی به‌ویژه در جمعیت لکوسیت‌ها رخ می‌دهد و افزایش تعداد گلبول‌های سفید (WBC)، گرانولوسیت‌ها (Granulocyte) و مونوسیت‌ها (Monocyte) به‌عنوان بخشی از پاسخ ایمنی و التهابی سیستمیک مشاهده می‌شود (۶). مرور مطالعات پیشین نیز این الگو را تأیید می‌کند؛ به‌طوری‌که در چندین پژوهش گزارش شده است سگ‌ها و گربه‌هایی که تحت جراحی‌های شکمی، از جمله برداشت رحم و تخمدان قرار گرفتند، پس از جراحی افزایش معنی‌داری در شمارش کل لکوسیت‌ها (WBC)، نوتروفیلی و مونوسیتوز نشان می‌دهند. در یک مطالعه بر روی گربه‌هایی که جراحی عقیم‌سازی را پشت سر گذاشته‌اند، افزایش معنی‌دار تعداد گلبول‌های سفید و نوتروفیل‌ها در ساعات اولیه پس از جراحی گزارش شد که بیان‌گر بروز پاسخ التهابی حاد ناشی از آسیب جراحی بود (۷). همچنین در مطالعه‌ای بر روی سگ‌های ماده تحت جراحی برداشت رحم و تخمدان، نوتروفیلی همراه با افزایش پروتئین‌های فاز حاد

هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز ملاتونین بر شاخص‌های خون‌شناسی پس از جراحی برداشت تخمدان در سگ‌های ماده است. فرض بر این است که ملاتونین با تعدیل پاسخ‌های التهابی و استرس اکسیداتیو بتواند شدت تغییرات خون‌شناسی پس از جراحی را کاهش دهد. (۲۰-۲۲).

مواد و روش کار

طراحی مطالعه و حیوانات

این مطالعه به صورت یک کارآزمایی تصادفی کنترل‌شده (Randomized control trial) در بیمارستان آموزشی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد انجام شد و پروتکل آن توسط کمیته اخلاق دانشگاه (IR.UM.REC.1405.023) مورد تأیید قرار گرفت. در این مطالعه ۱۸ قلاده سگ ماده سالم از نژادهای بومی با سن ۱ تا ۳ سال و وزن ۱۵ تا ۲۵ کیلوگرم که از یک پناهگاه حیوانات تهیه شده بودند، مورد استفاده قرار گرفتند. سگ‌ها به صورت انفرادی در شرایط محیطی کنترل‌شده نگهداری شدند و جیره غذایی تجاری استاندارد همراه با دسترسی آزاد به آب دریافت کردند. پیش از شروع آزمایش، حیوانات به مدت سه هفته برای تطابق با شرایط محیطی نگهداری شدند و وضعیت سلامت عمومی آن‌ها در طول مطالعه به طور منظم پایش شد.

سگ‌ها به صورت تصادفی توسط Computer-generated randomization در سه گروه (هر گروه ۶ قلاده) شامل گروه بیهوشی (گروه ۱)، گروه برداشت تخمدان بدون ملاتونین (گروه ۲) و گروه برداشت تخمدان همراه با ملاتونین (گروه ۳) تقسیم شدند. در گروه ۱، حیوانات تنها تحت بیهوشی عمومی قرار گرفتند و هیچ‌گونه مداخله جراحی انجام نشد. در گروه ۲ جراحی برداشت تخمدان به روش معمول از رهیافت خط میانی بدن تحت بیهوشی عمومی استنشاقی بدون تجویز ملاتونین انجام شد. در گروه ۳ حیوانات ملاتونین (۰/۳ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) (Razak, Tehran) از یک روز قبل از جراحی تا روز هشتم پس از

سلولی وابسته به پیام‌رسان‌های دوم را تعدیل می‌کند (۱۲). محل اتصال سوم MT3 (۱۳)، که به تازگی به عنوان آنزیم کینون ردوکتاز-۲ (QR2/NRH) شناخته شده است، با جلوگیری از انتقال الکترون از کوئینون‌ها در حفظ تعادل ردوکس و محافظت در برابر استرس اکسیداتیو نقش دارد. در مسیر مستقل از گیرنده، ملاتونین مستقیماً رادیکال‌های آزاد را پاک‌سازی کرده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز و گلوکز-۶-فسفات دهیدروژناز را افزایش می‌دهد و همچنین از طریق متابولیت‌های خود، یک آبشار آنتی‌اکسیدانی مؤثر ایجاد می‌کند. بدین ترتیب، ملاتونین هم به صورت گیرنده‌محور و هم به صورت به صورت پاک‌کننده مستقیم رادیکال‌های آزاد نقش حفاظتی خود را اعمال می‌نماید (۱۴).

این هورمون افزون بر نقش آنتی‌اکسیدانی خود، از طریق تعدیل مسیرهای ایمنی و التهاب دارای اثرات ضدالتهابی بارزی است (۱۵) که با مهار فعال‌سازی مسیر NF- κ B و کاهش بیان نیتریک اکساید سینتاز (۱۵، ۱۶) (NOS)، منجر به کاهش تولید سایتوکاین‌های پیش‌التهابی و واسطه‌های التهابی می‌شود. همچنین ملاتونین از طریق تحریک تولید سایتوکاین‌های ضدالتهابی به‌ویژه IL-10، تعادل ایمنی را به سمت پاسخ ضدالتهابی سوق می‌دهد (۱۷). از سوی دیگر، مهار گیرنده TLR4 که یکی از مسیرهای کلیدی در ایجاد آسیب‌های التهابی به‌ویژه در شرایط ایسکمی - پرفیوژن است، از دیگر سازوکارهای ضدالتهابی ملاتونین محسوب می‌شود (۱۸). توانایی ملاتونین و متابولیت‌های نسل اول تا سوم آن در پاک‌سازی رادیکال‌های فعال اکسیژن و نیتروژن مانند ROS و RNS نقش مکملی در کاهش التهاب ایفا کرده و با محدود کردن آسیب‌های نیتروژن‌آتیو، به حفظ عملکرد سلولی و کاهش مرگ سلولی کمک می‌کند (۱۴، ۱۹).

با وجود گزارش اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی ملاتونین در مدل‌های مختلف حیوانی، اطلاعات محدودی در خصوص تأثیر آن بر تغییرات خون‌شناسی ناشی از برداشت تخمدان در سگ‌های ماده وجود دارد. بنابراین،

(5ml/kg/hr) در طول بیهوشی و جراحی تجویز شد. به منظور ایجاد بی‌دردی پیش از جراحی، ملوکسیکام (0.2 mg/kg Sc) (Rooyan darou, Semnan) تزریق شد. با توجه به انجام جراحی تحت شرایط کاملاً استریل، آنتی‌بیوتیک پیش و پس از عمل تجویز نشد. القای بیهوشی با تزریق داخل‌وریدی کتامین (6 mg/kg) (Neurotranq, Alfasan Holan) به همراه میدازولام (0.25 mg/kg) (DarouPakhsh, Iran) انجام شد. پس از لوله‌گذاری داخل‌نای، بیهوشی عمومی با ایزوفلوران با غلظت ۲ درصد در اکسیژن ۱۰۰ درصد نگهداری شد. پس از آماده‌سازی آسپتیک (Aseptic) لاپاراتومی از طریق برش خط میانی شکم (Ventral midline) انجام شد. برش پوستی حدود ۱ سانتی‌متر از خلف ناف شروع شده و به سمت لبه استخوان شرمگاهی (Pubis) (حدود ۴ تا ۸ سانتی‌متر بسته به اندازه حیوان) ادامه یافت. پس از برش خط سفید و ورود به حفره شکمی، شاخ رحم با استفاده از هوک عقیم‌سازی (Spay hook) خارج شد و تخمدان بیرون کشیده شد. لیگامان‌های معلقه (Suspensory ligaments) با فشار انگشت آزاد شدند و پایه‌های تخمدانی با نخ قابل جذب به صورت دوپل لیگاتور گردیدند. لیگاتورهای دیگر در بخش خلف تخمدان‌ها قرار داده شد و سپس تخمدان‌ها بین لیگاتورهای قطع و خارج شدند. پس از بازگرداندن شاخ رحم به حفره شکمی، خون‌بندی به‌طور کامل بررسی شد. در پایان، محل برش به‌صورت روتین و لایه‌به‌لایه بسته شد؛ به‌گونه‌ای که دیواره شکم و بافت زیرجلدی با نخ قابل جذب ترمیم و پوست با بخیه اینترادرمال بسته شد (۲۳). پس از پایان جراحی تا دو هفته بعد از آن، زخم محل جراحی حیوانات برای وجود هرگونه التهاب، عفونت، ترشحات و از هم گسستگی به‌طور مرتب پایش گردید.

آنالیز آماری

آنالیزهای آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۸ انجام شد. با توجه به حجم نمونه کم، از آزمون‌های ناپارامتریک برای تحلیل داده‌ها استفاده گردید. تغییرات

جراحی روزی یک نوبت هر بعد از ظهر به صورت خوراکی دریافت کردند (۲۲). تمامی جراحی‌ها در روز صفر توسط یک تیم جراحی انجام شد. پیش از ورود حیوانات به مطالعه، یک نمونه خون از ورید وداجی از هر سگ جمع‌آوری شد. این نمونه در لوله‌های بدون ماده ضدانعقاد قرار داده شد و پس از جداسازی سرم، آزمایش‌های بیوشیمیایی پایه با استفاده از دستگاه اتوآنالایزر Mindray Bio-Medical) Mindray BS-330 (Electronics Co., China) به منظور ارزیابی سلامت عمومی و بررسی عملکرد کبد و کلیه انجام شد. نمونه‌های خون از ورید وداج (Jugular vein) در روز ۱- (۲۴) ساعت پیش از جراحی، بلافاصله پس از جراحی (روز ۰)، روز سوم (+۳) و روز هشتم (+۸) پس از جراحی گرفته شد.

نمونه‌گیری

همچنین، نمونه خون‌های جمع‌آوری شده در چهارنوبت نمونه‌گیری در لوله‌های حاوی EDTA برای انجام شمارش کامل سلول‌های خونی با استفاده از دستگاه سل کانتر Celltac Alpha VET MEK-6550K (Nihon Kohden, Japan) جمع‌آوری و بررسی شدند. تمامی آنالیزهای آزمایشگاهی بر اساس روش‌های استاندارد کیت شرکت نوند سلامت (Novin Navand Salamat) (Pishtaz Co., Iran) انجام شد. تیم جراحی نسبت به دریافت یا عدم دریافت دارو کور بود. همچنین فرد نمونه‌گیر و کارکنان آزمایشگاه در زمان انجام آزمایش‌ها از تخصیص گروه‌ها آگاه نبودند.

بیهوشی و روش جراحی

حیوانات پیش از جراحی به مدت ۸ تا ۱۰ ساعت پرهیز غذایی داشتند. پیش‌بیهوشی با آسپرومازین (0.05mg/kg, IM) (Neurotranq, Alfasan) انجام شد و ۱۰ دقیقه بعد نیز مورفین (0.5mg/kg, IM) (DarouPakhsh, Iran) تجویز گردید. پس از ایجاد آرام‌بخشی، آنژیوکت داخل ورید سفالیک راست قرار داده شد و محلول نرمال‌سالین

بیشتر از سایر گروه‌ها گزارش شد. علاوه بر این، مقدار MCHC در روز ۳ پس از جراحی در گروه اواریکتومی نسبت به سایر گروه‌ها به‌طور معنی‌داری بالاتر بود. نتایج مقایسه‌های بین‌گروهی در جدول ۱ ارائه شده است.

مقایسه درون‌گروهی (نسبت به روز ۱-): شاخص WBC در گروه اواریکتومی در تمام روزهای پس از جراحی نسبت به مقدار پایه تغییر معنی‌داری نشان داد. شاخص RBC در گروه کنترل در روزهای ۰ و ۸ و در گروه اواریکتومی + ملاتونین تنها در روز ۰ نسبت به پایه تغییر معنی‌داری داشت. هموگلوبین در گروه کنترل و گروه اواریکتومی + ملاتونین در روز ۰ نسبت به روز ۱- به‌طور معنی‌داری متفاوت بود. تغییرات HCT فقط در گروه کنترل مشاهده شد (روزهای ۰ و ۸ نسبت به پایه). شاخص MCV در گروه کنترل در روز ۳ و در گروه اواریکتومی در هر سه زمان پس از جراحی نسبت به مقدار پایه اختلاف معنی‌داری داشت. همچنین گرانولوسیت‌ها در گروه اواریکتومی در تمام روزهای پس از جراحی و لنفوسیت‌ها در گروه اواریکتومی + ملاتونین در روز ۰ نسبت به مقدار پایه تغییر معنی‌داری نشان دادند. جزئیات کامل نتایج در جدول ۱ ارائه شده است.

درون‌گروهی در طول زمان با آزمون Friedman ارزیابی شد و در صورت مشاهده اختلاف معنی‌دار، مقایسه‌های پس‌آزمون با Wilcoxon signed-rank test انجام گرفت. برای مقایسه بین‌گروهی، در صورتی که اختلاف معنی‌دار پس از تعدیل مقادیر پایه مشاهده می‌شد، از آزمون Quade استفاده شد. در صورتی که مقادیر پایه تفاوت معناداری نداشتند، مقایسه گروه‌ها با آزمون Kruskal-Wallis و متعاقباً مقایسه‌های زوجی (Post-hoc) با آزمون Mann-Whitney U انجام گرفت داده‌ها به‌صورت میانه و دامنه بین‌چارکی گزارش شدند و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.

نتایج

بررسی شاخص‌های پایه (روز ۱-) نشان داد که به‌جز مواردی که ذکر می‌شود، سایر شاخص‌های خون‌شناسی و بیوشیمی در زمان پیش‌عمل بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری نداشتند ($p > 0.05$).

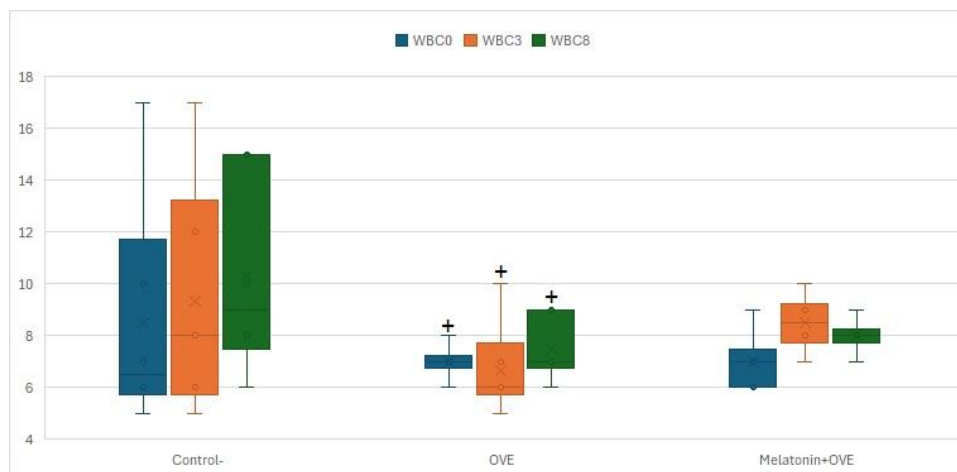
مقایسه بین‌گروهی: در برخی زمان‌ها اختلاف‌های معنی‌دار بین گروه‌ها مشاهده شد. در روز ۰ تعداد مونوسیت‌ها در گروه اواریکتومی به‌طور معنی‌داری بالاتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین در همین روز، غلظت هموگلوبین در گروه اواریکتومی به‌صورت معنی‌داری

جدول ۱. شاخص‌های التهابی (میانه دامنه میان‌چارکی) در ۳ گروه مورد مطالعه. ■ وجود تفاوت‌های معنادار بین‌گروهی: نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار میان گروه‌های مقایسه‌شده در متغیر مورد بررسی، + وجود تفاوت‌های معنادار درون‌گروهی: بیانگر تغییرات آماری معنادار در داخل هر گروه در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری نسبت به روز ۱-، MO: Monocyte / EO: Eosinophil / GR: Granulocyte / LYM: Lymphocyte

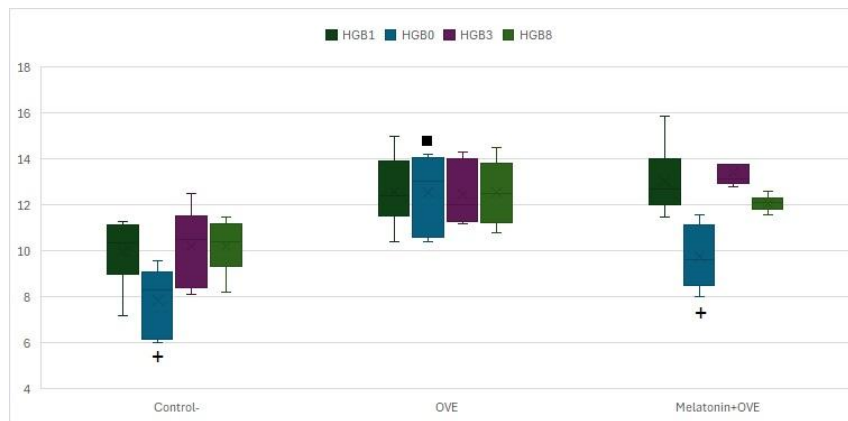
شاخص	گروه	روز ۱-	روز ۰	روز ۳	روز ۸
MO ($10^3/\text{ul}$)	کنترل	۰.۴۰ (۰.۳۰-۰.۶۵)	۰.۴۰ (۰.۳۰-۰.۵۵)	۰.۵۰ (۰.۴۵-۰.۶۷)	۰.۵۵ (۰.۳۷-۰.۶۲)
	برداشت تخمدان	۰.۷۵ (۰.۶۰-۰.۸۲)	۰.۷۰ (۰.۵۷-۰.۷۲) ■	۰.۵۰ (۰.۳۵-۰.۷۵)	۰.۸۵ (۰.۵۵-۰.۹۲)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۰.۸۵ (۰.۶۵-۱.۰۷)	۰.۵۰ (۰.۴۰-۰.۶۰)	۰.۶۵ (۰.۴۷-۰.۸۲)	۰.۷۵ (۰.۵۷-۰.۸۵)
EO ($10^3/\text{ul}$)	کنترل	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۲۷)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۲۷)	۰.۱۰ (۰.۰۰-۰.۱۲)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۱۰)
	برداشت تخمدان	۰.۰۵ (۰.۰۰-۰.۱۰)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۰۲)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۱۰)	۰.۱۰ (۰.۰۰-۰.۰۷)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۰.۰۰ (۰.۰۰-۰.۱۰)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۰۰)	۰.۰ (۰.۰۰-۰.۱۰)	۰.۰۵ (۰.۰۰-۰.۱۰)
GR ($10^3/\text{ul}$)	کنترل	۵.۵۵ (۳.۲۵-۱۲.۷۵)	۴.۸۵ (۳.۶۵-۸.۹۲)	۵.۶۵ (۴.۵۷-۱۱.۵۷)	۶.۲۰ (۴.۳۰-۱۱.۷۲)
	برداشت تخمدان	۴.۴۰ (۴.۰۷-۶.۳۷)	۳.۶۵ (۲.۹۲-۵.۱۵)	۳.۶۵ (۳.۱۲-۵.۷۰)	۳.۸۵ (۳.۳۷-۴.۲۲)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۳.۵۰ (۳.۰۷-۵.۴۲)	۳.۶۰ (۳.۴۵-۴.۲۵)	۴.۳۰ (۳.۶۵-۴.۸۷)	۳.۴۰ (۳.۲۵-۳.۶۵)
LYM ($10^3/\text{ul}$)	کنترل	۱.۸۰ (۱.۴۷-۲.۳۷)	۱.۴۵ (۱.۲۲-۱.۹۲)	۱.۹۵ (۱.۳۷-۲.۹۲)	۲.۱۰ (۱.۷۵-۲.۳۷)
	برداشت تخمدان	۲.۹۲ (۲.۲۵-۳.۴۵)	۲.۳۵ (۱.۶۰-۲.۶۵)	۲.۱۰ (۱.۳۰-۳.۶۵)	۲.۷۵ (۲.۱۲-۳.۴۲)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۳.۴۰ (۲.۹۷-۴.۲۵)	۲.۴۵ (۲.۳۵-۲.۶۰)	۳.۵۵ (۳.۳۲-۴.۲۰)	۳.۷۵ (۳.۴۰-۴.۱۰)

جدول ۲. شاخص‌های خونی (میان دامنه میان چارکی) در ۳ گروه مورد مطالعه. داده‌ها به صورت نمایش داده شده‌اند. ■ وجود تفاوت‌های معنادار بین گروهی: نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار میان گروه‌های مقایسه‌شده در متغیر مورد بررسی. + وجود تفاوت‌های معنادار درون گروهی: بیانگر تغییرات آماری معنادار در داخل هر گروه در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری نسبت به روز ۱- RBC: Red Blood Cell / HCT: Hematocrit / PLT: Platelet. MCV: Mean Corpuscular Volume / MCH: Mean Corpuscular Hemoglobin/ MCHC: Mean Corpuscular Hemoglobin Concentration

شاخص	گروه	روز ۱-	روز ۰	روز ۳+	روز ۸+
RBC ($10^6/\text{ul}$)	کنترل	۵.۳۲(۵.۴۴-۴.۷۲)	*۴.۲۱(۴.۶۰-۳.۴۴)	۵.۶۰(۵.۸۲-۴.۶۹)	*۵.۴۸(۵.۶۹-۴.۸۲)
	برداشت تخمدان	۶.۱۵(۶.۵۶-۵.۶۷)	۵.۴۲(۶.۰۴-۴.۷۵)	۶.۰۹(۶.۴۶-۵.۵۰)	۵.۸۵(۶.۳۵-۵.۴۰)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۶.۳۵(۶.۹۲-۵.۸۰)	*۴.۸۰(۵.۵۰-۴.۱۵)	۶.۵۵(۶.۸۷-۶.۴۰)	۵.۹۵(۶.۱۲-۵.۹۰)
HCT (%)	کنترل	۳۳.۸۰(۳۳.۸۲-۲۹.۲۷)	*۲۷.۲۰(۳۰.۱۰-۲۰.۲۵)	۳۴.۴۵(۳۸.۴۲-۲۸.۸۲)	*۳۴.۱۵(۳۷.۵۲-۳۱.۱۵)
	برداشت تخمدان	۳۴.۶۰(۳۸.۵۲-۳۱.۱۵)	۳۴.۵۰(۳۸.۲۵-۳۱.۹۷)	۳۵.۴۵(۳۷.۲۰-۳۱.۶۰)	۳۴.۸۵(۳۸.۱۷-۳۱.۶۰)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۴۱.۳۵(۴۶.۴۲-۳۹.۴۵)	۳۹.۷۰(۴۱.۷۵-۳۶.۷۲)	۴۱.۲۵(۴۲.۹۵-۴۰.۴۷)	۴۱.۰۰(۴۳.۸۳-۳۸.۹۲)
PLT ($10^5/\text{ul}$)	کنترل	۲۴۳.۵۰(۳۰۳.۵۰-۱۵۱.۰۰)	-۱۸۰.۰۰(۲۵)	-۲۱۵.۵۰)	-۱۸۶.۲۵)
	برداشت تخمدان	-۱۸۴.۵۰)	-۱۷۷.۵۰)	-۱۸۳.۲۵)	-۱۸۳.۲۵)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۲۱۹.۵۰(۲۹۶.۵۰)	۲۲۱.۵۰(۳۲۰.۷۵)	۲۳۹.۰۰(۳۰۷.۵۰)	۲۲۵.۰۰(۳۰۷.۵۰)
MCV (fL)	کنترل	۶۴.۱۵(۶۵.۹۵-۵۹.۲۷)	۶۳.۹۵(۶۵.۲۷-۵۹.۴۵)	۶۴.۲۰(۶۶.۴۲-۵۹.۷۷)	۶۳.۹۵(۶۵.۷۵-۵۹.۷۵)
	برداشت تخمدان	۶۲.۷۰(۶۳.۱۲-۶۰.۶۷)	*۶۲.۱۰(۶۲.۵۲-۶۰.۳۰)	*۶۲.۴۵(۶۲.۶۵-۶۰.۱۵)	*۶۲.۲۰(۶۲.۶۷-۶۰.۴۰)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۶۳.۵۰(۶۳.۸۷-۶۲.۴۵)	۶۲.۹۰(۶۳.۸۵-۶۲.۱۰)	۶۲.۷۵(۶۳.۴۰-۶۱.۹۰)	۶۲.۸۵(۶۳.۵۵-۶۲.۶۷)
MCH (pg)	کنترل	۱۵.۶۰(۲۰.۲۲-۱۸.۰۰)	۱۹.۲۰(۲۰.۱۲-۱۸.۲۲)	۱۹.۵۵(۲۰.۰۰-۱۷.۷۲)	۱۵.۶۰(۲۰.۲۲-۱۸.۰۰)
	برداشت تخمدان	۱۹.۷۵(۱۹.۳۵-۲۰.۵)	۱۹.۸۵(۲۰.۳۰-۱۸.۷۷)	۲۰.۶۷(۱۹.۷۰-۱۹.۲۰)	۱۹.۶۵(۲۰.۳۷-۱۹.۲۰)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۲۰.۳۰(۲۱.۰۰-۱۹.۷۰)	۲۰.۱۵(۲۰.۶۵-۱۹.۹۲)	۱۹.۹۵(۲۰.۴۲-۱۹.۶۷)	۲۰.۳۰(۲۰.۴۷-۱۹.۸۷)
MCHC (g/dL)	کنترل	۳۰.۶۰(۳۱.۰۲-۳۰.۲۷)	۳۰.۳۰(۳۰.۹۷-۲۹.۹۷)	۳۰.۳۰(۳۰.۶۰-۲۹.۶۰)	۳۰.۵۵(۳۱.۰۰-۲۹.۹۵)
	برداشت تخمدان	۳۱.۳۵(۳۲.۶۰-۳۱.۱۰)	۳۱.۷۰(۳۲.۵۲-۳۱.۱۵)	۳۲.۴۵(۳۳.۱۵-۳۲.۰۰)■	۳۱.۹۵(۳۲.۴۷-۳۱.۴۷)
	برداشت تخمدان با ملاتونین	۳۲.۲۵(۳۲.۶۰-۳۱.۳۵)	۳۲.۳۰(۳۲.۹۰-۳۱.۴۲)	۳۲.۱۰(۳۲.۲۵-۳۱.۵۲)	۳۲.۰۵(۳۲.۴۲-۳۱.۸۵)



نمودار ۱. تغییرات WBC (White Blood Cell)



نمودار ۲. تغییرات Hb (Haemoglobin) وجود تفاوت‌های معنادار بین گروهی: نشان‌دهنده تفاوت آماری معنادار میان گروه‌های مقایسه‌شده در متغیر مورد بررسی. + وجود تفاوت‌های معنادار درون گروهی: بیانگر تغییرات آماری معنادار در داخل هر گروه در زمان‌های مختلف اندازه‌گیری نسبت به روز ۱-.

بحث و نتیجه‌گیری

موضوعی که با یافته‌های مطالعه حاضر هم‌راستا است. ملاتونین به واسطه‌ی ویژگی‌های آنتی‌اکسیدانی و تعدیل‌کننده‌ی سیستم ایمنی می‌تواند پاسخ‌های التهابی را کاهش دهد؛ به‌طوری‌که با مهار مسیرهای التهابی از جمله NF- κ B و کاهش تولید سیتوکین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1، IL-6 و TNF- α ، شدت واکنش التهابی را تعدیل می‌کند (۲۰، ۲۶). در مطالعه‌ی حاضر، افزایش هموگلوبین و MCHC پس از جراحی در گروه برداشت تخمدان احتمالاً بازتابی از تغلیظ خون ناشی از استرس جراحی و کاهش نسبی حجم پلاسما است. علاوه بر این، تحریک سمپاتیک و آزاد شدن گلبول‌های قرمز از ذخایر طحالی می‌تواند در این افزایش نقش داشته باشد (۲۷، ۲۸).

یافته‌های مطالعه‌ی حاضر با نتایج گزارش‌شده توسط رافه و همکاران در بررسی عوارض جراحی عقیم‌سازی در سگ‌ها در تضاد است؛ به‌طوری‌که در مطالعه‌ی مذکور، کاهش فاکتورهای اریتروسیستی به‌دنبال جراحی مشاهده شده است. این اختلاف احتمالاً ناشی از تفاوت در شرایط حین جراحی است؛ به‌گونه‌ای که در مطالعه‌ی حاضر خون‌ریزی قابل‌توجهی رخ نداد و مایع‌درمانی به‌صورت محدود و کنترل‌شده انجام شد، در حالی که در مطالعه‌ی رافه و همکاران (۲۹)، خون‌ریزی جراحی و/یا همودیلوشن ناشی از مایع‌درمانی به‌عنوان عوامل مؤثر بر کاهش شاخص‌های اریتروسیستی مطرح شده‌اند. از سوی دیگر،

مطالعه حاضر به بررسی تغییرات هماتولوژیک پس از جراحی برداشت تخمدان و نقش احتمالی ملاتونین در تعدیل این تغییرات پرداخت. یافته‌ها نشان داد جراحی برداشت تخمدان در سگ‌ها موجب نوساناتی در شاخص‌های خون‌شناسی شد که در گروه دریافت‌کننده ملاتونین معمولاً محدودتر بود. در ادامه، این نتایج در مقایسه با مطالعات پیشین و با توجه به مکانیسم‌های فیزیولوژیک احتمالی مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. افزایش مونوسیت‌ها پس از برداشت تخمدان را می‌توان به‌عنوان بخشی از پاسخ ایمنی و التهابی طبیعی بدن به تروما و آسیب بافتی ناشی از جراحی تفسیر کرد (۲۴). این یافته با نتیجه مطالعات کومار و همکاران (۲۵) که مارکرهای التهابی را پس از جراحی رحم و تخمدان در سگ ارزیابی کردند همخوانی دارد. مونوسیت‌ها در مواجهه با استرس جراحی از مغز استخوان به جریان خون آزاد شده و با مشارکت در پاک‌سازی بقایای سلولی و آغاز فرایندهای ترمیمی نقش مهمی در تنظیم پاسخ التهابی ایفا می‌کنند؛ از این‌رو افزایش آن‌ها می‌تواند بیانگر فعال شدن مکانیسم‌های دفاعی و ترمیمی پس از جراحی برداشت تخمدان باشد. از سوی دیگر، مطالعه‌ای که بر روی جراحی کاتاراکت در سگ‌ها انجام شده است نشان می‌دهد که تجویز ملاتونین نیز پس از عمل می‌تواند شدت التهاب و عوارض پس‌اجراحی را کاهش دهد؛

در گروه دریافت‌کننده‌ی ملاتونین، تغییرات هموگلوبین و MCHC پس از جراحی از نظر آماری معنی‌دار نبود. اگرچه انتساب قطعی این یافته به اثرات ملاتونین امکان‌پذیر نیست، اما ممکن است تفاوت در شدت پاسخ استرسی، وضعیت تعادل مایعات، یا سایر عوامل فردی در این موضوع نقش داشته باشد. روشن‌سازی این ارتباط نیازمند طراحی مطالعات آینده با کنترل دقیق‌تر متغیرهای مداخله‌گر است. در این پژوهش کاهش شمارش کل لوکوسیت‌ها و گرانولوسیت‌ها در گروه برداشت تخمدان و نیز افت لنفوسیت‌ها در گروه دریافت‌کننده ملاتونین ممکن است بیانگر نوعی پاسخ ایمنی پویا باشد که احتمالاً از پدیده‌هایی مانند توزیع مجدد سلولی و نیز اثرات تعدیلی ملاتونین بر فعالیت‌های ایمنی ناشی شده باشد. با وجود اینکه معمولاً پس از تروما یا مداخله جراحی افزایش تعداد گلبول‌های سفید به عنوان بخشی از پاسخ التهابی انتظار می‌رود، در مطالعه حاضر کاهش در دوره پس از جراحی مشاهده شد. یافته‌ای مشابه در مطالعه‌ای بر روی بیماران تحت جراحی‌های داخل عروقی شامل TAVI، EVAR و TEVAR گزارش شده است (۳۰)؛ به‌طوری‌که کاهش قابل توجه اما گذرای تعداد گلبول‌های سفید پس از جراحی مشاهده شد و این کاهش پس از گذشت مدتی به مقادیر طبیعی بازگشت. همچنین در مطالعه ما و سوجیما و همکاران این پدیده با بروز عفونت ارتباطی نداشت. بنابراین، به نظر می‌رسد کاهش اولیه لکوسیت‌ها پس از مداخلات جراحی می‌تواند یک پاسخ فیزیولوژیک موقتی به استرس جراحی باشد که احتمالاً به دلیل توزیع مجدد یا حاشیه‌نشینی لکوسیت‌ها در بافت‌ها رخ می‌دهد. همچنین در مطالعه روزنبرگر و همکاران نشان داده شد که بازتوزیع سلول‌های ایمنی در جریان جراحی می‌تواند بخشی از پاسخ سازگارانه بدن بوده و با روند بهبود پس از عمل مرتبط باشد؛ بنابراین تغییرات گذرای شمارش لکوسیت‌ها لزوماً نشان‌دهنده سرکوب ایمنی نیستند (۳۱).

از سوی دیگر، بعید به نظر می‌رسد که کاهش لنفوسیت‌ها در گروه ملاتونین ناشی از اثر مستقیم این دارو باشد، زیرا

ملاتونین عمدتاً دارای اثرات تعدیل‌کننده بر سیستم ایمنی است و به‌طور معمول موجب کاهش آن نمی‌شود. در مقابل، استرس جراحی با افزایش گلوکوکورتیکوئیدها می‌تواند موجب بازتوزیع لنفوسیت‌ها از خون محیطی به بافت‌ها شده و در نتیجه لنفوپنی گذرا ایجاد کند (۳۲).

شاخص‌های اریتروسیتی در این مطالعه دچار تغییرات درون‌گروهی نیز شدند؛ به‌طوری‌که فاکتورهایی مانند RBC، HCT، MCV و Hb در روزهای پس از عمل در برخی از گروه‌ها مقادیر کمتری نسبت به مقادیر پایه نشان دادند. یافته‌های این مطالعه با نتایج گزارش‌شده در تحقیقات پیشین همخوانی دارد. به‌عنوان مثال، واتنیکف و همکاران (۳۳) بروز کم‌خونی را تا هفت روز پس از بروز اتساع - چرخش معده (GDV) و انجام جراحی مربوطه در سگ‌ها گزارش کردند. همچنین در مطالعه‌ای دیگر، کاهش برخی شاخص‌های هماتولوژیک از جمله RBC، HCT و MCV پس از جراحی عقیم‌سازی در سگ‌ها مشاهده شد، هرچند مقادیر این پارامترها در مطالعه دوم همچنان در محدوده طبیعی باقی مانده بودند (۳۴).

با توجه به اینکه این تغییرات در گروه کنترل نیز مشاهده شد، به‌نظر می‌رسد که این نوسانات کمتر ناشی از اثر مستقیم جراحی یا مداخله دارویی بوده و احتمالاً به عوامل غیر اختصاصی‌تر مانند نمونه‌گیری‌های مکرر خون، استرس ناشی از دستکاری حیوان یا نوسانات فیزیولوژیک طبیعی مرتبط هستند (۳۵). با این حال، لازم به ذکر است که علیرغم این کاهش نسبی، مقادیر تمامی این شاخص‌ها در طول دوره مطالعه همچنان در محدوده فیزیولوژیک طبیعی قرار داشتند؛ بنابراین این نوسانات احتمالاً فاقد اهمیت بالینی یا پاتولوژیک بوده و بیشتر نمایانگر تغییرات خفیف و گذرای مرتبط با شرایط آزمایش هستند. در نهایت، این مطالعه نشان داد که تغییرات هماتولوژیک پس از جراحی برداشت تخمدان در سگ‌ها، در گروه دریافت‌کننده ملاتونین به شکل محدودتری بروز یافت. از آنجا که نوسانات مشاهده شده فاقد اهمیت بالینی بوده و در محدوده طبیعی قرار داشتند، انتساب آن‌ها به اثر اختصاصی دارو یا جراحی دشوار است. لذا، علی‌رغم

تعارض منافع:

پژوهشگران هیچ گونه تعارض منافی را در این پژوهش شناسایی نکرده‌اند.

مشاهده اثرات تعدیل‌کننده ملاتونین در این مطالعه، تعیین دقیق مکانیسم و دامنه تأثیر آن نیازمند پژوهش‌های گسترده‌تر با کنترل دقیق‌تر متغیرهاست.

منابع:

1. Warnes C. An update on the risks and benefits of neutering in dogs. *The Veterinary Nurse*. 2018;9(3):150-5.
2. Moxon R, England GCW, Payne R, Corr SA, Freeman SL. Effect of neutering timing in relation to puberty on health in the female dog—a scoping review. *PLOS ONE*. 2024;19(10):e0311779.
3. Urfer SR, Kaeberlein M. Desexing Dogs: A Review of the Current Literature. *Animals*. 2019;9(12):1086.
4. Cicirelli V, Burgio M, Lacalandra GM, Aiudi GG. Local and Regional Anaesthetic Techniques in Canine Ovariectomy: A Review of the Literature and Technique Description. *Animals*. 2022;12(15):1920.
5. Costa GL, Leonardi F, Licata P, Porcino M, De Paoli F, Iannelli D, et al. Ovariectomy in Canine Surgical Medicine: A Comparative Analysis of Surgical Approaches and the Nociceptive, Inflammatory, and Oxidative Stress Responses. *Animals: an open access journal from MDPI*. 2025;15(16.)
6. Siracusa C, Manteca X, Cerón J, Martínez-Subiela S, Cuenca R, Lavín S, et al. Perioperative stress response in dogs undergoing elective surgery: variations in behavioural, neuroendocrine, immune and acute phase responses. *Animal Welfare*. 2008;17(3):259-73.
7. Akkuş T, Ekici M. Investigation of changes in serum thiols and neutrophil-to-lymphocyte ratio, monocyte-to-lymphocyte ratio, platelet-to-lymphocyte ratio, and mean platelet volume/platelet count ratio indices in cats undergoing ovariohysterectomy. *Revista Científica de la Facultade de Veterinaria*. 2023;33(1.)
8. Rubio CP, dos Santos Schmidt EM, Dos Santos GJ, da Maia Lima AF, Rodrigues TA, Dálío RG, et al. Acute phase response following ovariohysterectomy in female dogs. *Comparative Clinical Pathology*. 2015;24(4):797-804.
9. Rubio M, Satué K, Carrillo JM, Hernández Guerra Á, Cuervo B, Chicharro D, et al. Changes in Hematological and Biochemical Profiles in Ovariohysterectomized Bitches Using an Alfaxalone–Midazolam–Morphine–Sevoflurane Protocol. *Animals*. 2022;12(7):914.
10. Hardeland R, Cardinali DP, Srinivasan V, Spence DW, Brown GM, Pandi-Perumal SR. Melatonin—A pleiotropic, orchestrating regulator molecule. *Progress in neurobiology*. 2011;93(3):350-84.
11. Dhabhar FS. The short-term stress response—Mother nature’s mechanism for enhancing protection and performance under conditions of threat, challenge, and

- opportunity. *Frontiers in neuroendocrinology*. 2018;49:175-92.
12. Audinot V, Bonnaud A, Grandcolas L, Rodriguez M, Nagel N, Galizzi J-P, et al. Molecular cloning and pharmacological characterization of rat melatonin MT1 and MT2 receptors. *Biochemical pharmacology*. 2008;75(10):19-2007.
 13. Mailliet F, Ferry G, Vella F, Berger S, Cogé F, Chomarar P, et al. Characterization of the melatonergic MT3 binding site on the NRH: quinone oxidoreductase 2 enzyme. *Biochemical pharmacology*. 2005;71(1-2):74-88.
 14. Tan DX, Manchester LC, Terron MP, Flores LJ, Reiter RJ. One molecule, many derivatives: a never-ending interaction of melatonin with reactive oxygen and nitrogen species? *Journal of pineal research*. 2007;42(1):28-42.
 15. Bantounou M, Plasevic J, Galley HF. Melatonin and related compounds: antioxidant and anti-inflammatory actions. *MDPI*; 2022. p. 532.
 16. Reiter RJ, Paredes SD, Manchester LC, Tan D-X. Reducing oxidative/nitrosative stress: a newly-discovered genre for melatonin. *Critical reviews in biochemistry and molecular biology*. 2009;44(4):175-200.
 17. Imenshahidi M, Karimi G, Hosseinzadeh H. Effects of melatonin on cardiovascular risk factors and metabolic syndrome: a comprehensive review. *Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology*. 2020;393(4):521-36.
 18. Zhao Y, Wang H, Chen W, Chen L, Liu D, Wang X, et al. Melatonin attenuates white matter damage after focal brain ischemia in rats by regulating the TLR4/NF-κB pathway. *Brain Research Bulletin*. 2019;150:168-78.
 19. Reiter RJ, Tan D-x, Terron MP, Flores LJ, Czarnocki Z. Melatonin and its metabolites: new findings regarding their production and their radical scavenging actions. *Acta Biochimica Polonica*. 2007;54(1):1-9.
 20. Cho JH, Bhutani S, Kim CH, Irwin MR. Anti-inflammatory effects of melatonin: A systematic review and meta-analysis of clinical trials. *Brain, behavior, and immunity*. 2021;93:245-53.
 21. Sande P, Rosenstein R, Saenz D. Anti-Inflammatory Effect of Melatonin for Cataract Surgery in Dogs. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2010;51(13):1990.-
 22. Salavati S, Mogheiseh A, Nazifi S, Amiri A, Nikahval B. The effects of melatonin on the concentrations of inflammatory cytokines and proteins, serotonin, cortisol and melatonin in ovariectomized female dogs. *Veterinary Medicine and Science*. 2023;9(3):13-1103.
 23. Costa GL, Leonardi F, Licata P, Porcino M, De Paoli F, Iannelli D, et al. Ovariectomy in Canine Surgical Medicine: A Comparative

- Analysis of Surgical Approaches and the Nociceptive, Inflammatory, and Oxidative Stress Responses. *Animals*. 2025;15(16):2336.
24. Dalmolin F, Rubio CP, Furlanetto CS, Steffens R, Hadi NIIA, da Silva AdL, et al. Changes in biomarkers of inflammation and oxidative status in dogs subjected to celiotomy or video-assisted ovariohysterectomy. *Veterinary Sciences*. 2024;11(11):583.
 25. Kumar R, Bishnoi P, Tanwar M, Jhirwal SK, Kumari A. Haemato-Biochemical Changes After Laparoscopic and Conventional Ovariohysterectomy in Dogs. *Indian Journal of Veterinary Sciences and Biotechnology*. 2023;19(2):88-93.
 26. Sande PH, Álvarez J, Calcagno J, Rosenstein RE. Preliminary findings on the effect of melatonin on the clinical outcome of cataract surgery in dogs. *Veterinary Ophthalmology*. 2016;19(3):184-94.
 27. Bilen EK, Karadağ MA, Akgül G, Gülen dağ E. Comparison of Acute Phase and Haemostatic Responses Following Ovariohysterectomy via Midline or Flank Approach in Dogs. *Pakistan Veterinary Journal*. 2025;45(2).
 28. Stewart IB. Splenic contraction, catecholamine release, and blood volume redistribution during exercise in man [Text]2002.
 29. Rafee MA, Kinjavdekar P, Amarpal H, Aithal S, Sangeetha P. Haematobiochemical changes and postoperative complications following elective ovariohysterectomy in dogs. *Glob J Med Res*. 2015;15:1-4.
 30. Soejima T, Mizunoya K, Izumi Y, Yokoyama T, Takagi R, Morimoto Y. Clinical features and significance of leukopenia occurring immediately after endovascular surgery. *Journal of Anesthesia*. 2022;36(1):144-51.
 31. Rosenberger PH, Ickovics JR, Epel E, Nadler E, Jokl P, Fulkerson JP, et al. Surgical Stress-Induced Immune Cell Redistribution Profiles Predict Short-Term and Long-Term Postsurgical Recovery: A Prospective Study. *JBJS*. 2009;91(12).
 32. Dhabhar FS. Effects of stress on immune function: the good, the bad, and the beautiful. *Immunologic research*. 2014;58(2):193-210.
 33. Vatnikov Y. Clinical control of packed RBC transfusion in acute surgical pathology such as gastric dilation and volvulus in dogs. 2016.
 34. Estopa DA. Physio-Hematological Response of Healthy Dogs During and after Ovariohysterectomy. *International Journal of Sciences*. 2019;8(02):13-9.
 35. Weiss D, Wardrop K. *Schalm's Veterinary Hematology*, 6th edWiley–Blackwell. USA; 2010.

Abstracts in English

Effects of oral melatonin on blood profile following ovariectomy in dogs**Khosro Safarinikroo¹, Ahmadreza Mohamadnia (Corresponding author)^{1*}, Hossein****Kazemi-Mehrjerdi¹, Saba Ahamadi²**

1. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Specialist in Veterinary Clinical Pathology, Private Practice.

*mohamadnia@um.ac.ir

Background and Study Design: Ovariectomy is a common surgical procedure in female dogs and may be associated with stress and inflammatory responses that can lead to alterations in hematological parameters. Melatonin, due to its antioxidant and immunomodulatory properties, may play a role in physiological responses related to surgical stress. The present study was designed as a randomized controlled trial to evaluate hematological changes following ovariectomy in female dogs.

Objective: To evaluate changes in hematological parameters following ovariectomy in female dogs and to investigate the possible association of these changes with oral melatonin administration.

Methods: In this study, 18 healthy female dogs were randomly assigned to three groups: anesthesia only, ovariectomy without melatonin administration, and ovariectomy with oral melatonin administration (0.3 mg/kg). Blood samples were collected on days -1, 0, +3, and +8, and hematological parameters were measured. Data were analyzed using non-parametric statistical tests with a significance level of 0.05.

Results: Following surgery, the ovariectomy group without melatonin showed significant increases in some parameters, including monocytes, hemoglobin, and MCHC. Changes were also observed in WBC, granulocytes, and some erythrocyte indices during the postoperative period, although most values remained within physiological ranges. In the melatonin-treated group, changes in several parameters were also detected; however, the overall pattern of results did not allow a clear determination of a direct effect of melatonin.

Conclusion: Ovariectomy in female dogs may be associated with mild and mostly transient hematological changes. Although some differences were observed between the groups, the present study does not provide conclusive evidence that melatonin directly alters postoperative hematological responses.

Keywords: Ovariectomy, melatonin, female dog, leukocyte, inflammatory response



التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

http://eltiamjournal.ir/

جداسازی و شناسایی باکتری‌های مولد بیوفیلیم در لوله‌های داخل‌نایی حیوانات کوچک

ریحانه سنگ تراش^۱، مهدی عسکری بدوئی^۲، اعظم مختاری^۳، فاطمه افلاکیان^۴، احمدرضا محمدنیا^{۵*}

۱. دانش‌آموخته دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۲. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

۵. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

*mohamadnia@um.ac.ir



<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.3>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۱/۲۹، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۴/۰۱



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان. ناشر: انجمن جراحی دامپزشکی ایران.

چکیده

هدف و زمینه مطالعه: عوامل متعددی در انتقال عفونت‌های ثانویه به بیماران در جراحی نقش دارند. پژوهش‌های اپیدمیولوژیک نقش تجهیزات بیهوشی در ایجاد عفونت جراحی را به خوبی نشان داده است. این مطالعه با هدف بررسی میزان آلودگی باکتریایی لوله‌های داخل‌نایی و دستگاه بیهوشی در حیوانات کوچک انجام شد.

روش کار: در این مطالعه ۱۵ عدد لوله‌ی داخل‌نایی و لوله‌ی خرطوم‌ی متصل به دستگاه بیهوشی، دیواره‌ی Canister و سودالایم بررسی شد. نمونه‌های گرفته شده از پنج سانتی‌متر انتهای لوله داخل‌نایی پس از حذف بادکنک انتهایی (قطعه یک)، روی محیط‌های مک‌کانکی آگار، شکلات آگار، مانیتول‌سالت آگار و ستریماید آگار کشت داده شد. پس از کشت باکتریایی، ۵ سانتی‌متر بعدی لوله برش داده شد (قطعه دو) و از هر نمونه در محیط شکلات آگار، جهت شمارش تعداد پرگنه (CFU) کشت داده شد. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در گرم‌خانه ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. توانایی تولید بیوفیلیم باکتری‌های جداسازی شده، به دو روش مشاهده میکروسکوپی و میکروپلیت مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج: در روش کشت مستقیم باکتری‌ها در ۹ نمونه از ۱۵ لوله‌ی داخل‌نایی رشد کردند و در شمارش کلی تعداد پرگنه‌ها (CFU) ۶ نمونه از ۱۵ مورد نیز رشد باکتری مشاهده شد. در ارزیابی تولید بیوفیلیم با روش میکروسکوپی، ۷ نمونه از ۱۱ جدایه مثبت و در روش میکروپلیت دو نمونه مثبت، دو نمونه ضعیف و ۷ نمونه منفی گزارش شدند. باکتری‌های جداسازی شده شامل ۴ مورد *آسینتوباکتر*، ۲ مورد *استافیلوکوکوس*، ۲ مورد *کریزیوباکتریوم* / *اسفنگوموناس* و یک مورد از هر کدام از باکتری‌های *کلیسیلا*، *باسیلوس* و *آلکالیژنر* بودند.

نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه تجهیزات بیهوشی می‌توانند سبب انتقال آلودگی‌های میکروبی به مجاری تنفسی شوند و از آنجا که بیوفیلیم‌های میکروبی، توسط روش‌های معمول ضدعفونی از بین نمی‌روند و این بیوفیلیم‌ها نقش به سزایی در مقاومت‌های آنتی‌بیوتیکی ایفا می‌کنند، حضور این آلودگی‌ها در تجهیزات و دستگاه بیهوشی یک خطر جدی برای سلامت حیوانات در بخش جراحی محسوب می‌شوند.

واژه‌های کلیدی: آلودگی باکتریایی، بیوفیلیم، حیوانات کوچک، دستگاه بیهوشی، لوله داخل‌نایی

مقدمه

در سال‌های اخیر بیهوشی دامپزشکی پیشرفت چشم‌گیری داشته است به گونه‌ای که امروزه در بسیاری از بیمارستان‌های آموزشی دامپزشکی، وسایل و روش‌های پیشرفته در بیهوشی انسانی بکارگرفته می‌شود. بیهوشی عمومی یکی از روش‌های بیهوشی است که به دلیل مسمومیت قابل برگشت سیستم اعصاب مرکزی، بیمار تحریکات دردناک را حس نمی‌کند. این نوع بیهوشی شامل سه مرحله‌ی القا، نگهداری و بازگشت از بیهوشی است (۱). یکی از روش‌های نگهداری بیهوشی استفاده از بیهوشی استنشاقی است. در بیهوشی استنشاقی، داروها به شکل بخار یا گاز از راه دستگاه تنفس تجویز می‌شوند. این داروها عموماً از راه لوله‌های داخل‌نایی به شش‌ها منتقل می‌شوند. استفاده از لوله‌های داخل‌نایی بخشی از مدیریت بیهوشی در سگ‌ها و گربه‌ها است. این لوله‌ها در اندازه‌ها و جنس‌های مختلف وجود دارند (۱، ۲). از مزایای استفاده از لوله داخل‌نایی می‌توان به تأمین اکسیژن در طول بیهوشی، تسهیل تهویه مکانیکی، محافظت از راه‌های هوایی تحتانی در برابر آسپیراسیون مایعات و جلوگیری از آلودگی محیط با گازهای بیهوشی اشاره کرد (۳).

با این حال لوله گذاری در سگ‌ها و گربه‌ها با عوارضی همراه بوده که ممکن است در طی عمل جراحی، مدت کوتاهی پس از آن یا حتی پس از روزها یا هفته‌ها آشکار شود. عوارض جزئی مانند سرفه، آسیب به بافت نرم حفره دهان یا حنجره و عوارض جدی‌تر (تهدید کننده زندگی) مانند ادم حنجره، تنگی و نکروز نای از جمله آسیب‌های ناشی از لوله‌گذاری هستند. متأسفانه بر خلاف طب انسانی، مقالات موجود در زمینه‌ی عوارض ناشی از لوله‌گذاری در دامپزشکی بسیار کم است. مطالعات منتشر شده نشان می‌دهد که لوله‌گذاری داخل‌نایی در گربه‌ها منجر به افزایش خطر ابتلا به عوارض ذکر شده و افزایش شانس مرگ در حین بیهوشی می‌شود. به علاوه چندین مورد ابتلا به عوارض جدی گزارش شده است. نشت از کاف لوله‌های داخل‌نایی شایع‌ترین عارضه در گربه‌ها و

سگ‌ها است. در گربه‌ها انسداد لوله دومین عارضه شایع است (۳).

این لوله‌ها با اثرات مستقیم بر روی راه‌های هوایی، فرآیندهای دفاعی بدن در محل را تحت تأثیر قرار می‌دهند. لوله‌گذاری امکان اتصال باکتری‌ها به سلول‌های تراکتوبرونشیال را افزایش می‌دهد که موجب افزایش کلونیزه شدن باکتری‌ها و احتمال وقوع ذات‌الریه می‌شود. به علاوه سطح داخلی این لوله‌ها محل مناسبی برای اتصال باکتری‌ها و در نتیجه مخزنی از میکروارگانیسم‌ها است. باکتری‌هایی که به سطح لوله چسبیده‌اند ممکن است با جریان هوای استنشاق شده توسط ونتیلاتور و روش‌های تهاجمی مانند برونکوسکپی و لوله‌گذاری، از سطح لوله جدا و به راه‌های هوایی منتقل شوند (۴). یکی از مهم‌ترین عوارض پس از خروج لوله نایی هم در گربه و هم در سگ سرفه است. پارگی و نکروز نای به شکل معنی‌داری در گربه‌ها بیشتر از سگ‌ها رخ می‌دهد. در عین حال تغییر صدا، مشکل در تنفس و برونشیت یا ذات‌الریه در سگ‌ها پس از خارج کردن لوله بیشتر از گربه‌ها گزارش شده است (۳). بنابراین این لوله‌ها منبع مهمی برای تلقیح باکتری‌ها به شش‌ها هستند (۵) و محققان لوله‌گذاری داخل‌نایی را از مهم‌ترین علل انتقال باکتری‌ها به سیستم تنفسی و بروز عفونت‌های ریه می‌دانند (۶).

ذات‌الریه مربوط به دستگاه تهویه (Ventilator-Associated Pneumonia: VAP) عفونتی شایع به دنبال لوله‌گذاری و تهویه مکانیکی یا فرآیندهای بیهوشی استنشاقی است و منجر به افزایش احتمال مرگ و میر و هزینه‌های اضافی برای سیستم مراقبت‌های بهداشتی می‌شود (۵). VAP در ۲۸-۸ درصد از بیماران لوله‌گذاری شده اتفاق می‌افتد و بروز آن با مدت زمان لوله گذاری افزایش می‌یابد (۶). VAP عفونتی چند عاملی است که بیوفیل‌های میکروبی نقش مهمی در ایجاد و رخداد مجدد آن دارند. از اوایل دهه هشتاد رشد بیوفیل‌های داخل نایی به عنوان علتی نهفته برای VAP شناخته می‌شود.

ونتیلاتور، یکی باکتری‌های موجود در مسیرهای هوایی دستگاه تنفسی فوقانی و دستگاه گوارش فوقانی و دیگری استنشاق مواد به مسیرهای هوایی می‌باشد (۱۴).

از آنجایی که آلودگی تجهیزات و دستگاه‌های بیهوشی یکی از شایع‌ترین راه‌های انتقال عفونت‌های ثانویه و عفونت‌های مربوط به ونتیلاتور در پزشکی است و با توجه به ضرورت یافتن درک درست از وضعیت آلودگی لوله‌ها در دامپزشکی، این مطالعه به منظور بررسی بار میکروبی تجهیزات و دستگاه بیهوشی به عنوان یک فاکتور خطر ساز برای سلامت حیوانات انجام گردید (۱۵). بر همین اساس درک بهتر از ماهیت جوامع بیوفیلیم که روی لوله‌های داخل‌نایی تشکیل می‌شوند ممکن است منجر به توسعه استراتژی‌های پیشگیرانه برای ذات‌الریه‌های مربوط به ونتیلاتور شود.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری و کشت میکروبی: نمونه‌گیری میکروبیولوژیک از لوله‌های داخل‌نایی، کانیستر (Canister) و سودالایم انجام شد. به این منظور ۱۵ عدد لوله‌ی داخل‌نایی با قطر ۹-۴ میلی‌متر که حداقل ۲۴ ساعت از آخرین شست و شوی آن‌ها گذشته بود، انتخاب و سطح خارجی آنها با الکل ۷۰ درصد ضدعفونی گردید. پس از حذف بادکنک انتهایی لوله (تصویر ۱-۱A)، پنج سانتی‌متر از امتداد بعدی لوله، قطعه یک (تصویر ۱-۱B)، و در نهایت ۵ سانتی‌متر دیگر از طول لوله، قطعه ۲ (تصویر ۱-۱C)، جدا شده و نمونه‌گیری از آن انجام شد. از سطوح داخلی لوله‌های داخل‌نایی (قطعه یک) با استفاده از سواب استریل آغشته به سرم فیزیولوژی نمونه‌برداری انجام شد و بلافاصله در سطح محیط‌های انتخابی شکلات آگار، مک‌کانکی آگار، ستریماید آگار و مانیتول‌سالت آگار بصورت خطی کشت داده شد.

جهت شمارش پرگنه (CFU) قطعه دو از هر لوله، در ۱۰ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی در یک فالكون استریل قرارگرفت و ۳ بار (هر بار به مدت ۳۰ ثانیه) با دور بالا ورتکس شد. از هر فالكون ۰/۱ میلی‌لیتر در سطح محیط

بیوفیلیم، اجتماعات میکروبی متصل به سطوح زنده یا غیرزنده هستند که توسط مواد پلی‌مری خارج سلولی احاطه شده‌اند (۷، ۸). تشکیل بیوفیلیم یک استراتژی محافظتی برای میکروارگانیسم‌ها است که در برابر سیستم ایمنی میزبان و اثرات زیان‌بار ترکیبات ضدعفونی‌کننده و آنتی‌بیوتیک‌ها از آن‌ها حفاظت کرده و شانس بقای آن‌ها را افزایش می‌دهد (۹-۱۱). بیوفیلیم به دلیل نقشی که در عفونت‌های مربوط به وسایل پزشکی در محیط‌های درمانی دارد به موضوعی نگران‌کننده تبدیل شده است.

باکتری‌ها توانایی تحمل و انطباق با طیف وسیعی از شرایط نامناسب محیطی را دارند. مکانیسم‌های اولیه‌ای که باعث تسهیل این سازگاری می‌شود منجر به ایجاد و حفظ بیوفیلیم‌ها می‌گردد. به دلیل خواص بیوفیلیم‌ها، بیماری‌های مربوط به آن‌ها، نیازمند روش‌های جدید برای پیشگیری، تشخیص و درمان هستند (۱۲). موفقیت درمان بسیاری از عفونت‌های باکتریایی مثل زخم‌های مزمنی که بهبود نیافته‌اند یا انواع ورم پستان، با توانایی تولید بیوفیلیم باکتری‌ها در ارتباط است. اگر چه اطلاعات منتشر شده از بروز بیوفیلیم در عفونت‌های دامپزشکی اندک است اما به نظر می‌رسد به اندازه‌ی علم پزشکی حائز اهمیت باشد. زخم‌ها و ورم‌پستان دو مورد از بیشترین گزارشات مربوط به حضور بیوفیلیم در علم دامپزشکی است. در مورد کلینیک‌های جراحی اطلاعات اندکی در دسترس است؛ اما، در مورد تجهیزات مورد استفاده در این کلینیک‌ها، حضور بیوفیلیم در وسایل و ابزار مورد استفاده برای اندوسکوپی و بیهوشی و عدم ضدعفونی موثر این وسایل منجر به ایجاد عفونت در حیوانات می‌شود که از این ابزارها استفاده می‌کنند.

باکتری‌هایی که در ایجاد VAP دخالت دارند بسیار متغییر هستند. تجمع میکروارگانیسم‌ها در دهان و حلق و بینی عاملی برای توسعه VAP است. استرس ناشی از عوامل مختلف از قبیل بیماری، جراحی یا عفونت سبب جایگزین شدن فلور طبیعی توسط میکروارگانیسم‌های بیماری‌زا می‌شوند (۱۳). دو مسیر عمده ورود پاتوژن‌های ناشی از

آگار شکلاتی کشت داده شد و به مدت یک شبانه روز در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. از دیواره Canister، بخش‌های بالایی و پایینی لوله‌ی خرطوم‌ی متصل به دستگاه بیهوشی (Breathing circuit tubing) و سودولایم با استفاده از سوآپ آغشته به سرم فیزیولوژی استریل یک نمونه گرفته شد. همه این سوآپ‌ها پس از نمونه‌گیری، مشابه نمونه‌های قبلی کشت داده شدند و از باقی‌مانده محلول پس از افزودن ۱ سی‌سی سرم فیزیولوژی و ۳ بار (هر بار ۳۰ ثانیه) ورتکس، ۱۰۰ میکرولیتر در سطح محیط کشت شکلات آگار، جهت شمارش پرگنه‌ها کشت داده شد. بعد از گذشت زمان لازم، رشد میکروبی مورد بررسی قرار گرفت.

تست‌های تشخیصی و آزمون‌های افتراقی جهت تشخیص نوع باکتری: شناسایی و جداسازی باکتری‌ها با استفاده از آزمون‌های بیوشیمیایی و افتراقی شامل رنگ‌آمیزی گرم و مشاهده مستقیم باکتری در زیر میکروسکوپ، تست‌های کاتالاز و اکسیداز، تست اوره‌آز، محیط کشت سیمون سیترات، توانایی احیای نیترات، تست Esculin انجام شد (۱۶، ۱۷).

بررسی الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی: در این مطالعه به منظور تعیین حساسیت آنتی‌بیوتیکی سویه‌های جداسازی شده، از روش انتشار دیسک استفاده شد (۱۸، ۱۹). دیسک‌های آنتی‌بیوتیکی سفتیوفور (۳۰ میکروگرم)، اریترومایسین (۱۵ میکروگرم)، آموکسی‌سیلین (۲۰ میکروگرم)، آمپی‌سیلین (۱۰ میکروگرم)، تری‌متوپریم-سولفانامید (۱۲۵/۲۳/۷۵ میکروگرم)، پنی‌سیلین (۱۰ واحد)، جنتامایسین (۱۰ میکروگرم)، فلورفنیکل (۳۰ میکروگرم)، آزیترومایسین (۱۵ میکروگرم)، انروفلوکساسین (۵ میکروگرم)، کلیستین (۱۰ میکروگرم) و داکسی‌سایکلین (۳۰ میکروگرم) (شرکت پادتن طب، تهران، ایران) برای ارزیابی حساسیت آنتی‌بیوتیکی مورد استفاده قرار گرفتند.

بررسی توانایی تشکیل بیوفیلم: جهت ارزیابی تولید بیوفیلم یک پرگنه شاخص از هر گروه انتخاب شد و توانایی تولید بیوفیلم با استفاده از روش میکروپلیت مورد سنجش قرار گرفت. پرگنه‌های باکتری به محیط تریپتیک سوی براث (TSB) تلقیح شد و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس از آن، سوسپانسیون باکتری در محیط تریپتیک سوی براث ۱:۱۰ رقیق شد. سپس ۲۰۰ میکرولیتر از این سوسپانسیون به چاهک‌های پلیت‌های ۹۶ خانه‌ای پلی‌استیرین منتقل گردید. یک ردیف چاهک حاوی ۲۰۰ میکرولیتر محیط کشت بدون باکتری به عنوان کنترل منفی در نظر گرفته شد. پلیت‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از پایان زمان انکوباسیون محتوی داخل چاهک‌ها خالی و چاهک‌ها به آرامی، ۳ مرتبه با سرم فیزیولوژی استریل، شسته شد و در دمای محیط قرار گرفت تا پلیت‌ها خشک شود. جهت فیکس کردن بهتر بیوفیلم‌ها از اتانول ۹۶ درصد نیز به میزان ۲۰۰ میکرولیتر استفاده شد و پس از ۱۵ دقیقه، الکل خارج و پلیت‌ها در محیط آزمایشگاه خشک گردید. به تمام خانه‌ها ۲۰۰ میکرولیتر رنگ کریستال ویوله ۲ درصد اضافه و پس از ۵ دقیقه پلیت‌ها توسط آب مقطر استریل شسته شد تا رنگ اضافی از چاهک‌ها خارج شود. سپس به چاهک‌ها ۲۰۰ میکرولیتر اسید استیک ۳۳ درصد به عنوان حلال اضافه شد و پلیت به مدت ۱۵ دقیقه در گرم‌خانه ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. در نهایت جذب نوری در طول موج ۵۸۰ نانومتر با استفاده از قرائت‌کننده الیزا اندازه‌گیری شد (۷). به منظور بررسی میکروسکوپی بیوفیلم قبل از اضافه کردن اسید استیک ابتدا پلیت با استفاده از میکروسکوپ مورد بررسی قرار گرفت معیار قضاوت وجود بیوفیلم در روش میکروسکوپی مشاهده توده‌ها، خوشه‌ها یا لایه‌های متراکم و یکپارچه‌ای که به رنگ بنفش تیره یا آبی متمایل به بنفش درآمده‌اند و به کف چاهک چسبیده‌اند، بود (۲۰).

نتایج

از ۱۹ نمونه‌ی مورد آزمایش پس از گذشت ۴۸ ساعت از زمان انکوباسیون، در ۱۱ نمونه (۵۸ درصد) رشد باکتری مثبت بود. شصت درصد از نمونه‌های مربوط به لوله‌های داخل‌نایی بر روی محیط شکلات آگار و ۴۶ درصد از این نمونه‌ها بر روی محیط مک‌کانکی آگار رشد کردند. این درحالی است که تنها یک مورد از نمونه‌های مربوط به دستگاه بیهوشی بر روی محیط شکلات آگار رشد کرد و هیچ یک از نمونه‌های مربوط به دستگاه بیهوشی بر روی محیط مک‌کانکی آگار رشد نکردند. در دو نمونه که از بخش‌های بالایی و پایینی لوله‌ی خرطومی متصل به دستگاه بیهوشی نمونه‌گیری شده بود آلودگی شدید قارچی مشاهده شد (جدول ۱).

بر اساس آزمون شمارش میکروبی (CFU) انجام شده در این مطالعه، از ۱۵ نمونه ۶ مورد مثبت گزارش شد. در نمونه شماره یک به علت آلودگی شدید و ماهیت موکئیدی پرگنه‌ها CFU در رقت ۰/۱ میلی‌لیتر و در رقت‌های مورد بررسی غیر قابل شمارش بود که نشانگر آلودگی بالای لوله‌های داخل‌نایی بوده است.

از ۱۱ نمونه جداسازی شده ۷ جدایه باسیل گرم منفی، ۲ جدایه کوکسی گرم مثبت، ۱ جدایه کوکوباسیل گرم منفی و ۱ جدایه باسیلوس تشخیص داده شد (جدول ۲).

در ارزیابی تولید بیوفیلم به روش میکروسکوپی، تولید بیوفیلم در ۶۳ درصد مثبت گزارش شد. در روش میکروپلیت چاهک‌هایی با میانگین جذب نوری بیش از یک، مثبت، در حدود ۰/۵ ضعیف و کمتر از آن منفی گزارش شدند. به این ترتیب تولید بیوفیلم در ۲ نمونه مثبت، در ۲ نمونه ضعیف و در سایر نمونه‌ها منفی گزارش شد (جدول ۳ و ۴).

نتایج حاصل از بررسی توانایی تولید بیوفیلم به دو روش میکروسکوپی و میکروپلیت نشان داد که روش میکروسکوپی موارد مثبت بیشتری نسبت به روش میکروپلیت نشان داده است به گونه‌ای که در روش

میکروسکوپی ۷ مورد مثبت (۶۳ درصد) و با استفاده از روش میکروپلیت ۲۷ درصد مثبت و ۹ درصد ضعیف گزارش شد که در مجموع کمتر از روش میکروسکوپی بود.

نتایج حاصل از بررسی‌های حساسیت آنتی‌بیوتیکی، طیف وسیعی از مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد آزمایش نشان داد (جدول ۵). از این میان باکتری کریزیوباکتر/اسفنگوموناس با بیشترین مقاومت نسبت به جدایه‌های دیگر به ۱۱ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان داد و *استافیلوکوکوس/اورئوس* با کمترین مقاومت نسبت به تمامی آنتی‌بیوتیک‌های مورد استفاده حساس بود. از میان دیگر جدایه‌ها، گونه‌های دیگر *استافیلوکوکوس* و *کلبسیلا* حداقل به ۱۰ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند. و بقیه جدایه‌ها شامل *آسینتو باکتر*، *باسیلوس* و *آلکالیژنر* حداقل به بیش از ۶ آنتی‌بیوتیک مقاومت نشان دادند (جدول ۶).

بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی آلودگی‌های میکروبی لوله‌های داخل‌نایی و دستگاه بیهوشی و بررسی توانایی تولید بیوفیلم به عنوان یک شاخص بیماری‌زایی و مقاومت نسبت به عوامل ضد میکروبی و سیستم دفاعی میزبان بود. نمونه‌گیری از ۱۵ عدد لوله‌ی داخل‌نایی انجام شد و بعد از بررسی‌های میکروبی، رشد باکتری در ۹ لوله مثبت گزارش شد. در مطالعه‌ای که توسط Sottile - در سال ۱۹۸۶ بر روی ۲۵ لوله (PVC)، لوله داخل‌نایی یا تراکتوستومی) با استفاده از میکروسکوپ الکترونی (SEM) انجام گرفت ساختارهای ناهمگونی در سطح داخلی ۸۴ درصد از لوله‌ها و ۱۶ درصد از لوله‌های داخل‌نایی مشاهده شد. کشت باکتریایی برای ۲۳ عدد از لوله‌های داخل‌نایی انجام گرفت و در ۸۳ درصد موارد مثبت اعلام شد (۲۴).

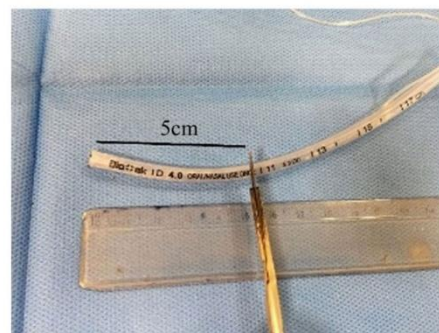
بر اساس آزمون شمارش میکروبی (CFU) انجام شده در این مطالعه، از ۱۵ نمونه ۶ مورد مثبت گزارش شد. در نمونه شماره یک به علت آلودگی شدید و ماهیت

مطالعه‌ی Arai و همکاران در سال ۲۰۱۱ میزان آلودگی قارچی در مدارهای بیهوشی ۷۵ درصد و میزان آلودگی باکتریایی ۲۵ درصد گزارش شد (۲۶) که این موضوع احتمال انتقال این اجرام به ریه‌ی حیوان را افزایش می‌دهد و ممکن است باعث ایجاد مشکلات تنفسی پس از اعمال جراحی در حیوان شود. برخلاف یافته‌های فوق، Duarte و همکاران در سال ۲۰۲۳ هیچ آلودگی میکروبی با باکتری‌های هوازی در دستگاه‌های بیهوشی استنشاقی نیافتند (۲۸). نمونه‌گیری از دیواره‌ی Canister و سودولایم نشان داد که، اگرچه سودولایم پیوسته تحت تاثیر هوای تنفسی حیوان است اما همانند نتایج بدست آمده از مطالعه‌ی آرائی و همکاران (۲۶) هیچ آلودگی میکروبی در سودولایم مشاهده نشد.

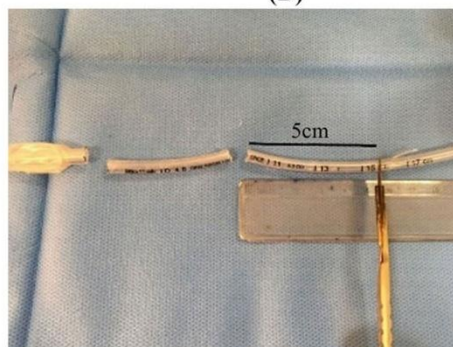
موکونیدی پرگنه‌ها CFU در رقت ۰/۱ میلی‌لیتر و در رقت‌های مورد بررسی غیر قابل شمارش بود که نشانگر آلودگی بالای لوله‌های داخل‌نایی بوده است. علاوه بر این از بخش بالایی و پایینی لوله‌ی خرطوم متصل به دستگاه بیهوشی نمونه‌گیری انجام شد که رشد باکتری در آن‌ها نیز مثبت گزارش شد. Bowers در سال ۲۰۰۲ در مطالعه‌ی خود نشان داد که بسیاری از ارگانیسیم‌ها در صفحات ماشین‌آلات بیهوشی زنده می‌مانند (۲۵). همچنین Mortazavi و همکاران در سال ۲۰۰۶ در مطالعه‌ی خود بیان کردند که در دستگاه‌های بیهوشی در مرحله قبل و پس از شستشو، آلودگی باکتریایی وجود دارد که این آلودگی با روش‌های متداول ضدعفونی از بین نمی‌رود (۲۳). در این مطالعه، در بسیاری موارد آلودگی شدید قارچی در محیط‌های کشت مشاهده شد. در



(A)



(B)



(C)

تصویر ۱: (A) جداکردن و حذف بادکنک انتهایی لوله داخل‌نایی، (B) ایجاد قطعه ۱، (C) ایجاد قطعه ۲

جدول ۱: جدول توصیفی رشد میکروبی براساس نوع نمونه و محیط کشت.

نوع نمونه	تعداد نمونه	شکلات آگار (تعداد، درصد)	مک کانکی آگار (تعداد، درصد)	رشد کلی میکروبی (تعداد، درصد)	رشد قارچی (تعداد، درصد)
لوله های داخل نایی	۱۹	۶۰٪، ۱۱	۴۶٪، ۹	۵۸٪، ۱۱	۰
دستگاه بیهوشی	۴	۱	۰	۱	۲

جدول ۲: جنس و گونه باکتری های شناسایی شده.

نوع جدایه	تعداد	نوع باکتری	تعداد نمونه های آلوده با باکتری
باسیل گرم منفی	۷	<i>Acinetobacter</i> spp.	۴
		<i>Alcaligenes</i> spp.	۱
		<i>Chryseobacterium/Sphingomonas</i>	۲
کوکسی گرم مثبت	۲	<i>Staphylococcus aureus</i>	۱
		<i>Staphylococcus</i> spp.	۱
کوکوباسیل گرم منفی	۱	<i>Klebsiella</i> spp.	۱
باسیلوس	۱	<i>Bacillus</i> spp.	۱

جدول ۳: مقایسه نتایج دو روش ارزیابی بیوفیلم.

روش ارزیابی	مثبت (تعداد/درصد)	ضعیف (تعداد/درصد)	منفی (تعداد/درصد)	توضیحات
میکروسکوپی	۷ (۶۳ درصد)	-	۴ (۳۷ درصد)	تشخیص با مشاهده مستقیم
میکروپلیت	۲ (۱۸ درصد)	۲ (۹ درصد)	۷ (۶۳ درصد)	جذب نوری در طول موج ۵۸۰ نانومتر

جدول ۴: مقایسه‌ی نتایج حاصل از ارزیابی توانایی تولید بیوفیلم توسط باکتری‌ها با دو روش مشاهده میکروسکوپی و روش میکروپلیت.

نوع باکتری	مشاهده میکروسکوپی	روش میکروپلیت
<i>Klebsiella spp.</i>	۳-۲ مثبت	مثبت
<i>Acinetobacter spp.</i>	منفی	منفی
<i>Staphylococcus aureus</i>	۱ مثبت	مثبت
<i>Staphylococcus spp.</i>	۲-۱ مثبت	ضعیف
<i>Acinetobacter spp.</i>	منفی	منفی
<i>Acinetobacter spp.</i>	منفی	منفی
<i>Alcaligenes spp.</i>	۲ مثبت	منفی
<i>Bacillus spp.</i>	منفی	منفی
<i>Acinetobacter spp.</i>	۱ مثبت	مثبت
<i>Chryseobacterium/Sphingomonas</i>	۲-۱ مثبت	منفی
<i>Chryseobacterium/Sphingomonas</i>	۲ مثبت	منفی

جدول ۵: الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در بین جدایه‌ها.

جدایه‌ها	AMX	CTF	GEN	AMP	COL	DOX	NFX	ERY	FFN	PEN	AZM	SXT
<i>Klebsiella spp.</i>	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R
<i>Acinetobacter spp.</i>	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
<i>Staphylococcus spp.</i>	S	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R
<i>Acinetobacter spp.</i>	S	S	S	S	R	S	S	S	S	S	S	R
<i>Acinetobacter spp.</i>	R	R	S	R	R	S	R	S	R	R	S	R
<i>Alcaligenes spp.</i>	I	R	S	R	S	S	R	S	R	R	S	R
<i>Bacillus spp.</i>	R	R	S	R	R	S	S	I	S	R	S	R
<i>Acinetobacter spp.</i>	R	R	S	R	R	S	R	S	R	S	S	R
<i>Chryseobacterium/Sphingomonas</i>	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R

AMX: Amoxicillin, CTF: *Ceftiofur*, GEN: Gentamicin, AMP: Ampicillin, COL: Colistin, DOX: Doxycycline, NFX: Enrofloxacin, ERY: Erythromycin, FFN: Florfenicol, SXT: Trimethoprim+Sulphamethoxazole, PEN: Penicillin, AZM: Azithromycin. R: Resistant, S: Sensitive, I: Intermediate

نکته: با توجه به اینکه الگوی مقاومت و حساسیت برخی جدایه‌های شناسایی شده در این مطالعه توسط موسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی (CLSI) گزارش نشده است، برای جدایه‌های گرم مثبت از باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* و برای جدایه‌های گرم منفی از خانواده انتروباکتریاسه به عنوان Breakpoint استفاده شد.

جدول ۶: مقاومت آنتی‌بیوتیکی جدایه‌های باکتریایی نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی

نام جدایه	تعداد آنتی‌بیوتیک‌های مقاوم	مقاومت
<i>Chryseobacterium/Sphingomonas</i>	۱۱	تقریباً همه موارد
<i>Staphylococcus aureus</i>	۰	به همه حساس
<i>Staphylococcus spp.</i>	≥۱۰	مقاومت گسترده
<i>Klebsiella spp.</i>	≥۱۰	مقاومت گسترده
<i>Acinetobacter spp.</i>	≥۶	چند گانه
<i>Bacillus spp.</i>	≥۶	متوسط
<i>Alcaligenes spp.</i>	≥۶	متوسط

باکتری‌های شناسایی شده در این مطالعه به ترتیب شامل چهار مورد *آسینتوباکتر*، دو مورد *استافیلوکوکوس*، دو مورد *کریزیوباکتر* / *اسفنگوموناس*، و یک مورد از هر کدام از باکتری‌های *کلبسیلا*، *باسیلوس* و *آلکالیژنر* می‌باشد. بررسی‌های الگوی مقاومت آنتی‌بیوتیکی در این مطالعه نشان داد که *کریزیوباکتر* / *اسفنگوموناس* و پس از آن *کلبسیلا* و *استافیلوکوکوس* دارای بیشترین میزان مقاومت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد بررسی بودند و بقیه جدایه‌ها نیز درصد بالایی از مقاومت را نسبت به آنتی‌بیوتیک‌های مورد مطالعه نشان دادند. اولین گزارشات دامپزشکی در مورد عفونت با *آسینتوباکتر* مقاوم به چندین آنتی‌بیوتیک در سگ‌ها و گربه‌ها در سال‌های ۱۹۹۸-۱۹۹۹ نشان داد که این سویه پس از تمیز کردن و ضدعفونی واحد مراقبت‌های ویژه حیوانات به طور کلی از بین رفت. دومین گونه‌ی مقاوم از این باکتری در سال ۲۰۰۰ شناسایی و منجر به ایجاد موج جدیدی از عفونت‌ها شد. این سویه در بین بیماران در اسب‌داری‌های مجاور منتقل می‌شد (۲۸). *آسینتوباکتر بومانی* یک پاتوژن بیمارستانی است که با بیماری و مرگ و میر بالا در انسان همراه است. به نظر می‌رسد اکثر عفونت‌های ناشی از *آسینتوباکتر بومانی* در دامپزشکی هم از نوع بیمارستانی باشد. این باکتری با پیودرما در سگ، فاشییت نکروزان در گربه (feline necrotizing fasciitis)، عفونت مجاری ادراری، ترومبوفلیبیت (equine thrombophlebitis) و عفونت مجاری تحتانی تنفسی در اسب در ارتباط است

(۲۹). در مطالعه‌ی انجام شده به وسیله‌ی Vaneechoutte و همکاران در سال ۲۰۰۰ مشخص شد که این عامل در اکثر موارد منجر به ایجاد عفونت‌های موضعی، اغلب همراه با علائم عمومی و به ندرت منجر به مرگ حیوان می‌شود. همچنین این عامل از اسب‌هایی که کاتتر وریدی در بدن آنها وجود داشت جدا سازی شد (۳۰). گونه‌های *آسینتوباکتر* جدا شده از نمونه‌های کلینیکی دامپزشکی دارای ویژگی‌های مولکولی یکسانی با نوع انسانی این باکتری‌ها می‌باشند (۳۱). این باکتری همراه با گونه‌های دیگر مثل *انتروکوکوس فکالیس*، *استرپتوکوکوس اینترمیدیوس* از زخم‌های جراحی آلوده و سایر انواع عفونت‌ها در یک بیمارستان آموزشی دامپزشکی جدا شده است (۳۲). در حالی که ترکیبات کاربامپنی آخرین انتخاب در درمان عفونت‌های ناشی از *آسینتوباکتر* در علم پزشکی می‌باشد، اسب‌های مبتلا به عفونت‌های ناشی از این باکتری به ترکیبات کاربامپنی مقاوم بوده که این موضوع علاوه بر پیچیده کردن مسیرهای درمانی یک خطر عمومی برای سلامتی انسان می‌باشد زیرا این حیوانات یک مخزن بالقوه از باکتری مقاوم هستند (۳۳). مطالعه حاضر می‌تواند به عنوان یکی از اولین گزارشات در مورد اهمیت این باکتری در بیمارستان‌های دامپزشکی در ارتباط با تجهیزات جراحی و بیهوشی به شمار آید.

در مطالعه حاضر مانند آنچه توسط Gil-Perotin و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی بیوفیلم لوله‌های داخل

باکتری کلبسیلا در هر دو روش بیوفیلم قوی‌تری در لوله‌های داخل‌نایی تشکیل داده است همچنین CFU آن، از سایر نمونه‌ها بیشتر بوده است، پیشنهاد می‌شود. تحقیقات آینده، نقش این باکتری را در ایجاد عفونت‌های تنفسی یا سایر عفونت‌ها در حیوانات مورد بررسی قرار دهد. همچنین از بخش بالایی و پایینی لوله خرطومی متصل به دستگاه بیهوشی باکتری به نام کریزیوباکتر/سفن‌گوموناس جدا شده است که این مطالعه اولین گزارش در مورد جدا شدن این باکتری از نمونه‌های دامپزشکی است و با توجه به اینکه در روش میکروسکوپی مستقیم تولید بیوفیلم در این نمونه مثبت گزارش شده است باید مورد توجه بیشتری قرار بگیرد.

در اغلب بیماران مبتلا به VAP چند باکتری با هم دخالت می‌کنند که اکثراً توانایی تشکیل بیوفیلم و تشکیل پرگنه در مسیرهای تنفسی را دارند (۴۰). استافیلوکوک‌ها از جمله باکتری‌هایی هستند که در ایجاد VAP دخالت دارند. از آنجا که استافیلوکوک‌ها باکتری‌های معمول پوست و سطوح مخاطی انسان و بسیاری از پستانداران هستند، به راحتی می‌توانند در طول جراحی توسط هر دستگاه پزشکی که وارد بدن می‌شود، منتقل شوند. سیستم نظارت بر عفونت‌های بیمارستانی (Hospital infection monitoring system)، استافیلوکوکوس اورئوس و استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی مثل استافیلوکوکوس اپیدرمیدیس را شایع‌ترین عامل ایجاد عفونت‌های بیمارستانی و عفونت‌های ماندگار در ابزار پزشکی که حاصل بیوفیلم‌ها هستند، معرفی کرده است که درصد بالایی مقاوم به متی‌سپلین هستند. علاوه بر مقاومت خاص آنتی‌بیوتیکی بر پایه‌ی عواملی مثل مقاومت ژنتیکی، کروموزومی یا پلاسمیدی، مکانیسم مقاومت غیراختصاصی که تشکیل بیوفیلم بدون شک از مهم‌ترین آنها است، در استافیلوکوک‌ها وجود دارد. عفونت‌های مربوط به ابزار و دستگاه‌ها، مربوط به بیوفیلم هستند و در حقیقت تشکیل بیوفیلم مهم‌ترین نکته در بیماری‌زایی این وسایل است (۴۱). آسینتوباکتر بومانی از دیگر باکتری‌هایی است که در بیمارستان‌ها، بطور نسبتاً

نایی انجام شد (۳۴) بیشترین فراوانی جدایه‌ها مربوط به گونه‌ی آسینتوباکتر و استافیلوکوکوس بود، هرچند در مطالعه‌ی Vandecandelaere و همکاران در سال ۲۰۱۲ بر روی لوله‌های داخل‌نایی و کشت مستقیم آنها بیشترین باکتری جدا شده استافیلوکوکوس اورئوس و سودوموناس آئروژینوزا بود (۳۵) که این نتایج مشابهی نتایج حاصل از مطالعه‌ی انجام شده توسط Pan و همکاران در سال ۲۰۱۷ است (۱۵). Diaz-Blanco و همکاران در سال ۱۹۸۹ در بررسی لوله‌های داخل‌نایی در نوزادان تحت تهویه مکانیکی با استفاده از میکروسکوپ الکترونی دریافتند که بیشترین آلودگی با گونه‌های استافیلوکوکوس و پس از آن سودوموناس و کمپیلوباکترنومونیا بوده است (۳۶) که این نتایج مشابه نتایج حاصل از مطالعه‌ی Inglis و همکاران در سال ۱۹۸۹ بود (۳۷). همچنین بر خلاف مطالعه‌ی de Oliveira Ferreira و همکاران در سال ۲۰۱۶ (۳۸) و Diaz-Blanco و همکاران در سال ۱۹۸۹، در مطالعه حاضر هیچ گونه آلودگی با گونه‌ی سودوموناس یافت نشد. علاوه بر این یک مورد آلودگی با کلبسیلا دیده شد که مشابه نتایج حاصل از مطالعه‌ی de Oliveira Ferreira و همکاران در سال ۲۰۱۶ بود. در مطالعه Raveendra و همکاران در سال ۲۰۲۳ پس از آسینتوباکتر بومانی، کلبسیلا پونومونیا بیشترین فراوانی در بین باکتری‌های تولیدکننده بیوفیلم در لوله داخل‌نایی را داشت (۳۹).

در این مطالعه از دو روش میکروپلیت و مشاهده میکروسکوپی جهت ارزیابی تولید بیوفیلم جدایه‌های باکتریایی استفاده شد. با توجه به نتایج موجود در روش میکروسکوپی تولید بیوفیلم در ۷ نمونه از ۱۱ جدایه مثبت گزارش شد. این در حالی است که در نتایج حاصل از روش میکروپلیت با توجه به میانگین جذب نوری نمونه‌ها، ۲ نمونه مثبت، ۲ نمونه ضعیف و باقی نمونه‌ها منفی گزارش شد. در این روش تولید بیوفیلم در باکتری‌های کلبسیلا و استافیلوکوکوس اورئوس نسبت به سایر باکتری‌ها قوی‌تر بود. با توجه به اینکه نمونه‌ی

بیشتر از لوله‌های داخل‌نایی است زیرا برخی از اجزای دستگاه قابل تعویض و ضدعفونی نیست. با این حال بهترین راه برای جلوگیری از ایجاد آلودگی و به دنبال آن انتقال عفونت به بیمار، استفاده از لوله‌های داخل‌نایی یا لوله‌ها و سایر قطعات لاستیکی مربوط به دستگاه بیهوشی به صورت مجزا برای هر حیوان و از بین بردن آنها پس از استفاده است.

با توجه به اینکه سطح لوله‌های داخل‌نایی محیطی مناسب جهت اتصال باکتری‌ها و تشکیل بیوفیلم است و تشکیل بیوفیلم‌های باکتریایی در اولین ساعات لوله‌گذاری هم دیده شده است، با توجه به انتقال این اجتماعات میکروبی به بخش‌های تحتانی سیستم تنفسی و با توجه به مقاومت بالای بیوفیلم به آنتی‌بیوتیک‌ها و سیستم ایمنی میزبان، پیشنهاد می‌شود سطوح این لوله‌ها با روش‌های مناسب و موثر ضدعفونی و استفاده از لوله‌های داخل‌نایی یا سایر تجهیزات بیهوشی به شکل استریل برای هر حیوان، بررسی گردد. همچنین بررسی دستگاه بیهوشی از نظر میزان بار میکروبی و یا استفاده از راهکارهای عملی دیگر جهت جلوگیری از حضور باکتری‌ها یا تشکیل بیوفیلم در داخل لوله‌های نایی و دستگاه بیهوشی پیشنهاد می‌شود.

سپاس‌گزاری

از آزمایشگاه میکروبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد برای تامین امکانات آزمایشگاهی و کمک به انجام این طرح قدردانی می‌شود.

تعارض منافع

پژوهشگران هیچ‌گونه تعارض منافی را در این مطالعه شناسایی نکرده‌اند.

شایع مجاری تنفسی را درگیر می‌کند. از میان گونه‌های مختلف *آسینتوباکتر* گونه‌ای که بیش از همه از نمونه‌های کلینیکی جدا شده *آسینتوباکتر بومانی* است (۴۳). این باکتری همچنین می‌تواند عفونت‌های بیمارستانی مجرای ادراری و عفونت‌های زخم ایجاد کند که در نهایت ممکن است به صورت سپتی‌سمی پیشرفت نماید (۴۴). مقاومت گونه‌های *آسینتوباکتر* به ویژه *آسینتوباکتر بومانی* به آنتی‌بیوتیک‌ها نه تنها در پزشکی بلکه در دامپزشکی و حتی در محیط زیست در سراسر جهان مشاهده شده است و همین موضوع باعث ایجاد نگرانی با این گونه باکتریایی شده است (۴۵).

Thorarinsdottir و همکاران در سال ۲۰۲۰ به بررسی تاثیر جنس و ترکیبات لوله داخل‌نایی و تشکیل بیوفیلم در آنها پرداختند. این مطالعه نشان داد که تشکیل بیوفیلم در لوله‌های داخل‌نایی از جنس PVC با پوشش سیلیکون نسبت به لوله‌هایی نایی بدون پوشش کمتر است (۴۶). بنابراین انتخاب و استفاده از تکنیک‌های مناسب جهت ضدعفونی موثر این وسایل موضوع بسیار مهمی است (۴۷).

نتیجه‌گیری نهایی

از آنجایی که بیوفیلم باکتری‌ها با روش‌های معمول ضدعفونی از بین نمی‌رود حضور آن در تجهیزات و دستگاه بیهوشی یک خطر جدی برای سلامت بیمار محسوب می‌شود. زیرا علاوه بر امکان ابتلا حیوان به این آلودگی‌ها، در صورت درگیری حیوان با این فرم از باکتری، درمان‌های معمول ضد میکروبی در از بین بردن آلودگی بی‌تاثیر بوده و منجر به مزمن شدن بیماری و پیچیده شدن درمان می‌شود. اهمیت آلودگی دستگاه بیهوشی

منابع:

1. Lees P. Veterinary anaesthesia: LW Hall and KW Clarke London: Ballière Tindall. 1983. 8th edn. 448 pp. Price£ 19.50. WB Saunders; 1985.
2. Vesal N. Basics of Veterinary Anesthesia. 2nd, editor. shiraz: shiraz university; 1384. 59, 61 p (In Persian)
3. Klonner, M. E., S. Springer and C. Braun (2023). Complications secondary to endotracheal intubation in dogs and cats: A questionnaire-based survey among veterinary anaesthesiologists. Vet Anaesth Analg;50(3): 220-

- 229.doi:[10.1016/j.vaa.2023.02.007](https://doi.org/10.1016/j.vaa.2023.02.007)
PMID:37069018
4. [Barat](#) LF, [Bassi](#) GL, [Ferrer](#) M, [Bosch](#) A, [Calvo](#) M, [Vila](#) J, [Gabarrús](#) A, [Olondris](#) PM, [Rigol](#) M, [Esperatti](#) M, [Luque](#) N, [Torres](#) A. Direct analysis of bacterial viability in endotracheal tube biofilm from a pig model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pneumonia following antimicrobial therapy. FEMS Immunol Med Microbiol. 2012;65(2): 309–317. doi:[10.1111/j.1574-695X.2012.00961.x](https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00961.x) PMID:22444646
 5. Danin PE, Girou E, Legrand P, Louis B, Fodil R, Christov C, et al. Description and microbiology of endotracheal tube biofilm in mechanically ventilated subjects. Respir Care. 2015;60(1):21-9. doi:[10.4187/respcare.02722](https://doi.org/10.4187/respcare.02722) PMID:25371399
 6. Bauer T, Torres A, Ferrer R, Heyer C, Schultze-Werninghaus C, Rasche K. Biofilm formation in endotracheal tubes. Association between pneumonia and the persistence of pathogens. Monaldi Arch Chest Dis. 2002;57(1):84-7. PMID:12174708
 7. O'Toole G, Kaplan HB, Kolter R. Biofilm formation as microbial development. Annu Rev Microbiol. 2000;54(1):49-79. doi:[10.1146/annurev.micro.54.1.49](https://doi.org/10.1146/annurev.micro.54.1.49) PMID:11018124
 8. Pirrone M, Pinciroli R, Berra L. Microbiome, biofilms, and pneumonia in the ICU. Curr Opin Infect Dis. 2016;29(2):160-6. doi:[10.1097/QCO.0000000000000255](https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000255) PMID:26855081
 9. Stewart PS, Costerton JW. Antibiotic resistance of bacteria in biofilms. Lancet. 2001;358(9276):135-8.
 10. Costerton JW, Stewart PS, Greenberg EP. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. science. 1999;284(5418):1318-22. doi:[10.1126/science.284.5418.1318](https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1318) PMID:10334980
 11. Branda SS, Vik Å, Friedman L, Kolter R. Biofilms: the matrix revisited. Trends Microbiol. 2005;13(1):20-6. doi:[10.1016/j.tim.2004.11.006](https://doi.org/10.1016/j.tim.2004.11.006) PMID:15639628
 12. Jacques M, Aragon V, Tremblay YD. Biofilm formation in bacterial pathogens of veterinary importance. Anim Health Res Rev. 2010;11(2):97-121. doi:[10.1017/S1466252310000149](https://doi.org/10.1017/S1466252310000149) PMID:20969814
 13. Flanders SA, collard HR. Saints: nosocomial pneumonia: state of the science. Am J Infect Control. 2006; 34(84). doi:[10.1016/j.ajic.2005.07.003](https://doi.org/10.1016/j.ajic.2005.07.003) PMID:16490612
 14. Kollef MH. The prevention of ventilator associated pneumonia. N Engl J Med. 1999; 340: 627-634. doi:[10.1056/NEJM199902253400807](https://doi.org/10.1056/NEJM199902253400807) PMID:10029648
 15. Pan Y, Du L, Ai Q, Song S, Tang X, Zhu D, et al. Microbial investigations in throat swab and tracheal aspirate specimens are beneficial to predict the corresponding endotracheal tube biofilm flora among intubated neonates with ventilator-associated pneumonia. Exp Ther Med. 2017;14(2):1450-8. doi:[10.3892/etm.2017.4631](https://doi.org/10.3892/etm.2017.4631) PMID:28810610

16. Luis M MT, Janet T, Ellena M. Color atlas of medical bacteriology. united states of america 2004.
17. Markey BK CA, FC Leonard, D Maguire, M Archambaunt. clinical veterinary microbiology. edition s, editor. london new York: oxford Philadelphia.
18. CLSI. (2018). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 28th ed. CLSI supplement M100. Wayne, PA, USA.
19. CLSI VET. (2018). Performance standards for antimicrobial disk and dilution susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 5th ed. CLSI VET01. Wayne, PA, USA.
20. Janecek DR, Welch M, O'Toole GA, O'Toole GA. HHQ, A precursor of the *Pseudomonas* quinolone signal (PQS) molecule, modulates 1 swarming motility in *Pseudomonas aeruginosa*. J Bacteriol. 2011. doi:[10.1128/JB.05929-11](https://doi.org/10.1128/JB.05929-11) PMID:21965567
21. Longnecker DE, Murphy FL. Dripps, Eckenhoff, Vandam Introduction to Anesthesia: WB Saunders Philadelphia; 1997.
22. Stoelting RK, Miller RD. Basics of anesthesia: Churchill Livingstone New York; 2000.
23. Mortazavi Y, Nasiri E. Contamination of anesthetic machine with common method of disinfection in operation room. Res J Microbiol. 2006;1(6):546-9.
24. Sottile FD, Marrie TJ, Prough DS, Hobgood CD, Gower DJ, Webb LX, et al. Nosocomial pulmonary infection: possible etiologic significance of bacterial adhesion to endotracheal tubes. Crit Care Med. 1986;14(4):265-70. PMID:3956213
25. Bowers, P. R. (2002). Microbial growth on the anesthesia machine. AANA J;70(1): 53. PMID: 11887545
26. Arai LAdC, Azevedo RB. Contamination of anesthesia circuits by pathogens. Rev Bras Anesthesiol. 2011;61(1):54-9. doi:[10.1016/S0034-7094\(11\)70006-X](https://doi.org/10.1016/S0034-7094(11)70006-X) PMID:21334507
27. Duarte, D. F. L. S., A. S. Glória, A. C. Silva, A. M. Pinto, M. P. da Fonte and C. Dahlem (2023). Bacterial contamination of the anesthesia breathing machine: effectiveness of current infection control measures. Revista da Sociedade Portuguesa de Anestesiologia 32(2).
28. Boerlin P, Eugster S, Gaschen F, Straub R, Schawalder P. Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. Vet Microbiol. 2001;82(4):347.۵۹- doi:[10.1016/s0378-1135\(01\)00396-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00396-0) PMID:11506928
29. Van der Kolk, J. H., A. Endimiani, C. Graubner, V. Gerber and V. Perreten (2019). *Acinetobacter* in veterinary medicine, with an emphasis on *Acinetobacter baumannii*. J Glob Antimicrob Resist. 16: 59-71. doi:[10.1016/j.jgar.2018.08.011](https://doi.org/10.1016/j.jgar.2018.08.011) PMID:30144636
30. Vanechoutte M, Devriese LA, Dijkshoorn L, Lamote B, Deprez P, Verschraegen G, et al. *Acinetobacter baumannii*-infected vascular catheters collected from horses in an equine clinic. J Clin Microbiol. 2000;38(11):4280-1. doi:[10.1128/JCM.38.11.4280-4281.2000](https://doi.org/10.1128/JCM.38.11.4280-4281.2000) PMID:11060112
31. Endimiani A, Hujer KM, Hujer AM, Bertschy I, Rossano A, Koch C, et al. *Acinetobacter baumannii* isolates from pets and horses in Switzerland: molecular characterization and clinical data. J Antimicrob Chemother.

- 2011;66(10):2248-54.
doi:[10.1093/jac/dkr289](https://doi.org/10.1093/jac/dkr289) PMID:21733964
32. Boerlin, P., S. Eugster, F. Gaschen, R. Straub and P. Schawalder (2001). Transmission of opportunistic pathogens in a veterinary teaching hospital. *Vet Microbiol.* **82**(4): 347-359. doi:[10.1016/s0378-1135\(01\)00396-0](https://doi.org/10.1016/s0378-1135(01)00396-0) PMID:11506928
33. Smet A, Boyen F, Pasmans F, Butaye P, Martens A, Nemec A, et al. OXA-23-producing *Acinetobacter* species from horses: a public health hazard? *J Antimicrob Chemother.* 2012;67(12):3009-10.
doi:[10.1093/jac/dks311](https://doi.org/10.1093/jac/dks311) PMID:22872446
34. Gil-Perotin S, Ramirez P, Marti V, Sahuquillo JM, Gonzalez E, Calleja I, et al. Implications of endotracheal tube biofilm in ventilator-associated pneumonia response: a state of concept. *Crit Care.* 2012;16(3):R93. doi:[10.1186/cc11357](https://doi.org/10.1186/cc11357) PMID:22621676
35. Vandecandelaere, I., N. Matthijs, F. Van Nieuwerburgh, D. Deforce, P. Vosters, L. De Bus, H. J. Nelis, P. Depuydt and T. Coenye (2012). Assessment of microbial diversity in biofilms recovered from endotracheal tubes using culture dependent and independent approaches. *PLoS One.* **7**(6):38401. doi:[10.1371/journal.pone.0038401](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038401) PMID:22693635
36. Diaz-Blanco J, Clawson RC, Roberson SM, Sanders CB, Pramanik AK, Herbst JJ. Electron microscopic evaluation of bacterial adherence to polyvinyl chloride endotracheal tubes used in neonates. *Crit Care Med.* 1989;17(12):1335-40. doi:[10.1097/00003246-198912000-00019](https://doi.org/10.1097/00003246-198912000-00019) PMID:2591225
37. Inglis T, Millar M, Jones J, Robinson D. Tracheal tube biofilm as a source of bacterial colonization of the lung. *J Clin Microbiol.* 1989;27(9):2014-8. doi:[10.1128/jcm.27.9.2014-2018.1989](https://doi.org/10.1128/jcm.27.9.2014-2018.1989) PMID:2778064
38. de Oliveira Ferreira T, Koto RY, da Costa Leite GF, Klautau GB, Nigro S, da Silva CB, et al. Microbial investigation of biofilms recovered from endotracheal tubes using sonication in intensive care unit pediatric patients. *Braz J Infect Dis.* 2016;20(5):468-75. doi:[10.1016/j.bjid.2016.07.003](https://doi.org/10.1016/j.bjid.2016.07.003) PMID:27513530
39. Raveendra, N., S. H. Rathnakara, N. Haswani and V. Subramaniam (2022). Bacterial biofilms on tracheostomy tubes. *Indian J Otolaryngol Head Neck Surg*;74(Suppl3):4995-4999. doi:[10.1007/s12070-021-02598-6](https://doi.org/10.1007/s12070-021-02598-6) PMID:33972925
40. Craven DE. Epidemiology of Ventilator – Associated pneumonia. *Chest.* 2000; 117:1865-187. doi:[10.1378/chest.117.4_suppl_2.186s](https://doi.org/10.1378/chest.117.4_suppl_2.186s) PMID:10816033
41. Otto M. *Staphylococcal* biofilms *Curr Top Microbiol Immunol*; 2008. p. 207-28. doi:[10.1007/978-3-540-75418-3_10](https://doi.org/10.1007/978-3-540-75418-3_10) PMID:18453278
42. Lee K, Yoon SS. *Pseudomonas aeruginosa* biofilm, a programmed bacterial life for fitness. *J Microbiol Biotechnol.* 2017;27(6):1053-64. doi:[10.4014/jmb.1611.11056](https://doi.org/10.4014/jmb.1611.11056) PMID:28301918
43. Arezo Saadatian farivar JN, Massoud Emami. Frequency of *Acinetobacter* in Surgical Care Unit of Rasool Akram Complex 2004. *Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences.* 2005;6. (In Persian)

-
44. Bou G, Oliver A, Martínez-Beltrán J. OXA-24, A novel class D β -lactamase with carbapenemase activity in an *Acinetobacter baumannii* clinical strain. Antimicrob Agents Chemother. 2000;44(6):1556-61.
doi:[10.1128/AAC.44.6.1556-1561.2000](https://doi.org/10.1128/AAC.44.6.1556-1561.2000)
PMID:10817708
45. Wareth G, Neubauer H, Sprague LD. *Acinetobacter baumannii*—a neglected pathogen in veterinary and environmental health in Germany. Vet Res Commun. 2018;1-6.
doi:[10.1007/s11259-018-9742-0](https://doi.org/10.1007/s11259-018-9742-0)
PMID:30591981
46. Thorarinsdottir, H. R., T. Kander, A. Holmberg, S. Petronis and B. Klarin (2020). Biofilm formation on three different endotracheal tubes: a prospective clinical trial. Crit Care.24(1):1-12.
doi:[10.1186/s13054-020-03092-1](https://doi.org/10.1186/s13054-020-03092-1)
PMID:32600373
47. Percival SL, Knottenbelt DC, Cochrane CA. Biofilms and veterinary medicine: Springer Science & Business Media; 2011.

Abstracts in English

Isolation and Identification of Bacteria Forming Biofilms in Endotracheal Tubes of Small Animals

Reyhane Sangtarash ¹, Mehdi Askari Badouei ², Azam Mokhtari ³, Fatemeh Aflakian ⁴,
Ahmad Reza Mohammadnia ^{5*}

1. DVM graduate, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

2. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

3. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Shahrekord, Shahrekord, Iran

4. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran.

5. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Iran

*mohamadnia@um.ac.ir

Background: Multiple factors play a role in the transmission of secondary infections to patients during surgery. Epidemiological studies have clearly demonstrated the role of anesthesia equipment in causing surgical infections.

Objectives: This study aimed to investigate the level of bacterial contamination of endotracheal tubes and anesthesia devices in small animals.

Methods: In this study, 15 endotracheal tubes and the connecting tube attached to the anesthesia apparatus, the canister wall, and the soda lime were examined. Samples taken from the last 5 cm of the endotracheal tube after removing the distal balloon (piece one) were cultured on MacConkey agar, chocolate agar, mannitol salt agar, and Stereimide agar. After bacterial culturing, the next 5 cm of the tube was cut (piece two), and each sample was cultured on chocolate agar for colony-forming unit (CFU) counting. The samples were incubated for 48 hours at 37 ° C. The ability of the isolated bacteria to produce biofilm was assessed by two methods: microscopic observation and microplate assay.

Results: In the direct bacterial culture method, 9 out of 15 endotracheal tubes showed growth, and in the overall colony count (CFU), bacterial growth was observed in 6 out of 15 samples. In the evaluation of biofilm production using the microscopic method, 7 out of 11 positive isolates were found, while the microplate method reported two positive samples, two weak samples, and 7 negative samples. The isolated bacteria included 4 cases of *Acinetobacter*, 2 cases of *Staphylococcus*, 2 cases of *Corynebacterium*/*Sphingomonas*, and one case each of *Klebsiella*, *Bacillus*, and *Alkaligenes*.

Conclusions: Based on the results of this study, anesthesia equipment can facilitate the transmission of microbial contamination to the respiratory tract. Since microbial biofilms are not eliminated by standard disinfection methods and play a significant role in antibiotic resistance, the presence of these contaminants in anesthesia equipment poses a serious risk to the health of animals in the surgical department.

Keywords: Anesthesia apparatus, Bacterial Contamination, Biofilm, Endotracheal tube, Small animals.



التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

http://eltiamjournal.ir/

بررسی اثر ونکومایسین بر ضربان قلب و شاخص‌های نوار قلب در سگ‌های از نظر بالینی سالم

در پروتکل‌های درمانی متفاوت

احمدرضا داودی^۱، حمیده سالاری صدیق^{۲*}، مسعود رجبیون^۲ و محمد عزیززاده^۲

۱. دانش آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

۲. گروه علوم درمانگاهی، بهداشت و پیشگیری بیماری‌های دام، دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

*hssedigh@um.ac.ir

doi <https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.4>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۲۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۰۶



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان. ناشر: انجمن جراحی دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: استفاده از ونکومایسین به دلیل مقاوم بودن برخی میکروارگانیسم‌ها به چند دارو رو به افزایش است. انفوزیون ۳۰ تا ۶۰ دقیقه‌ای ونکومایسین رقیق شده معمولاً پیشنهاد می‌شود اما انجام این فرآیند از نظر مدت زمان تزریق ممکن است رعایت نشود.

هدف: تغییرات ضربان قلب و شاخص‌های نوار قلب به عنوان یکی از عوارض جانبی احتمالی تزریق ونکومایسین در پروتکل‌های درمانی متفاوت در مدت زمان ۵ دقیقه مورد بررسی قرار گرفت.

روش کار: ۱۸ سگ جوان بالغ نژاد مونگرل با وزن ۲۰-۲۶ کیلوگرم پس از انجام معاینات و تایید سلامت وارد مطالعه شدند و به صورت تصادفی در ۳ گروه برابر قرار گرفتند. برای گروه اول، ۱۵ میلی گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن حیوان ونکومایسین به صورت انفوزیون وریدی ۳۰ دقیقه‌ای تزریق شد. برای گروه دوم ۱۵ میلی گرم/کیلوگرم ونکومایسین به مدت ۵ دقیقه به صورت وریدی تزریق شد و برای گروه سوم ۱۵ میلی گرم/کیلوگرم ونکومایسین رقیق شده با آب مقطر به نسبت ۲:۱ در زمان ۵ دقیقه وریدی تزریق شد. علاوه بر وضعیت بالینی، نتایج حاصل از اندازه‌گیری ضربان قلب و شاخص‌های الکتروکاردیوگرافی ثبت شد و با سطح معناداری $p < 0.05$ مورد تحلیل آماری قرار گرفت.

نتایج: در هیچ یک از حیوانات نشانه بالینی خاصی مشاهده نشد. در داده‌های مربوط به ضربان قلب تغییر معناداری مشاهده نشد. در الکتروکاردیوگرافی، در گروه ۳، QT interval در دقیقه ۳۰ به طور معناداری طولی‌تر از دقیقه ۱۵ بود که البته در دقیقه ۹۰ به محدوده غیر معنادار برگشت.

نتیجه‌گیری نهایی: تزریق وریدی فرم رقیق نشده و رقیق شده ۲:۱ ونکومایسین در زمان ۵ دقیقه مشکل بالینی قابل توجه و تغییر قابل توجه و پایدار در ضربان قلب و شاخص‌های نوار قلب نشان نداد.

واژگان کلیدی: ضربان قلب، الکتروکاردیوگرافی، ونکومایسین، سگ

مقدمه

الکتروکاردیوگرافی در تزریق وریدی ونکومایسین در پروتکل‌های درمانی متفاوت است.

مواد و روش کار

۱۸ قلاده سگ جوان بالغ نژاد مونگول با میانگین وزنی ۲۳ کیلوگرم پس از انجام معاینات بالینی، آزمایش خون و تایید سلامت وارد مطالعه شدند. سگ‌ها به‌طور تصادفی به ۳ گروه ۶ تایی تقسیم شدند. ویال ونکومایسین ۵۰۰ میلی گرم شرکت اکسیر تهیه و استفاده شد. به گروه اول ۱۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان ونکومایسین به صورت انفوزیون وریدی ۳۰ دقیقه‌ای تزریق شد. گروه دوم ۱۵ میلی گرم/کیلوگرم ونکومایسین را در مدت ۵ دقیقه به صورت وریدی دریافت کرد. به گروه سوم ۱۵ میلی گرم/کیلوگرم ونکومایسین رقیق شده با آب مقطر استریل به نسبت ۲:۱ در همان زمان ۵ دقیقه تزریق شد که منظور از این نسبت دو واحد حلال در برابر یک واحد دارو است.

از هیچ گونه داروی آرام‌بخش استفاده نشد و مقیدسازی فیزیکی اصولی جایگزین روش شیمیایی شد. ضربان قلب در دقایق صفر، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۲۵، ۳۰، ۳۵، ۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵، ۶۰ و ۹۰ توسط دستگاه NONIN ساخت کشور آمریکا اندازه گیری شد. به منظور دقت بیشتر ضربان قلب هم توسط پالس اکسی متر هم از نوار قلب‌ها استخراج شد. نوار قلب‌ها در دقیقه‌های صفر، ۵، ۱۵، ۳۰، ۴۰، ۵۵ و ۹۰ در اشتقاق‌های دوقطبی استاندارد I, II, III به مدت ۱ دقیقه با سرعت ۵۰ میلی‌متر/ثانیه و با حساسیت ۱۰ میلی‌متر/میلی ولت توسط دستگاه BIONICS ساخت کشور کره جنوبی اخذ شد و اندازه گیری مدت زمان موج P، ارتفاع موج P، فاصله موج P با R، مدت زمان QRS، ارتفاع موج R، ST segment deviation و QT interval انجام شد.

برای تحلیل آماری در هر گروه جهت مقایسه شاخص‌ها بین زمان‌های اندازه‌گیری از روش آنالیز one way repeated measure ANOVA استفاده شد. برای مقایسه میانگین شاخص‌ها بین ۳ گروه از روش آنالیز measure ANOVA two way repeated استفاده شد. کلیه آنالیزهای آماری توسط SPSS نسخه ۲۶ انجام شد و سطح معناداری داده‌ها $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

میکروارگانیزم‌های مقاوم به چند آنتی‌بیوتیک مسئول ایجاد بسیاری از عفونت‌ها هستند (۱). این میکروارگانیزم‌ها غالباً باکتری‌هایی هستند که به یک یا تعداد بیش‌تری از کلاس‌های عوامل ضد میکروبی مقاومت دارند. استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین به چندین عامل ضد میکروبی مقاومت نشان می‌دهد (۲). ونکومایسین هیدروکلرید با نام تجاری ونکوسین یک آنتی‌بیوتیک گلیکوپپتیدی است. با پدیدار شدن استافیلوکوکوس اورئوس مقاوم به متی‌سیلین و استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی، ونکومایسین به عنوان دارو انتخابی برای درمان عفونت‌های ناشی از این باکتری‌ها مطرح شد (۳). در انسان انفوزیون سریع ونکومایسین می‌تواند با سندرم مرد قرمز همراه باشد. این سندرم نوعی واکنش هیستامینی به انفوزیون سریع ونکومایسین است. از نظر الکتروفیزیولوژیک، ونکومایسین می‌تواند از طریق آزادسازی هیستامین موضعی و سیستمیک باعث تغییر در پتانسیل عمل میوسیت‌های قلبی و مقاومت عروق محیطی شود (۴، ۵). از این رو گفته می‌شود ونکومایسین باید حداقل طی سی دقیقه و به صورت یک محلول رقیق شده تزریق شود (۳).

الکتروکاردیوگراف فعالیت الکتریکی متغیر قلب را به‌وسیله الکترودهای مثبت و منفی ثبت می‌کند. به فرآیند ثبت این اختلاف پتانسیل‌های متغیر الکتروکاردیوگرافی می‌گویند (۶). الکتروکاردیوگرافی یک گام تشخیصی ضروری برای ارزیابی قلب است (۷). مطالعات نشان داده اند که تغییرات بر غلظت سرمی دارو می‌تواند بر فواصل زمانی نوار قلب، به خصوص هدایت دهلیزی-بطنی و رپلریزاسیون بطنی اثرگذار باشد (۸، ۹). الکتروکاردیوگرافی حساسیت بالایی در شناسایی آریتمی‌ها و تغییرات فواصل زمانی ناشی از سمیت داروها دارد (۶، ۷).

درحالی‌که تغییرات جلدی سندرم مرد قرمز به راحتی قابل رویت هستند، تغییرات الکتروفیزیولوژیک پنهان در میوسیت‌های قلبی که ناشی از آزادسازی وسیع هیستامین و اثر مستقیم دارو بر کانال‌های یونی است، تنها از طریق پایش دقیق الکتروکاردیوگرافی قابل شناسایی می‌باشند. بنابراین هدف این مطالعه بررسی تغییرات ضربان قلب و تغییرات کمی و کیفی

نتایج

در این قسمت به ذکر و بررسی نتایج حاصل از اندازه گیری ضربان قلب و شاخص‌های نوار قلب (QT interval) می‌پردازیم. آنالیز توصیفی: میانگین و انحراف معیار ضربان قلب (واحد بیت بر دقیقه) لندازه گیری شده به تفکیک زمان‌اندازه گیری در (جدول ۱) آورده شده است.

آنالیز توصیفی: میانگین و انحراف معیار QT interval (واحد ثانیه) لندازه گیری شده به تفکیک زمان‌اندازه گیری در (جدول ۲) آورده شده است.

بحث

تاکنون مطالعاتی در مورد عوارض قلبی و نکومایسین صورت گرفته است. تفاوت مطالعه حاضر با مطالعات دیگر در این است که اغلب پژوهش‌های پیشین بر شاخص‌های

همودینامیک کلان مانند فشار خون تمرکز داشتند حال آن که مطالعه فعلی با تکیه بر پایش نوار قلب، تغییرات ظریف و تحت بالینی هدایت الکتریکی قلب را شناسایی و آشکار کرد. این مطالعه نشان می‌دهد که حتی در صورت ثبات وضعیت بالینی سگ، بهتر است در پایش فعالیت الکتریکی قلب دقت شود.

در این مطالعه، عدم تغییر معنادار ضربان قلب در تمامی گروه‌ها، علی‌رغم تغییر QT interval نشان داد پایش شاخص‌های ظاهری و بالینی به تنهایی برای تایید ایمن بودن و نکومایسین برای قلب کافی نیست زیرا تغییرات پاتولوژیک در رپلارسزاسیون بطنی (طولانی شدن QT interval) می‌تواند در غیاب افزایش یا کاهش ضربان قلب رخ دهد و بیمار را مستعد به آریتمی کند.

جدول ۱: میانگین $\pm$ انحراف معیار ضربان قلب (واحد بیت بر دقیقه) اندازه گیری شده به تفکیک زمان‌اندازه گیری، مقایسه درون گروهی: روند تغییرات ضربان قلب بین ۳ گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نشان نداد. میانگین میزان ضربان قلب در طول دوره مطالعه بین ۳ گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نشان نداد. میزان ضربان قلب در هیچ یک از زمان‌های اندازه گیری، بین ۳ گروه مورد مطالعه تفاوت معنی‌داری نشان نداد. مقایسه بین گروهی: در گروه ۱، ۲ و ۳، تعداد ضربان قلب تفاوت معنی‌داری بین زمان‌های مختلف اندازه گیری نشان نداد.

زمان	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم
۰	96.8 ± 12.2	102.1 ± 11.1	97.5 ± 12.2
۵	97.8 ± 7.2	98.8 ± 12.2	103.3 ± 10.1
۱۰	93.8 ± 15.6	101.6 ± 11.7	103.8 ± 14.6
۱۵	88 ± 12.9	97.8 ± 11.7	98.6 ± 11.5
۲۰	86.5 ± 8.3	97.5 ± 13.2	99.6 ± 16.6
۲۵	88 ± 10.4	93.3 ± 10.6	96.3 ± 15.7
۳۰	88.5 ± 15.2	98.5 ± 10.7	98.3 ± 13.6
۳۵	87.1 ± 15.3	94.5 ± 9.7	95.1 ± 19.3
۴۰	88.5 ± 10.5	95.8 ± 16.5	99.8 ± 14.6
۴۵	89.1 ± 7.7	100.6 ± 14.8	98.6 ± 10
۵۰	88.6 ± 12.4	100.1 ± 10.7	98.8 ± 6.9
۵۵	94.3 ± 6.4	97.8 ± 7.9	90.1 ± 8.9
۶۰	97.3 ± 7.7	96.3 ± 9.7	94.3 ± 10.6
۹۰	85.5 ± 9.2	97.3 ± 10.2	78.8 ± 34.5

جدول ۲: میانگین $\pm$ انحراف معیار QT interval (واحد ثانیه) اندازه گیری شده به تفکیک زمان اندازه گیری. مقایسه بین گروهی: روند تغییرات QT interval گروه مورد مطالعه تفاوت معنی داری نشان نداد. میانگین میزان QT interval در طول دوره مطالعه بین ۳ گروه مورد مطالعه تفاوت معنی داری نشان نداد. مقایسه درون گروهی: در گروه ۱ و ۲ QT interval تفاوتی بین زمان های مختلف اندازه گیری نشان نداد. در گروه ۳ QT interval در زمان ۴ (دقیقه ۳۰) به صورت معنی داری بیش تر از زمان ۳ (دقیقه ۱۵) بود.

زمان	گروه اول	گروه دوم	گروه سوم
۰	0.24 ± 0.02	۰.۲۱	0.22 ± 0.01
۵	0.22 ± 0.02	0.22 ± 0.02	0.2 ± 0.01
۱۵	0.22 ± 0.02	0.21 ± 0.01	0.19 ± 0.01
۳۰	0.23 ± 0.01	0.22 ± 0.01	0.23 ± 0.01
۴۰	0.24 ± 0.01	۰.۲۲	0.22 ± 0.01
۵۵	0.24 ± 0.01	0.21 ± 0.01	0.21 ± 0.01
۹۰	0.23 ± 0.02	0.22 ± 0.01	0.22 ± 0.02

همودینامیک بی اثر بود. این مطالعه نشان داد که ونکومايسين در دوزهای بالا (بیش تر از یک میلی مول) یک اثر سمیت قلبی حاد و مستقیم از نوع اینوتروپیک منفی را داراست. هم چنین مشخص شد که افت ضربان قلب وابسته به زمان یک شاخص عملکردی حساس برای سمیت قلب است. طبق این مطالعه افت ضربان قلب القا شده متعاقب تزریق ونکومايسين به سبب آزادسازی استیل کولین از اعصاب پاراسمپاتیک تعصیب کننده قلب یا به دلیل بلاک ورود یون کلسیم نیست. تحقیق فوق نشان داد ونکومايسين اثر مستقیم سیتوتوکسیک بر میوسیت های قلب در دوزهای بسیار بالا را دارد (۸). در مقام مقایسه با پژوهش حاضر و پژوهش برتولیزی، کاهش ضربان قلب در موش برخلاف انسان و سگ را می توان به سرعت آزادسازی هیستامین و تاثیر آن بر گره پیشاهنگ ربط داد.

در مطالعه مرتبط دیگری نیوفیلد و رویزن در ۱۹۷۹ ثابت کردند که کاهش انقباض پذیری میوکارد ناشی از تزریق ونکومايسين وابسته به دوز است. به گفته این دو محقق احتمال دپرسیون قلبی القا شده توسط آنتی بیوتیک در بیمارانی که مشکلات قلبی و کلیوی دارند بیش تر از بیمارانی با قلب و کلیه سالم است. هم چنین در این مطالعه آمده است که تزریق سریع ونکومايسين ریسک ایست قلبی و تغییرات ناگهانی نوار قلب را به شدت افزایش می

در نوار قلب QT interval نماینده مجموع زمان دپلاریزاسیون و رپلاریزاسیون بطنی است و این مطالعه متضمن تغییرات معنادار QT interval در گروه سوم (دقیقه ۱۵ نسبت به دقیقه ۳۰) است. در مطالعات تیسدل نیز بسیاری از داروهای ضد میکروبی از جمله ونکومايسين می توانند با مداخله در کانال های پتاسیمی، باعث تغییر QT interval و احتمال افزایش ریسک آریتمی های بطنی شود (۹). در مطالعه حاضر اگر چه تغییرات مشاهده شده در محدوده فیزیولوژیک بود اما تفاوت معنادار در زمان های مختلف انفوزیون نشان دهنده تاثیر دینامیک غلظت ونکومايسين بر زمان رپلاریزاسیون بطنی است.

در قالب پژوهشی در خصوص سمیت قلبی ونکومايسين برتولیزی و دیگران در سال ۲۰۰۲ نشان دادند با انفوزیون ونکومايسين در انسان علی رغم ایجاد تغییرات همودینامیک شدید ضربان قلب می تواند بدون تغییر باقی بماند (۱۰). لذا این یافته با عدم تغییر ضربان قلب در مطالعه حاضر هم خوانی دارد.

مطالعه ای دیگر توسط جیم و متیو در سال ۱۹۸۹ انجام شد و به ارزیابی سازوکار سمیت قلبی ونکومايسين در موش پرداخت. در مطالعه گفته شده ونکومايسين یک اثر وابسته به غلظت در کاهش جریان آئورتی، جریان کورونری و ضربان قلب نشان داد ولی در سایر پارامترهای

نتیجه گیری نهایی

تزریق وریدی فرم رقیق شده ۲:۱ ونکومایسین در مدت ۵ دقیقه منجر به تغییر معنادار شاخص QT interval شد. با این وجود این شاخص در زمان ۹۰ دقیقه به محدوده غیرمعنادار بازگشت. همچنین در گروه‌های مورد مطالعه آریتمی مخاطره آمیز و علائم بالینی غیرطبیعی در مدت زمان مشخص شده مشاهده نشد. لذا تزریق وریدی فرم رقیق نشده و رقیق شده ۲:۱ ونکومایسین در زمان کمینه ۵ دقیقه در سگ سالم می‌تواند بدون تاثیر بر ضربان قلب و نوار قلب قلمداد شود.

سپاس‌گزاری

این پژوهش با حمایت مالی و تجهیزاتی دانشگاه فردوسی مشهد و با اخذ کد اخلاقی ۱۸۱۴۴۱۹ انجام شده و با شماره ثبت ۹۱۴ در کتابخانه مرکزی دانشگاه فردوسی مشهد به ثبت رسیده است.

تعارض منافع

پژوهشگران هیچ گونه تعارض منافی در این پژوهش شناسایی نکرده‌اند.

دهد (۱۱). هرچند در مطالعه حاضر عوارض شدیدی نظیر ایست قلبی مشاهده نشد، گزارش‌های اخیر پزشکی انسانی حاکی از آن است که ونکومایسین می‌تواند با اثر مستقیم سرکوب کننده بر گره پیشاهنگ، منجر به پیامدهای وخیم قلبی مانند ایست قلبی گردد (۱۲). همچنین در موارد نادر، بروز سندرم کونیس یا آنژین آلرژیک که با تغییرات قطعه ST تظاهر می‌یابد، گزارش شده است (۱۳). عدم مشاهده این تغییرات در مطالعه حاضر احتمالاً ناشی از کنترل سرعت انفوزیون در بازه ۵ دقیقه یا تفاوت‌های فیزیولوژیک گونه‌ای یا استفاده از دوز استاندارد و غیرسمی ونکومایسین است.

لازم به تاکید است که یافته‌های این پژوهش تنها در خصوص سگ سالم قابل استناد است و در مورد سگ‌های بیمار به خصوص بیمار قلبی و کلیوی انفوزیون استاندارد ۳۰ تا ۶۰ دقیقه‌ای ونکومایسین طبق دارونامه توصیه می‌شود (۳، ۱۴).

منابع:

- Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine. 7th ed. St. Louis (MO): Saunders; 2010.
<https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-2450-7.50001-4>
- Caveney L, Jones B, Ellis K. Veterinary infection, prevention and control. Ames (IA): Wiley-Blackwell; 2011.
<https://doi.org/10.1002/9781119421450>
- Plumb DC. Plumb's veterinary drug handbook. 6th ed. Ames (IA): Blackwell Publishing; 2008.
<https://doi.org/10.1002/9781119421429>
- Levine DP. Vancomycin: a history. Clin Infect Dis. 2006;42(Suppl 1):S5-12.
<https://doi.org/10.1086/491709>
- Sivagnanam S, Deleu D. Red man syndrome. Crit Care. 2002;7(2):119.
<https://doi.org/10.1186/cc1871>
- Martin M. Small animal ECGs: An introductory guide. 3rd ed. Ames (IA): Wiley-Blackwell; 2015.
<https://doi.org/10.1002/9781119087526>
- Fox PR, Sisson D, Moise NS. Textbook of canine and feline cardiology. 2nd ed. Philadelphia: Saunders; 1999.
<https://doi.org/10.1016/B978-0-7216-4044-0.X5001-6>
- Jim KF, Matthews WD. An investigation of the cardiotoxic action of vancomycin in the isolated working rat heart. Toxicol In Vitro. 1989;3(1):27-32.

- [https://doi.org/10.1016/0887-2333\(89\)90022-7](https://doi.org/10.1016/0887-2333(89)90022-7)
9. Tisdale JE. Drug-induced QT interval prolongation and torsades de pointes. *Can Pharm J (Ott)*. 2016;149(3):139-52. <https://doi.org/10.1177/1715163516641195>
10. Bertolissi M, Bassi F, Cecotti R, Capelli C, Giordano F. Pruritus: a useful sign for predicting the haemodynamic changes that occur following administration of vancomycin. *Crit Care*. 2002;6(3):1-6. <https://doi.org/10.1186/cc1496>
11. Newfield P, Roizen MF. Hazards of rapid administration of vancomycin. *Ann Intern Med*. 1979;91(4):581. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-91-4-581>
12. Zakeri R, Shokouhi N, Aminnejad R. Vancomycin-Induced Asystole; a Case Report and Literature Review. *Archives of Academic Emergency Medicine*. 2021; 9(1): e41. <https://doi.org/10.22037/aaem.v9i1.1189>
13. Sallam M, Al-Fraihat E, Sallam M. Vancomycin-induced Kounis syndrome: A case report. *Journal of Cardiology Cases*. 2022; 26(2): 114-116. <https://doi.org/10.1016/j.jccase.2022.02.006>
14. Wiebe VJ. Drug therapy for infectious diseases of the dog and cat. Ames (IA): John Wiley & Sons; 2015. <https://doi.org/10.1002/9781119100874>

Abstracts in English

Assessment of Vancomycin Effect on Heart Rate and Electrocardiographic Indices on Clinically Healthy Dogs in Different Therapeutic Protocols

Ahmadreza Davoudi¹, Hamideh Salari Sedigh^{2*}, Masoud Rajabioun², Mohammad Azizzadeh²

1. Graduated from Department of Clinical Sciences School of Veterinary Medicine Ferdowsi University of Mashhad

2. Department of Clinical Sciences School of Veterinary Medicine Ferdowsi University of Mashhad

* Hamideh Salari Sedigh

Background: Indication of vancomycin is now growing due to increasing multi-drug resistance feature of some microorganisms. Intravenous infusion of diluted vancomycin during 30 to 60 minutes is generally recommended but the standard duration may not be adhered to.

Objectives: Alterations in heart rate and electrocardiographic indices as possible side effects of vancomycin infusion in different therapeutic protocols during 5 minutes were evaluated.

Methods: Eighteen young mature mongrel dogs with weight range between 20-26 Kg were randomly selected and introduced to the study after clinical examinations and health approval. They were randomly divided into three equal groups each one containing 6 dogs (n=6). For the first group, 15 mg/Kg slow standard Intravenous infusion of vancomycin was performed during 30 minutes. For the second group, 15 mg/Kg rapid Intravenous infusion of vancomycin was done in 5 minutes. For the third group, 15 mg/Kg rapid Intravenous infusion of 1:2 diluted vancomycin was executed in 5 minutes. In addition to clinical status, the results from heart rate and electrocardiography were registered and analyzed with level of significance at $p < 0.05$.

Results: No significant clinical sign was seen in subjects. No significant change was found in heart rate. In electrocardiographic findings, in group 3, Q-T interval of minute 30 was significantly prolonged compared to that of minute 15 ($p < 0.05$). This change was insignificant in minute 90.

Conclusion: Intravenous infusion of both undiluted and 1:2 diluted vancomycin in 5 minutes do not manifest serious clinical problem and significant and persistent change in heart rate and electrocardiographic indices.

Keywords: Heart rate, Electrocardiography, Vancomycin, Dog



التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

<http://eltiamjournal.ir/>

ارزیابی اثربخشی نانونیوزوم‌های حاوی اسانس آویشن شیرازی (*Zataria multiflora*) در درمان

کراتیت باکتریایی القا شده با/ستافیلوکوکوس آرنوس در موش صحرایی

خاطره کفشدوزان^{۱*}، نگار خسروی^۱، حمیدرضا مسلمی^۲، محمدصادق نوربخش^۳، نگار نامدار^۲

۱. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

۳. گروه مهندسی پزشکی، دانشکده بیوفناوری، پردیس علوم و فناوری‌های نوین، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران.

*kafshdouzan@semnan.ac.ir



<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.5>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۲/۰۸، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۳/۲۱



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد، کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است، © نویسندگان. ناشر: انجمن جراحی دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: کراتیت باکتریایی ناشی از *استافیلوکوکوس آرنوس* یکی از چالش‌برانگیزترین عفونت‌های چشمی است و گسترش مقاومت آنتی‌بیوتیکی، نیاز به گزینه‌های درمانی نوین را افزایش داده است. اسانس آویشن شیرازی با دارا بودن تیمول و کارواکرول، خواص ضدباکتریایی و ضدالتهابی قابل توجهی دارد، اما فراربت، آب‌گریزی و سمیت موضعی، کاربرد مستقیم آن را محدود می‌کند. **هدف:** از اینرو با توجه به خصوصیات مطلوب نانونیوزوم‌ها به عنوان سامانه‌های دارورسانی ایده‌آل برای انکپسوله‌سازی ترکیبات آب‌گریز و افزایش زیست‌فراهمی موضعی داروها، هدف از این تحقیق مطالعه اثربخشی نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن شیرازی در کنترل کراتیت باکتریایی القا شده به وسیله *استافیلوکوکوس آرنوس* در نظر گرفته شد.

روش کار: ابتدا نانونیوزوم‌های حاوی اسانس با روش فیلم نازک تبخیری و در حضور سورفکتانت غیریونی سنتز شده و اندازه ذرات، پتانسیل زتا، راندمان انکپسوله‌سازی و پایداری فرمولاسیون مورد بررسی قرار گرفت. ۳۰ قطعه رت نر نژاد ویستار به طور تصادفی به سه گروه درمانی شامل: گروه کنترل (دریافت‌کننده نرمال سالین)، گروه دریافت‌کننده نانونیوزوم‌های حاوی اسانس و گروه دریافت‌کننده سیپروفلوکساسین تقسیم شدند. پس از القاء کراتیت باکتریایی در قرنیه یک چشم از هر قطعه موش با *استافیلوکوکوس آرنوس*، اثربخشی درمان با ارزیابی میزان بار باکتریایی در نمونه‌های قرنیه، در روزهای چهارم و هشتم پس از القای عفونت، سنجیده شد.

نتایج: در روز چهارم پس از القای کراتیت، میانگین بار باکتریایی قرنیه در گروه دریافت‌کننده نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن $10^5 \times 5/4$ CFU/Cornea و گروه سیپروفلوکساسین $10^5 \times 3/4$ به طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل $10^6 \times 6/8$ بود ($p \leq 0/05$)، در حالی که تفاوت آماری معنی‌داری بین دو گروه درمانی مشاهده نشد ($p > 0/05$). این الگو در روز هشتم نیز تکرار شد؛ به طوری که هر دو گروه درمانی نسبت به کنترل $10^8 \times 8/8$ کاهش معنی‌دار بار میکروبی نشان دادند ($p \leq 0/05$) و اختلاف معنی‌داری بین نانونیوزوم $10^5 \times 0/5$ و سیپروفلوکساسین $10^5 \times 1/6$ وجود نداشت ($p > 0/05$).

نتیجه‌گیری نهایی: این مطالعه اثربخشی بالای نانونیوزوم‌های حاوی آویشن شیرازی را در درمان کراتیت باکتریایی تأیید می‌کند و پتانسیل آن را به عنوان نسل جدیدی از داروهای چشمی ایمن‌تر و مؤثرتر، مبتنی بر منابع طبیعی و فناوری نانو، برجسته می‌سازد.

کلمات کلیدی: نانونیوزوم، آویشن شیرازی، کراتیت باکتریایی، موش صحرایی، رهایش دارو

مقدمه

کراتیت باکتریایی، نوعی عفونت قرنیه با پیشرفت سریع است که به عنوان یکی از چالش‌برانگیزترین عفونت‌های چشم در بالین به شمار می‌آید. این وضعیت که با التهاب شدید قرنیه مشخص می‌شود، در صورت عدم مداخله درمانی موثر و سریع، می‌تواند به سرعت منجر به آسیب‌های دائمی از جمله ایجاد اسکار قرنیه، کاهش شدید بینایی، و حتی تخلیه چشم گردد. همه‌گیری این عفونت و گستردگی جغرافیایی آن به‌ویژه در مناطقی با وضعیت بهداشتی نامناسب، محدودیت دسترسی به خدمات پزشکی تخصصی، و شیوع استفاده از لنزهای تماسی، باعث شده است که کراتیت باکتریایی به یک اولویت بهداشت عمومی در سطح جهانی تبدیل شود. آمارها نشان می‌دهند که سالانه صدها هزار مورد جدید کراتیت باکتریایی در سراسر جهان رخ می‌دهد که بخش قابل توجهی از آن‌ها منجر به اختلالات بینایی دائمی می‌شوند (۱، ۲).

عوامل میکروبی مسبب ایجاد کراتیت باکتریایی بسیار متنوع هستند، اما گونه‌های خاصی از باکتری‌ها عمدتاً در این عفونت گزارش شده‌اند. در میان آن‌ها، سودوموناس /آئروژینوزا/، یک باسیل گرم منفی فرصت‌طلب و بسیار تهاجمی، به دلیل توانایی در تولید اگزوتوکسین‌های متنوع و آنزیم‌های مخرب بافت نظیر الاستاز و آلکالین پروتئاز، اغلب با شدیدترین و سریع‌ترین اشکال کراتیت مرتبط است. /استافیلوکوکوس /ورئوس/ عامل باکتریایی شایع دیگری است که به‌ویژه در عفونت‌های مرتبط با زخم‌های قرنیه و پس از جراحی‌های چشمی، می‌تواند باعث ایجاد ضایعات دردناک و پیش‌رونده شود. علاوه بر این، شواهدی مبنی بر دخالت سایر باکتری‌ها مانند *Streptococcus* و *Moraxella lacunata, pneumoniae*، و گونه‌های مختلف باسیل‌های گرم منفی روده‌ای نیز در شرایط خاص در ایجاد کراتیت گزارش شده است. توانایی این میکروارگانیسم‌ها در تشکیل بیوفیلم، که یک لایه محافظتی چسبنده از پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌هاست، مقاومت آن‌ها را در برابر آنتی‌بیوتیک‌ها و مکانیسم‌های دفاعی میزبان به

شدت افزایش داده و موجب گسترش ضایعات می‌گردد (۲).

در سال‌های اخیر با وجود پیشرفت‌های چشمگیر در حوزه داروهای ضد میکروبی، درمان کراتیت باکتریایی هنوز با چالش‌های فزاینده‌ای روبرو است. مقاومت دارویی، پدیده‌ای که ناشی از تکامل طبیعی باکتری‌ها تحت فشار آنتی‌بیوتیک‌ها و انتقال ژن‌های مقاومت است، اثربخشی داروهای ضد میکروبی رایج را به طور جدی محدود کرده است. از این رو، ظهور سویه‌های مقاوم به فلوروکینولون‌ها، آمینوگلیکوزیدها و حتی پپتیدهای قوی‌تر، لزوم بازنگری در استراتژی‌های درمانی و جستجوی عوامل ضد میکروبی جدید را ضروری ساخته است. علاوه بر این، ویژگی‌های آناتومیک و فیزیولوژیکی چشم، مانند وجود سد قرنیه، غلظت کم دارو در محل عفونت، و متابولیسم سریع دارو، منجر به نفوذ ناکافی داروها به بافت قرنیه می‌شود. این محدودیت‌ها اغلب مستلزم استفاده از دوزهای بالا و تکرار مکرر دارو خواهد شد که خود می‌تواند منجر به سمیت موضعی، ناراحتی بیمار و عدم پایبندی به درمان شود (۲). در جستجوی راهکارهای نوین و پایدارتر، توجه به ظرفیت‌های داروهای طبیعی و ترکیبات زیست‌فعال گیاهی، به‌ویژه در طب سنتی ایران که سابقه‌ای طولانی در استفاده از گیاهان دارویی دارد، اهمیت ویژه‌ای یافته است. گیاه *Zataria multiflora Boiss*، که در زبان فارسی با نام آویشن شیرازی شناخته می‌شود، یکی از گیاهان دارویی بومی منطقه خاورمیانه با خواص فارماکولوژیکی متنوع از جمله خصوصیات ضد میکروبی، ضد التهابی، آنتی‌اکسیدانی و ضد قارچی گسترده است. فرآورده‌های مختلف این گیاه، به‌ویژه اسانس آن، حاوی مقادیر زیادی از ترکیبات فنولیک مانند تیمول و کارواکرول می‌باشد. این ترکیبات به دلیل ساختار شیمیایی منحصر به فرد خود، از مسیرهای مختلفی نظیر برهم‌کنش با غشای سلولی باکتری‌ها، اختلال در عملکرد پروتئین‌های حیاتی، و مهار مسیرهای متابولیکی، اثرات ضد میکروبی خود را اعمال می‌کنند. مطالعات پیشین، طیف وسیعی از فعالیت ضدباکتریایی

اسانس آویشن شیرازی را بر ضد طیف گسترده ای از عوامل بیماریزای انسانی، از جمله سویه های بالینی مقاوم *Pseudomonas aeruginosa* و *Staphylococcus aureus* گزارش نموده اند همچنین در برخی پژوهش ها به پتانسیل ضدالتهابی این اسانس اشاره شده است که می تواند در کاهش آسیب های ناشی از عفونت قرنیه مؤثر باشد (۳، ۴).

با وجود ظرفیت بالای اسانس آویشن شیرازی، استفاده مستقیم از آن در فرمولاسیون داروهای چشمی می تواند با چالش های متعددی همراه باشد. فرار بودن ذاتی اسانس های روغنی، که منجر به تبخیر سریع و از دست دادن غلظت فعال در طول زمان می شود، یکی از مهم ترین عواملی است که اثربخشی بالینی آن را محدود می کند. از طرف دیگر ماهیت آب گریز این ترکیبات، انحلال پذیری آن ها را در محیط آبی اشک و محلول های چشمی کاهش داده و در نتیجه، دسترسی زیستی آن ها را به بافت قرنیه محدود می سازد. علاوه بر این، غلظت های بالای اسانس یا ترکیبات فعال آن، ممکن است باعث تحریک قرنیه، سمیت سلولی و بروز عوارض جانبی ناخواسته در چشم گردد. از اینرو این محدودیت ها، ضرورت توسعه سامانه های نوین انتقال دارو را برای کپسوله سازی، محافظت، و رهایش کنترل شده ی اسانس آویشن شیرازی برجسته می سازد (۴).

در سال های اخیر، فناوری نانوایزوم، به عنوان یکی از پلتفرم های امیدوارکننده در سیستم های نوین دارورسانی، توجه گسترده ای را به خود جلب کرده است. نانوایزوم ها وزیکول های نانومتری متشکل از سورفکتانت های غیریونی و کلسترول هستند که به دلیل پایداری بالا، هزینه، ساخت کمتر، و توانایی مناسب در انکپسوله سازی ترکیبات به عنوان حامل های کارآمد در دارورسانی موضعی چشم مطرح شده اند. این نانوحامل ها موجب افزایش پایداری اسانس، بهبود توزیع آن در محیط آبی چشم، ارتقای نفوذ به بافت قرنیه و رهایش کنترل شده دارو می شوند. افزون بر این، نانوایزوم ها با کاهش تحریک بافتی نسبت به اسانس

آب گریز، به عنوان حامل های کارآمد در دارورسانی موضعی چشم مطرح شده اند. این نانوحامل ها موجب افزایش پایداری اسانس، بهبود توزیع آن در محیط آبی چشم، ارتقای نفوذ به بافت قرنیه و رهایش کنترل شده دارو می شوند. افزون بر این، نانوایزوم ها با کاهش تحریک بافتی نسبت به اسانس خالص، احتمال بروز عوارض چشمی را کاهش می دهند (۵، ۶).

با توجه به پتانسیل بالای اسانس آویشن شیرازی و مزایای سامانه های نانوایزومی، ترکیب این دو مؤلفه می تواند راهکاری نوآورانه برای غلبه بر محدودیت های درمانی کراتیت باکتریایی ارائه دهد. با این حال، بررسی متون علمی نشان می دهد که تحقیقات در این زمینه بسیار محدود است. اگرچه مطالعات متعددی به بررسی خواص ضد میکروبی اسانس *Z. multiflora* پرداخته اند و تحقیقات دیگری نیز بر روی کاربرد نانوایزوم ها در انتقال داروهای چشمی تمرکز داشته اند، اما پژوهشی که به طور خاص به توسعه و ارزیابی سیستم نانوایزومی حاوی اسانس آویشن شیرازی برای درمان کراتیت باکتریایی بپردازد، وجود ندارد. این خلاء علمی، ضرورت انجام پژوهشی جامع را برجسته می سازد که بتواند پتانسیل این رویکرد درمانی ترکیبی را در محیط بالینی مورد سنجش قرار دهد.

از اینرو، در این مطالعه با هدف رفع این شکاف تحقیقاتی، اثربخشی درمانی نانوایزوم های حاوی اسانس آویشن شیرازی در مدل کراتیت باکتریایی در موش صحرایی مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج این تحقیق می تواند گامی مهم در جهت توسعه نسل جدیدی از درمان های چشمی مؤثرتر، ایمن تر، و مبتنی بر منابع طبیعی برای مقابله با کراتیت باکتریایی باشد.

مواد و روش ها

تهیه اسانس و ساخت نانوایزوم حاوی اسانس

آویشن شیرازی

اسانس آویشن شیرازی از شرکت طبیب دارو واقع در استان اصفهان، شهرستان کاشان تهیه شد. سپس نانوایزوم حاوی

اسانس آویشن شیرازی با غلظت ۳٪ در دانشکده بیوفناوری دانشگاه سمنان با استفاده از روش آب پوشانی لایه نازک (۷) ساخته و مشخصه یابی شد. این روش به دلیل سادگی، کارایی بالا و قابلیت مقیاس پذیری، به عنوان یکی از رویکردهای متداول در سنتز نانونیوزومها شناخته می شود. در تحقیق حاضر، تمرکز اصلی بر ارزیابی اثربخشی ضد میکروبی این نانونیوزوم در مدل حیوانی کراتیت باکتریایی ناشی از *استافیلوکوکوس اورئوس* بوده و داده های مربوط به سنتز و مشخصه یابی نانونیوزوم ذکر نشده است.

مدل حیوانی

این مطالعه بر روی ۳۰ سر موش صحرایی ویستار نر بالغ (با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم) انجام شد. حیوانات پس از انتقال به مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان، به مدت یک هفته در شرایط محیطی کنترل شده برای سازگاری قرار گرفتند. شرایط نگهداری شامل دمای اتاق (۲۰-۲۴ درجه سانتی گراد)، چرخه نوری ۱۲ ساعته روشنایی/تاریکی، و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد آزمایشگاهی بود. تمامی پروتکل های حیوانی مطابق با دستورالعمل های مربوطه برای استفاده از حیوانات در تحقیقات چشمی و بینایی تدوین و توسط کمیته اخلاق در استفاده از حیوانات دانشگاه سمنان با کد اخلاق [IR.SU.REC.1400.11] تأیید گردید.

القای کراتیت باکتریایی

در روز جراحی کلیه حیوانات توسط ترکیب دارویی کتامین هیدروکلراید ۵ درصد (شرکت آلفاسان هلند) با دز ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن و زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد (شرکت آلفاسان هلند) با دز ۵ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن بیهوش شدند. برای القای کراتیت باکتریایی، ابتدا ۲ قطره داروی پروکائین بر روی

نمونه گیری چشم و جداسازی قرنیه

نمونه گیری در فواصل زمانی ۴ و ۸ روز بعد از جراحی و هر بار از ۱۵ قطعه رت پس از آسان کشی با دوز بالای تیوپنتال،

قرنیه چشم چپ هر موش صحرایی اچکانده شد تا بی حسی سطحی حاصل گردد. سپس، با استفاده از سرنگ انسولین و سوزن گیج ۳۰، ۰/۱ سی سی از سوسپانسیون باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* (ATCC 25922) تلقیح شد. سوزن با زاویه افقی و مماس بر سطح قرنیه وارد شده و تا عمق تقریبی ۰/۲ میلی متر در لایه استروما پیش برده شد، سپس سوسپانسیون باکتری با غلظت نهایی $10^8 \times 1/5$ واحد تشکیل دهنده کلنی در میلی لیتر در نرمال سالین استریل تزریق گردید (تصویر شماره ۱، الف و ب). پس از ۲۰-۱۵ دقیقه، حیوانات به هوش آمدند. ۲۴ ساعت پس از تلقیح و قبل از شروع هرگونه مداخله درمانی، القای کراتیت از نظر بالینی توسط یک مشاهده گر که از گروه بندی درمانی بی اطلاع بود (blinded observer)، ارزیابی و تأیید شد. (۸)

گروه های مورد مطالعه

حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه درمانی (۱۰ سر موش در هر گروه) و دو زیرگروه زمانی (روز چهارم و هشتم) تقسیم شدند. در گروه اول قطره نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن شیرازی، در گروه دوم قطره چشمی سیپروفلوکساسین ۰/۳٪ و در گروه سوم نرمال سالین مورد استفاده قرار گرفت. درمان ها به صورت دو قطره در هر چشم و هر ۶ ساعت یکبار به مدت ۷ روز متوالی تجویز گردید.

گروه های مورد مطالعه

حیوانات به صورت تصادفی به سه گروه درمانی (۱۰ سر موش در هر گروه) و دو زیرگروه زمانی (روز چهارم و هشتم) تقسیم شدند. در گروه اول قطره نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن شیرازی، در گروه دوم قطره چشمی سیپروفلوکساسین ۰/۳٪ و در گروه سوم نرمال سالین مورد استفاده قرار گرفت. درمان ها به صورت دو قطره در هر چشم و هر ۶ ساعت یکبار به مدت ۷ روز متوالی تجویز گردید.

صورت گرفت. برای جداسازی قرنیه، ابتدا تحت شرایط استریل چشم ها از حدقه خارج شدند، سپس با استفاده از اسکالپل برش در سطح لیمبوس ایجاد گردید و هر قرنیه جداسازی شده پس از توزین با ترازوی حساس آزمایشگاهی

به میکروتیوب حاوی PBS به صورت جداگانه انتقال داده شد.

ارزیابی میکروبی

پیش از شروع مراحل اصلی، محیط کشت مانیتول سالت آگار (تولید شده توسط شرکت ایبرسکو) مطابق با دستورالعمل شرکت سازنده تهیه و استریل گردید. سپس، قرنیه‌های منتقل شده به PBS، به منظور همگن‌سازی، به مدت یک دقیقه با استفاده از دستگاه ورتکس، مخلوط شدند. از هر سوسپانسیون هموژنیزه، سه مرحله رقت‌سازی متوالی در PBS استریل انجام گرفت و مجدداً با شیکر به خوبی مخلوط گردید. در نهایت، از هر نمونه رقیق شده، حجم ۱۰۰ میکرولیتر برداشته شده و به صورت سطحی بر روی محیط مانیتول سالت آگار کشت داده شد (برای هر نمونه ۳ تکرار). پلیت‌های کشت داده شده به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور با دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. پس از طی دوره انکوباسیون، پلت‌های حاوی ۳۰ تا ۳۰۰ عدد کلونی شمارش شدند. پس از محاسبه میانگین تعداد کلونی‌ها برای هر نمونه، نتایج به صورت تعداد واحد تشکیل‌دهنده کلنی در هر قرنیه (CFU/Cornea) گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری

داده‌های کمی حاصل از گروه‌های درمانی مختلف با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS (نسخه ۲۴) تجزیه و تحلیل شدند. مقادیر به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) ارائه گردیدند. برای مقایسه میانگین‌ها بین گروه‌های درمانی، از تحلیل واریانس یک‌طرفه (One-way ANOVA) استفاده شد. سطح معنی‌داری آماری در تمام محاسبات، $p \leq 0.05$ در نظر گرفته شد.

نتایج

تعداد باکتری‌های جدا شده از قرنیه در گروه‌های مختلف مورد مطالعه با استفاده از رابطه استارتفورد و همکاران محاسبه شد. نتایج حاصل از این ارزیابی به صورت میانگین

$\pm$ انحراف معیار (Mean $\pm$ SD) در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

بر این اساس در روز چهارم پس از القاء کراتیت باکتریایی، میزان باکتری در گروه درمان شده با سیپروفلوکساسین کمتر از سایر گروه‌ها بود. در حالیکه در گروه کنترل که نرمال‌سالین استریل دریافت کردند، تعداد باکتری‌ها به طور معنی‌داری بیشتر از سایر گروه‌ها مشاهده شد ($p \leq 0.05$). گرچه تعداد باکتری‌های شمارش شده در گروه سیپروفلوکساسین نسبت به گروه نانولیپوزوم حاوی اسانس کمتر بود اما اختلاف آماری معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). نتایج این بخش نشان می‌دهد استفاده از نانولیپوزوم به همراه اسانس در مقایسه با گروه کنترل به طور معنی‌داری باعث کاهش رشد باکتری می‌شود ($p \leq 0.05$).

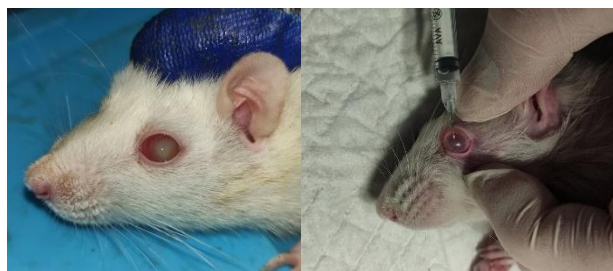
بررسی تعداد باکتری‌های جدا شده از قرنیه در روز هشتم پس از القاء کراتیت، روند مشاهده شده در روز چهارم را تأیید کرد. نتایج بررسی تعداد باکتری‌های جدا شده از قرنیه در گروه‌های مختلف نشان داد، که در روز هشتم نیز میزان باکتری‌های جدا شده از گروه درمان شده با سیپروفلوکساسین نسبت به سایر گروه‌ها کمتر بود، در حالیکه این اختلاف بین دو گروه درمان شده با سیپروفلوکساسین و نانولیپوزوم حاوی اسانس معنی‌دار نبود ($p > 0.05$). با این حال، نانولیپوزوم حاوی اسانس آویشن نیز به طور معنی‌داری نسبت به گروه کنترل موجب کاهش رشد باکتری‌ها شد ($p \leq 0.05$) که مجدداً اثربخشی نانولیپوزوم حاوی اسانس را در کاهش بار باکتریایی قرنیه در مقایسه با گروه کنترل (بدون درمان) نشان می‌دهد.

بر اساس تحلیل آماری داده‌ها، در هر دو بازه زمانی (روز چهارم و هشتم)، تفاوت معنی‌داری در تعداد باکتری‌های جدا شده بین گروه‌های مختلف مشاهده شد. اگرچه در هر دو روز، تعداد باکتری‌های مشاهده شده در گروه سیپروفلوکساسین کمتر از گروه نانولیپوزوم حاوی اسانس آویشن بود، اما مقایسه آماری بین این دو گروه نشان داد که این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نیست ($p > 0.05$). این یافته حاکی از آن است که نانولیپوزوم حاوی اسانس آویشن

($p < 0.05$). این اختلاف آماری معنی‌دار بر اثربخشی قابل توجه نانولیپوزوم حاوی اسانس آویشن در مهار رشد و کاهش تعداد *S. aureus* در قرنیه تأکید می‌کند. این نتایج قویاً بیانگر پتانسیل درمانی نانولیپوزوم سنتز شده حاوی اسانس آویشن شیرازی در درمان کراتیت باکتریایی ناشی از *S. aureus* است.

شیرازی، اثربخشی مشابهی با سیپروفلوکساسین در کاهش بار باکتریایی قرنیه در این مدل آزمایشی دارد (نمودار شماره یک).

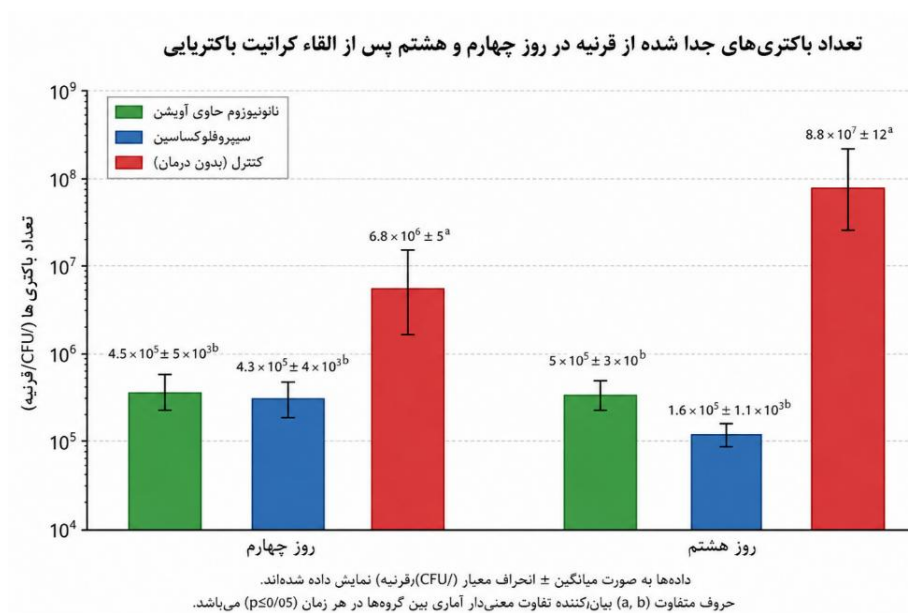
از سوی دیگر، تفاوت معنی‌داری بین گروه کنترل (بدون درمان) و گروه درمان شده با نانولیپوزوم حاوی اسانس آویشن شیرازی در هر دو روز اندازه‌گیری وجود داشت



تصویر شماره ۱: الف) روش القای کراتیت باکتریایی، ب) کراتیت القا شده در چشم

جدول شماره ۱: نتایج حاصل از شمارش باکتریها در روز چهارم و هشتم پس از القاء کراتیت باکتریایی. در هر ستون بین حروف هم‌نام اختلاف معنی داری وجود ندارد اما بین حروف غیر هم‌نام اختلاف معنی دار می باشد.

روز چهارم	روز هشتم
$4.5 \times 10^5 \pm 5$ ^b	$3 \times 10^5 \pm 5$ ^b
نانولیپوزوم حاوی آویشن	
$4 \times 10^5 \pm 4$ ^b	$3 \times 10^5 \pm 4$ ^b
سیپروفلوکساسین	
$5 \times 10^6 \pm 12$ ^a	$1.2 \times 10^7 \pm 12$ ^a
کنترل	



نمودار شماره ۱: مقایسه تعداد باکتری‌های جدا شده از قرنیه در روزهای چهارم و هشتم پس از القای کراتیت باکتریایی در گروه‌های مختلف

بحث و نتیجه گیری

شیوع روزافزون مقاومت میکروبی به عوامل ضد میکروبی، چالشی جهانی در بهداشت عمومی محسوب می شود. از اینرو ضرورت توسعه استراتژی های درمانی نوین و مؤثر بیش از پیش آشکار شده است. گیاهان دارویی، با توجه به تنوع زیستی گسترده و ذخایر عظیم ترکیبات زیست فعال، پتانسیل قابل توجهی را در این زمینه فراهم می آورند. در میان این گیاهان، آویشن شیرازی که بومی مناطق کوهستانی ایران است، به دلیل داشتن ترکیبات فنولیک کلیدی نظیر تیمول و کارواکرول، خواص ضد میکروبی قدرتمندی از خود نشان داده است (۹، ۱۰). کارواکرول، به عنوان یکی از اجزای اصلی اسانس آویشن، مکانیسم های عمل متنوعی را بر ضد طیف وسیعی از میکروارگانیسم ها ایفا می کند که عمدتاً شامل اختلال در یکپارچگی غشای سلولی، مهار سنتز DNA، RNA و پروتئین، و القای استرس اکسیداتیو می باشد (۱۱، ۱۲).

با این حال، کاربرد مستقیم اسانس های گیاهی در مقیاس بالینی با محدودیت های مهمی روبرو است. سمیت سلولی، واکنش های حساسیتی، ناپایداری در برابر عوامل محیطی (نور، حرارت، اکسیداسیون) و بوی نامطبوع، از جمله موانع اصلی در فرمولاسیون های دارویی محسوب می شوند. فناوری نانو، با توسعه سیستم های نانوحامل، راهکاری کلیدی برای غلبه بر این چالش ها ارائه می دهد. این سیستم ها قادرند با کپسوله کردن ترکیبات فعال، پایداری آن ها را افزایش داده، رهایش کنترل شده را تسهیل کنند، اثرات جانبی را کاهش دهند (۶). در مطالعات پیشین، پتانسیل نانوحامل ها در افزایش اثربخشی اسانس های گیاهی مورد مطالعه قرار گرفته است در مطالعه ای که توسط خلیلی و همکاران در سال ۲۰۱۵ صورت گرفت، نشان داده شد که انکپسولاسیون اسانس آویشن در نانوزل کیتوزان-بنزوئیک اسید، منجر به افزایش فعالیت ضد میکروبی و حفظ کیفیت میوه در طول انبارداری می شود. این مطالعه ادعا کرده است که خاصیت آنتی باکتریال سیستم نانو، به طرز معناداری بیش از آنتی بیوتیک بوده

است، یافته ای که نیاز به بررسی دقیق تر در مدل های بالینی دارد (۱۳). همچنین، مطالعه نگهبان و همکاران در سال ۱۳۹۰ نشان داد که نانوکپسولاسیون اسانس درمنه، اثر دورکنندگی بالایی بر لارو شب پره پشت الماسی داشته و رهایش کنترل شده ترکیب مؤثره، باعث طولانی تر شدن اثر شده است (۱۴). این مطالعات، مؤید نقش مؤثر فناوری نانو در افزایش اثرگذاری و طول عمر اسانس های گیاهی هستند.

در مطالعه ای که توسط هاشمی زاده و همکاران به منظور بررسی اثرات آنتی اکسیدانی و ویژگی های فیزیکی حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی انجام شد، مشخص گردید حامل های لیپیدی نانوساختار حامل های مناسبی برای انکپسولاسیون عصاره آویشن شیرازی می باشند. نامبرگان بیان داشتند خاصیت آنتی اکسیدانی حامل های لیپیدی نانوساختار حاوی عصاره آویشن شیرازی نسبت به عصاره آزاد بیشتر بوده است و این مورد می تواند در استفاده مفید از فناوری نانو در افزایش خاصیت آنتی اکسیدانی مواد غذایی حاوی عصاره آویشن مؤثر باشد (۱۵).

با این حال، مقایسه های مستقیم و نتایج متناقض در ادبیات علمی، پیچیدگی این حوزه را نمایان می سازد. Engel و همکاران در مطالعه ای بر روی *استافیلوکوکوس اورئوس*، تفاوت قابل توجهی در خواص ضد میکروبی بین تیمول و کارواکرول آزاد و لیپوزوم مشاهده نکردند (۱۶). از سوی دیگر، بختیاری و همکاران، بیان داشتند قدرت ضد میکروبی کارواکرول در شکل نیوزوم در مقایسه با شکل آزاد افزایش می یابد و پتانسیل آن را به عنوان یک داروی گیاهی قوی برای مبارزه با *استافیلوکوکوس اورئوس* مقاوم به متی سیلین گزارش کردند (۱۷).

در این مطالعه، از نیوزوم ها به عنوان نانوحامل بهره گرفته شد. نیوزوم ها، ساختارهای وزیکولی غیریونی هستند که از تجمع سورفاکتانت های غیریونی در محیط آبی تشکیل می شوند و به دلیل داشتن ماهیت آمفی فیلک، توانایی بالایی در کپسوله کردن ترکیبات با حلالیت های متفاوت

دارند. این ویژگی، آن‌ها را به گزینه‌ای جذاب برای انتقال داروها تبدیل کرده است، زیرا می‌توانند با ایجاد یک لایه محافظ، ترکیبات فعال را از تخریب محافظت کرده و رهایش پایدار و کنترل‌شده‌ای را فراهم آورند. همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که نیوزوم‌ها می‌توانند سمیت کمتری نسبت به لیپوزوم‌ها داشته باشند و خواص درمانی مانند اثرات آنتی‌اکسیدانی را بهبود بخشند (۵، ۱۸).

یافته‌های مطالعه حاضر، در خصوص کاهش قابل توجه تعداد باکتری *استافیلوکوکوس اورئوس* در گروه درمان شده با نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن، همسویی قوی با مطالعات پیشین دارد که اثربخشی نانوحامل‌ها را بر اسانس‌های گیاهی تأیید کرده‌اند (۱۴، ۱۷). کاهش تعداد باکتری در گروه درمانی این مطالعه، مشابه اثربخشی مشاهده شده در گروه دریافت‌کننده سیپروفلوکساسین، پتانسیل درمانی این فرمولاسیون را برجسته می‌سازد.

این تحقیق، اولین مطالعه‌ای است که عملکرد نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن شیرازی را به طور خاص بر کراتیت باکتریایی القا شده توسط *استافیلوکوکوس اورئوس* در یک مدل حیوانی زنده (رت) مورد بررسی قرار داده است. تحقیقات قبلی بیشتر بر ارزیابی‌های *in vitro*، مدل‌های حیوانی دیگر (مانند زخم پوستی)، یا تأثیر بر محصولات غذایی (مانند انبارداری میوه) متمرکز بوده‌اند. این مطالعه، شکاف مهمی را در درک کاربرد بالینی این فناوری در عفونت‌های چشمی پوشش می‌دهد و پتانسیل نانونیوزوم‌ها را در کاهش غلظت مورد نیاز اسانس، افزایش ماندگاری اثر و کاهش سمیت آن در یک سیستم بیولوژیکی زنده تأیید می‌نماید.

علی‌رغم نتایج امیدوارکننده، این مطالعه دارای محدودیت‌هایی است که باید در نظر گرفته شوند. اولاً، یافته‌های حاصل از مدل حیوانی، هرچند ارزشمند، نیازمند اعتبارسنجی در مطالعات بالینی انسانی برای تأیید ایمنی و اثربخشی در بیماران است. دوماً، مکانیسم‌های مولکولی دقیق که منجر به کاهش تعداد باکتری در چشم می‌شود، نیاز به بررسی عمیق‌تری دارند. همچنین ارزیابی تأثیر بر

تشکیل بیوفیلم توسط *استافیلوکوکوس اورئوس*، که یکی از عوامل کلیدی در عفونت‌های مزمن و مقاوم به درمان است، ضروری به نظر می‌رسد. ثالثاً، ارزیابی جامع سمیت، شامل سمیت چشمی (مانند التهاب، آسیب قرنیه) و سمیت سیستمیک، برای اطمینان از ایمنی بلندمدت فرمولاسیون، حیاتی است. در نهایت، مطالعات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک برای تعیین دوز بهینه، فواصل درمانی، و پروفایل غلظت-اثر، برای طراحی رژیم‌های درمانی مؤثر و ایمن، ضروری خواهند بود.

بر اساس یافته‌های این تحقیق و محدودیت‌های ذکر شده، پیشنهاد می‌شود مطالعات آینده بر محورهای نظیر ارزیابی پتانسیل نانونیوزوم حاوی اسانس آویشن در ترکیب با سایر عوامل درمانی، از جمله داروهای ضدالتهاب و ضد درد، به منظور درمان جامع‌تر علائم کراتیت باکتریایی، انجام کارآزمایی‌های بالینی فاز I و II برای ارزیابی ایمنی و اثربخشی نانونیوزوم آویشن به عنوان قطره چشمی در بیماران مبتلا به کراتیت باکتریایی، انجام مطالعات دقیق و پیشرفته سمیت (چشمی و سیستمیک) و مطالعات فارماکوکینتیک و فارماکودینامیک برای بهینه‌سازی پروفایل دارویی فرمولاسیون، تحقیق در مورد مکانیسم‌های دقیق مولکولی در سطح سلولی و مولکولی مسبب اثرات ضد میکروبی و ضدالتهابی نانونیوزوم آویشن و ارزیابی توانایی نانونیوزوم آویشن در مهار تشکیل یا تخریب بیوفیلم *استافیلوکوکوس اورئوس* متمرکز شوند. در مجموع، این تحقیق گامی مهم در جهت توسعه راهکارهای نوین مبتنی بر نانوتکنولوژی برای مقابله با عفونت‌های باکتریایی، به ویژه در حوزه چشم‌پزشکی، محسوب می‌شود و پتانسیل قابل توجهی برای کاربردهای بالینی آینده دارد.

نتیجه گیری کلی:

در این مطالعه، فرمولاسیون نانونیوزومی حاوی اسانس آویشن شیرازی به عنوان یک رویکرد نوین و کارآمد برای درمان کراتیت باکتریایی ارزیابی شد و نتایج نشان داد که انکسپولسه‌سازی اسانس در نانوحامل‌ها می‌تواند با افزایش پایداری، بهبود زیست-فراهمی و کنترل رهایش، اثربخشی

پیش‌بالینی گسترده‌تر و کارآزمایی‌های بالینی آینده فراهم سازد.

تعارض منافع:

نویسندگان در این پژوهش هیچ گونه تعارض منافی را شناسایی نکرده‌اند.

ضدبakterیایی را به‌طور معناداری تقویت کند. ترکیب خواص ضد میکروبی قدرتمند تیمول و کارواکرول با قابلیت نفوذ و زیست‌سازگاری نانویوزوم‌ها منجر به کاهش بیشتر بار باکتریایی، در مدل *in vivo* شد؛ عملکردی که قابل مقایسه با درمان آنتی بیوتیکی رایج بود. بنابراین، این سیستم دارورسانی می‌تواند گزینه‌ای نویدبخش برای توسعه درمان‌های جایگزین، ایمن و مبتنی بر منابع طبیعی در مدیریت عفونت‌های قرنیه باشد و زمینه را برای مطالعات

منابع

1. Ting DSJ, Ho CS, Deshmukh R, Said DG, Dua HS. Infectious keratitis: an update on epidemiology, causative microorganisms, risk factors, and antimicrobial resistance. *Eye (Lond)*. 2021; 35: 1084–1101. doi: 10.1038/s41433-020-01339-3
2. Ung L, Chodosh J. Foundational concepts in the biology of bacterial keratitis. *Experimental Eye Research*. 2021; 209: 1-25. <https://doi.org/10.1016/j.exer.2021.108647>
3. Alipour-Eskandani M, Misaghi A, Akhondzadeh-basti A, Zahraei-Salehi T, Bokaie S, Noori N. Effect of Zataria multiflora Boiss. essential oil on the growth of Bacillus Cereus ATCC 11778 in a commercial barley soup. *Journal of Veterinary Research*. 2009; 64: 29–32.
4. Ahani N, Sangtarash MH, Alipour Eskandani M, Houshmand M. Zataria multiflora Boiss. Essential Oil Induce Apoptosis in Two Human Colon Cancer Cell Lines (HCT116 & SW48). *Iranian Journal of Public Health*. 2020; 49(4): 753–762. <https://doi.org/10.18502/ijph.v49i4.3183>
5. Arumugam K, Payal B, Jitendra S, Salonee C. Niosomes: A Novel Carrier Drug Delivery System. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2021; 11: 162–170. <https://doi.org/doi:10.22270/jddt.v11i1.4479>
6. Moghassemi S, Hadjizadeh A. Nanoniosomes as nanoscale drug delivery systems: An illustrated review. *Journal of Controlled Release*. 2014; 185(10): 22-36. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2014.04.015>
7. Dwived A., Mazumder A, Nasongkla N. Layer-by-layer nanocoating of antibacterial niosome on orthopedic implant. *International Journal of Pharmaceutics*. 2018; 547(1-2), 235-243. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.05.075>
8. Barequet IS, Habet-Wilner Z, Keller N, Smollan G, Ziv H, Belkin M, Rosner M. Effect of Amniotic Membrane Transplantation on the Healing of Bacterial Keratitis. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. 2008; 49(1):163-167. <https://doi.org/10.1167/iovs.07-1005>
9. Akhondzadeh Basti A, Misaghi A and Khaschabi D. Growth response and modeling of the effects of Zataria multiflora Boiss. Essential oil, pH and temperature on Salmonella typhimurium and Staphylococcus aureus. *LWT Food Science and Technology*. 2007; 40: 973-981. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.07.07>
10. Dadazadeh A, Nourafcan H. The Effect of Zataria multiflora Boiss Leaves Essential Oil on Some Pathogenic Bacteria as an

- Alternative for Conventional Antibiotics. Crescent Journal of Medical and Biological Sciences. 2022; 9(3): 173–183. <https://doi.org/10.34172/cjmb.2022.29>
11. Wang Y, Chen F, Lu Z, Ye L, Yang X, Gichure JN, et al. Inhibitory effect of carvacrol nanoemulsions on *Staphylococcus aureus* and its biofilms. Journal of Consumer Protection and Food Safety. 2025; 20: 357-369. <https://doi.org/10.1007/s00003-025-01573-5>
 12. Burt SA, Reinders RD. Antibacterial activity of selected plant essential oils against *Escherichia coli* O157: H7. Letters in Applied Microbiology. 2003; 36(3): 162-167. <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01285.x>
 13. Khalili ST, Mohsenifar A, Beyki M, Zhavah S, Rahmani-Cherati T, Abdollahi A, et al. Encapsulation of Thyme essential oils in chitosan-benzoic acid nanogel with enhanced antimicrobial activity against *Aspergillus flavus*. LWT-Food Science and Technology. 2015; 60(1): 502-508. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.07.054>
 14. Negahban M, Moharramipour S, Zand M, Hashemi SA. Repellent activity of nanoencapsulated essential oil of *Artemisia sieberi* Besser on *Plutella xylostella* L. larvae. Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants. 2013; 29(4): 909-924. <https://doi.org/10.22092/ijmapr.2014.4314>
 15. Hashemizade S, Ganbarzadeh Hojgani B, Hamisheh Kar H. Antimicrobial and physical Properties of Nanostructured Lipid Carriers(NLC) Containing *Thymus vulgaris* L. Innovative Food Technologies. 2017; 4(2): 141-149. <https://doi.org/10.22104/jift.2016.423>
 16. Engel JB, Heckler C, Tondo EC, Daroit DJ, da Silva Malheiros, P. Antimicrobial activity of free and liposome-encapsulated thymol and carvacrol against *Salmonella* and *Staphylococcus aureus* adhered to stainless steel. International Journal of Food Microbiology. 2017; 252: 18-23. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2017.04.003>
 17. Bakhtiari R, Shiri M, Mohammadi MR, Pourmand MR, Mirzaie A, Taghiabadi Z. Enhanced antimicrobial effects of carvacrol against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains using niosome formulations. Argentinean Journal of Microbiology. 2025; 57(1): 1-86. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2024.10.001>
 18. Pires PC, Paiva-Santos AC, Veiga F. Liposome-Derived Nanosystems for the Treatment of Behavioral and Neurodegenerative Diseases: The Promise of Niosomes, Transfersomes, and Ethosomes for Increased Brain Drug Bioavailability. Pharmaceuticals. 2023; 16:1424. <https://doi.org/10.3390/ph16101424>

Abstracts in English

Efficacy of Nano-niozome Containing *Zataria multiflora* Essential Oil in the Control of Bacterial Keratitis Induced by *Staphylococcus aureus*

Khatereh Kafshdouzan^{1*}, Negar Khosravi¹, Hamid Reza Moslemi², Mohammad Sadegh Nourbakhsh³, Negar Namdar²

1. Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.

2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran.

3. Department of Biomedical Engineering, Faculty of New Sciences and Technologies, Semnan University, Semnan, Iran

*kafshdouzan@semnan.ac.ir

Background: Bacterial keratitis caused by *Staphylococcus aureus* is one of the most challenging ocular infections, and the increasing spread of antibiotic resistance has intensified the need for novel therapeutic approaches. *Zataria multiflora* essential oil, due to the presence of thymol and carvacrol, possesses considerable antibacterial and anti-inflammatory properties; however, its volatility, hydrophobicity, and local toxicity limit its direct clinical application.

Objectives: Considering the favorable characteristics of nanoniosomes as ideal drug delivery systems for encapsulating hydrophobic compounds and enhancing the topical bioavailability of drugs, the present study aimed to investigate the efficacy of nanoniosomes containing *Zataria multiflora* essential oil in controlling *Staphylococcus aureus*-induced bacterial keratitis.

Methods: Essential oil-loaded nanoniosomes were synthesized using the thin-film hydration method in the presence of a nonionic surfactant. Particle size, zeta potential, encapsulation efficiency, and formulation stability were evaluated. Thirty male Wistar rats were randomly divided into three treatment groups: a control group receiving normal saline, a group receiving essential oil-loaded nanoniosomes, and a group receiving ciprofloxacin. Following induction of bacterial keratitis in one eye of each rat using *Staphylococcus aureus*, treatment efficacy was assessed by measuring bacterial load in corneal samples on days 4 and 8 after infection induction.

Results: On day 4 after keratitis induction, the mean corneal bacterial load in the essential oil-loaded nanoniosome group (4.5×10^5 CFU/cornea) and the ciprofloxacin group (4.3×10^5 CFU/cornea) was significantly lower than that of the control group (6.8×10^6 CFU/cornea) ($p \leq 0.05$), while no statistically significant difference was observed between the two treatment groups ($p > 0.05$). A similar pattern was observed on day 8, where both treatment groups demonstrated a significant reduction in microbial load compared with the control group (8.8×10^7 CFU/cornea) ($p \leq 0.05$), and no significant difference was found between the nanoniosome group (5.0×10^5 CFU/cornea) and the ciprofloxacin group (1.6×10^5 CFU/cornea) ($p > 0.05$).

Conclusion: This study confirms the high efficacy of *Zataria multiflora* -loaded nanoniosomes in the treatment of bacterial keratitis and highlights their potential as a new generation of safer and more effective ophthalmic therapeutics based on natural compounds and nanotechnology.

Keywords: Nano-niozome, *Zataria multiflora*, Bacterial keratitis, Rat, Drug delivery



مقاله پژوهشی

التیام

شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳۳۲۹۱

eltiam.ivsa@yahoo.com

<http://eltiamjournal.ir/>

تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر التیام زخم‌های جلدی در موش صحرایی: ارزیابی بالینی و هیستوپاتولوژیک

ابوتراب طباطبایی نائینی^{۱*}، علی حسین زاده^۲، فاطمه رهسپار^۳، علیرضا شیخ زاده^۴

۱. استاد جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۲. فارغ التحصیل دکتری عمومی دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۳. رزیدنت جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

۴. رزیدنت جراحی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

* t-naeini@shirazu.ac.ir

<https://doi.org/10.30500/eltiamj.13.1.6>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۵/۰۳/۱۶، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۰۵/۳۱



کپی‌رایت © مجله التیام: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است. © نویسندگان. ناشر: انجمن جراحی دامپزشکی ایران.

چکیده

زمینه و نوع مطالعه: پوست به‌عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن، نخستین سد دفاعی در برابر عوامل آسیب‌رسان محیطی محسوب می‌شود و ترمیم زخم در آن فرایندی پیچیده، پویا و چندمرحله‌ای است که در نتیجه تعامل هماهنگ سازوکارهای سلولی، مولکولی و بافتی رخ می‌دهد. کافئین، به‌عنوان یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات زیست‌فعال در جهان، به‌دلیل برخورداری از خواص ضدالتهابی و ضددردی در سال‌های اخیر مورد توجه پژوهشگران حوزه ترمیم زخم قرار گرفته‌است.

هدف: با توجه به اهمیت بالینی التیام زخم در پزشکی و دامپزشکی، به‌ویژه در حوزه جراحی و همچنین مصرف گسترده کافئین در زندگی روزمره، بررسی اثرات مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی می‌تواند در توسعه راهکارهای درمانی مؤثرتر حائز اهمیت باشد.

روش کار: در مطالعه حاضر، به‌منظور بررسی اثر مصرف خوراکی کافئین بر ترمیم زخم‌های جلدی، ۳۰ سر موش صحرایی به سه گروه شامل گروه کنترل و دریافت‌کننده مقدار ۲۰ و ۵۰ میلی گرم کافئین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تقسیم شدند. پس از ایجاد زخم پوستی در ناحیه پشتی، نیمی از حیوانات در روز دهم آسان‌کشی شده و نمونه‌های بافتی از ناحیه زخم و بافت سالم مجاور جهت ارزیابی هیستوپاتولوژیک جمع‌آوری گردید. نیم دیگر حیوانات نیز تا روز بیست‌ویکم از نظر بالینی و ظاهری روند ترمیم زخم مورد پایش قرار گرفتند. در ارزیابی هیستوپاتولوژیک، ده شاخص اصلی مرتبط با ترمیم زخم بررسی شد.

نتایج: نتایج حاصل از ارزیابی‌های بالینی نشان داد که روند جمع‌شدن لبه‌های زخم، تشکیل بافت جوانه گوشتی و بسته‌شدن ضایعه در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافئین مطلوب‌تر از سایر گروه‌ها بود. همچنین در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک، میزان تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپیتلیالیزاسیون مجدد در گروه دریافت‌کننده ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم کافئین به‌طور معناداری بیشتر از گروه کنترل بود، در حالی که سایر شاخص‌ها اختلاف آماری معناداری نشان ندادند. علاوه بر این، حضور بیشتر ماست‌سل‌ها در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین به‌صورت توصیفی مشاهده شد که می‌تواند زمینه‌ساز مطالعات آینده درباره نقش این سلول‌ها در ترمیم زخم باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: در مجموع، یافته‌های این مطالعه نشان می‌دهد که مصرف خوراکی کافئین، به‌ویژه در دوز بالاتر، می‌تواند اثرات مثبتی بر برخی مراحل کلیدی ترمیم زخم‌های جلدی داشته باشد؛ هرچند انجام مطالعات گسترده‌تر برای تبیین دقیق‌تر سازوکارهای اثرگذاری آن ضروری است.

واژگان کلیدی: پوست، التیام زخم، موش صحرایی، کافئین خوراکی، هیستوپاتولوژی

مقدمه

پوست به عنوان بزرگ‌ترین اندام بدن، از سه لایه اپیدرم، درم و هیپودرم تشکیل شده است و نقش اساسی در حفاظت از بدن در برابر عوامل آسیب‌رسان محیطی، عوامل بیماری‌زا و جلوگیری از اتلاف آب بدن ایفا می‌کند (۱). ایجاد هرگونه گسستگی در پیوستگی سلولی یا آناتومیک بافت‌های بدن، چه در سطوح داخلی و چه در سطح پوست، به عنوان زخم شناخته می‌شود (۲). التیام زخم یکی از چالش‌های مهم در پزشکی و دامپزشکی به شمار می‌رود و یافتن روش‌هایی که بتوانند سرعت و کیفیت ترمیم زخم را بهبود بخشند، همواره مورد توجه پژوهشگران و جراحان بوده است. زخم‌های جلدی، علاوه بر آن که می‌توانند به عنوان مسیری برای ورود عفونت عمل کنند، از نظر ظاهری و زیبایی نیز اهمیت بالایی دارند و به همین دلیل از دیدگاه بالینی مورد توجه ویژه قرار می‌گیرند. این زخم‌ها ممکن است در اثر عوامل مختلفی از جمله جراحی، آسیب‌های فیزیکی و بیماری‌های پوستی ایجاد شوند.

فرایند ترمیم زخم شامل مجموعه‌ای هماهنگ از رویدادهای سلولی و مولکولی است که با هدف بازسازی بافت آسیب‌دیده رخ می‌دهد. این فرایند از دیدگاه بیولوژیک، پدیده‌ای دقیق، پویا و چندمرحله‌ای است که از طریق فازهای هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی انجام می‌شود (۳). برای دستیابی به ترمیم موفق، لازم است این مراحل در توالی مناسب، زمان مشخص و به صورت هماهنگ پیش روند. اختلال در هر یک از این مراحل می‌تواند موجب تأخیر در ترمیم یا تشکیل بافت ترمیمی ناکارآمد شود. عوامل متعددی از جمله اکسیژن‌رسانی، عفونت، وضعیت تغذیه، سن، هورمون‌های جنسی، استرس، دیابت، چاقی و برخی داروها می‌توانند بر روند ترمیم زخم و مکانیسم‌های سلولی و مولکولی دخیل در آن اثرگذار باشند (۴، ۵). هدف نهایی در ترمیم زخم، بازسازی سریع و مؤثر پیوستگی پوست و بازیابی عملکرد طبیعی و قابل قبول بافت ترمیمی است (۶). در سال‌های اخیر، کافئین به عنوان یکی از پرمصرف‌ترین ترکیبات زیست‌فعال در جهان، مورد توجه پژوهشگران

حوزه ترمیم زخم قرار گرفته است. این ترکیب که به طور گسترده در نوشیدنی‌هایی مانند قهوه و چای مصرف می‌شود، علاوه بر نقش شناخته شده خود در افزایش هوشیاری، دارای خواص ضدالتهابی و ضددردی نیز هست (۷). مطالعات نشان داده‌اند که کافئین می‌تواند از طریق تعدیل پاسخ‌های التهابی و محافظت سلولی، بر روند ترمیم زخم اثرگذار باشد (۸). در مقابل، برخی پژوهش‌ها نیز نشان داده‌اند که کافئین ممکن است با مهار فعالیت فیبروبلاست‌ها و کاهش سنتز کلاژن، بر برخی مراحل ترمیم زخم اثر بازدارنده داشته باشد (۹، ۱۰). این یافته‌های متناقض نشان می‌دهد که اثر کافئین بر ترمیم زخم، فرایندی وابسته به دوز، نوع مصرف و شرایط بافتی است و همچنان نیازمند بررسی‌های دقیق‌تر می‌باشد.

با توجه به مصرف گسترده کافئین در جوامع انسانی، شیوع بالای زخم‌های جلدی و اهمیت تسریع روند ترمیم آن‌ها، و همچنین محدود بودن مطالعات انجام‌شده درباره اثر مصرف خوراکی کافئین بر التیام زخم‌های پوستی، انجام پژوهش‌های بیشتر در این زمینه ضروری به نظر می‌رسد. از این رو، در مطالعه حاضر تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی در مدل حیوانی موش صحرایی، از طریق ارزیابی شاخص‌های هیستوپاتولوژیک اصلی ترمیم زخم، بررسی بالینی و ثبت روند ظاهری التیام، مورد بررسی قرار گرفت تا دیدگاهی جامع از اثرات این ترکیب بر فرایند ترمیم بافت ارائه شود.

مواد و روش کار

مواد آزمایشگاهی

به منظور بررسی تأثیر کافئین خوراکی بر روند التیام زخم، از کافئین بدون آب (Caffeine anhydrous)، بیش از ۹۹ درصد خلوص، (Fluka Chemie AG، سوئیس) استفاده شد. کافئین در آب مقطر دوبار تقطیر شده حل و برای تجویز خوراکی آماده گردید.

تهیه و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی

در این پژوهش، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ از نژاد Sprague-Dawley با میانگین وزن تقریبی ۲۵۰ گرم و دامنه سنی ۶ تا ۸ هفته، از مرکز تحقیقات دانشگاه علوم پزشکی شیراز (شیراز، ایران) تهیه شدند. حیوانات به مدت ۱۰ روز پیش از آغاز مطالعه در شرایط استاندارد نگهداری شده و با محیط آزمایشگاه سازگار شدند. موش‌های صحرایی در قفس‌های پلاستیکی مجزا با ابعاد ۵۰×۴۰×۴۵ سانتی‌متر، در شرایط دمایی ثابت و تهویه مناسب نگهداری می‌شدند. طی دوره سازگاری و همچنین در طول انجام مطالعه، آب آشامیدنی و جیره غذایی استاندارد به‌صورت آزاد در اختیار حیوانات قرار داشت.

ملاحظات اخلاقی: این مطالعه پس از اخذ تأییدیه از کمیته اخلاق در پژوهش دانشگاه..... (کد اخلاق: ۹۸۳۲۶۱۶) انجام شد و تمامی مراحل نگهداری، مراقبت، مداخله و آسان‌کشی حیوانات مطابق دستورالعمل‌های اخلاقی کار با حیوانات آزمایشگاهی صورت گرفت.

گروه‌بندی حیوانات آزمایشگاهی

پس از پایان دوره سازگاری، حیوانات به‌صورت تصادفی به سه گروه مساوی ($n=10$) تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل (بدون دریافت کافئین)
 ۲. گروه دریافت‌کننده کافئین با مقدار ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (Caffeine 20)
 ۳. گروه دریافت‌کننده کافئین با مقدار ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن (Caffeine 50)
- لازم به ذکر است که انتخاب دوزهای ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن بر اساس مطالعات پیشین و با در نظر گرفتن محدوده دوزهای ایمن و مؤثر گزارش‌شده در مدل‌های حیوانی انجام گرفت (۱۱، ۱۲).

پس از ایجاد زخم پوستی، تجویز خوراکی کافئین به‌صورت روزانه آغاز شد و به‌مدت ۱۰ روز ادامه یافت. در هر گروه، نیمی از حیوانات ($n=5$) تا روز دهم نگهداری شدند و پس از آسان‌کشی به روش استنشاق تدریجی گاز دی‌اکسید کربن (CO_2)، نمونه‌های بافتی از ناحیه زخم جهت

ارزیابی‌های هیستوپاتولوژیک برداشت گردید. نیم دیگر حیوانات در هر گروه بدون نمونه‌برداری تا روز ۲۱ تحت پایش و ارزیابی بالینی روند ترمیم زخم قرار گرفتند. تمامی حیوانات طی دوره مطالعه تحت شرایط محیطی و تغذیه‌ای یکسان نگهداری شدند.

روش ایجاد زخم پوستی

پیش از انجام جراحی، وزن حیوانات ثبت شد. سپس بیهوشی عمومی با تزریق داخل عضلانی زایلازین هیدروکلراید ۲ درصد با دوز ۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کتامین هیدروکلراید ۱۰ درصد با دوز ۱۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم (هر دو محصول شرکت آلفاسان، هلند) در عضله ران انجام گرفت. پس از حصول بیهوشی مناسب، ناحیه پشتی بدن بین مهره‌های سینه‌ای و کمری تراشیده و ضدعفونی شد. سپس یک زخم پوستی تمام‌ضخامت به شکل مربع و به ابعاد ۲ در ۲ سانتی‌متر ایجاد گردید تا مدل تجربی ترمیم زخم فراهم شود.

روش تجویز کافئین

در این مطالعه، کافئین به‌صورت خوراکی و روزانه با استفاده از نیدل فلزی گاوآژ مخصوص جوندگان آزمایشگاهی تجویز شد. تجویز کافئین از روز ایجاد زخم آغاز گردید و به‌مدت ۱۰ روز متوالی ادامه یافت. برای تهیه محلول دارویی، مقدار مشخصی از پودر کافئین خالص در آب مقطر دوبار تقطیرشده حل شد تا محلولی یکنواخت حاصل گردد، به طوری که هر کدام از گروه‌های دریافت‌کننده ۲۰ و ۵۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم کافئین، این مقدار را دریافت نمایند؛ در تمام مدت انجام این پژوهش گروه کنترل، دریافت‌کننده آب مقطر به عنوان جایگزین محلول کافئین‌دار بود. تجویز دارو برای هر حیوان به‌صورت انفرادی، در زمان ثابت روزانه و با رعایت کامل اصول بهداشتی انجام شد.

ارزیابی بالینی و ظاهری

سطح زخم‌ها به‌صورت روزانه از نظر رنگ، ترشحات، وضعیت ظاهری و روند بسته‌شدن زخم مورد بررسی و ثبت قرار گرفت. همچنین برای مستندسازی روند ترمیم، در روزهای

نتایج

ارزیابی بالینی

در این مطالعه، وضعیت ظاهری زخم‌ها به صورت روزانه و از نظر شاخص‌هایی شامل شکل، اندازه، میزان کشش زخم، میزان نزدیک شدن لبه‌های زخم، وجود یا عدم وجود عفونت و آلودگی سطحی، رنگ و میزان تشکیل بافت ج创ه‌گوشتی و لخته مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها نشان داد که زخم‌های ایجادشده در روز صفر (تصویر ۲) طی هفته نخست در تمامی گروه‌ها با روند مناسبی دچار انقباض شده و هم‌گرایی قابل قبول لبه‌های زخم حاصل گردید. در این مرحله، تشکیل لخته سطحی به عنوان یکی از مراحل اولیه ترمیم مشاهده شد که در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافتین (50 mg/kg) از نظر ضخامت و کیفیت، وضعیت مطلوب‌تری داشت.

از روز هفتم به بعد، روند ترمیم میان گروه‌ها از نظر سرعت بسته شدن زخم‌ها تفاوت نشان داد؛ به گونه‌ای که در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر، پیشرفت ترمیم و کاهش سطح زخم به صورت بارز سریع‌تر از سایر گروه‌ها بود. در روز دهم، به منظور مقایسه روند ترمیم، تصویربرداری مجدد انجام شد (تصویر ۳).

در پایان هفته سوم، زخم در گروه دوز بالا تقریباً به طور کامل بسته شده بود و کشش لبه‌های زخم در سطح رضایت‌بخشی قرار داشت. در برخی نمونه‌ها، بازسازی (regeneration) و تشکیل کامل اپیدرم روی زخم نیز مشاهده شد. در گروه کنترل و گروه دوز پایین، میزان جمع‌شدگی لبه‌ها کمتر بود و در برخی نمونه‌ها مرحله بازآرایی (remodeling) از دید بالینی هنوز کامل نشده بود (تصویر ۴).

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

به منظور ارزیابی هیستوپاتولوژیک، نمونه‌ها توسط یک پاتولوژیست به صورت کور (blind) و با استفاده از میکروسکوپ نوری بررسی شدند و ۱۰ شاخص مهم در روند ترمیم زخم ارزیابی گردید. در میان این شاخص‌ها، دو

۰، ۷، ۱۰ و ۲۱ از زخم‌ها تصویربرداری انجام شد. تصاویر با دوربین تلفن همراه آیفون ۱۲ معمولی، ثبت گردید.

ارزیابی هیستوپاتولوژیک

نمونه‌های بافتی پس از برداشت در محلول فرمالین بافر ۱۰ درصد تثبیت شدند. سپس از ناحیه مرکزی بافت ج创ه گوشتی و حاشیه‌های پوست سالم مجاور نمونه‌برداری انجام شد و مطابق مراحل استاندارد، بلوک‌های پارافینی تهیه گردید. از هر نمونه، برش‌هایی با ضخامت ۵ میکرومتر با استفاده از میکروتوم تهیه شد. لام‌های بافتی پس از رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ئوزین (Hematoxylin and Eosin staining; H&E) با میکروسکوپ نوری از برند Olympus و نوع cx21 مورد ارزیابی قرار گرفتند. در این مطالعه، ۱۰ شاخص اصلی مرتبط با ترمیم زخم به صورت هیستوپاتولوژیک بررسی شد. همچنین برای ارزیابی میزان تشکیل و بلوغ رشته‌های کلاژن از رنگ‌آمیزی رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining) استفاده گردید. در این روش، رشته‌های کلاژن به رنگ آبی مشاهده می‌شوند؛ به طوری که کلاژن‌های نابالغ و نامنظم به رنگ آبی روشن و کلاژن‌های بالغ و منظم به رنگ آبی تیره دیده می‌شوند.

علاوه بر این، حضور ماست سل‌ها که به صورت اتفاقی در نمونه‌ها مشاهده گردید، به صورت نیمه کیفی ارزیابی شد. شاخص‌های اصلی پاتولوژیک ارزیابی شده در این مطالعه (تصویر ۱) به شکل نیمه کیفی گزارش شدند و برای هر حالت از این شاخص‌های نام برده یک امتیاز در نظر گرفته شد که سپس مورد آنالیز آماری قرار گرفت.

آنالیز آماری داده‌ها

برای تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. با توجه به ماهیت نیمه کیفی داده‌های هیستوپاتولوژیک، آزمون Kruskal-Wallis برای تحلیل استفاده گردید و نتایج به صورت جدول گزارش شد. در تمامی تحلیل‌ها، مقدار p کمتر از ۰.۰۵ به عنوان سطح معنی‌داری آماری در نظر گرفته شد و اختلاف میان گروه‌ها در این سطح معنی‌دار تلقی گردید.

التهاب

التهاب نخستین پاسخ بدن به آسیب است که در فاز عروقی با اتساع عروق و در فاز سلولی با جذب سلول‌های التهابی به محل زخم همراه می‌شود. اگرچه وجود التهاب برای آغاز ترمیم ضروری است، تداوم آن بیش از ۲۴ تا ۳۶ ساعت می‌تواند به‌عنوان عامل مداخله‌گر در روند ترمیم مطرح باشد (۱۳). در مطالعه حاضر، میزان التهاب در گروه دوز بالا کمتر از سایر گروه‌ها بود، اما تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (تصاویر ۵ و ۶).

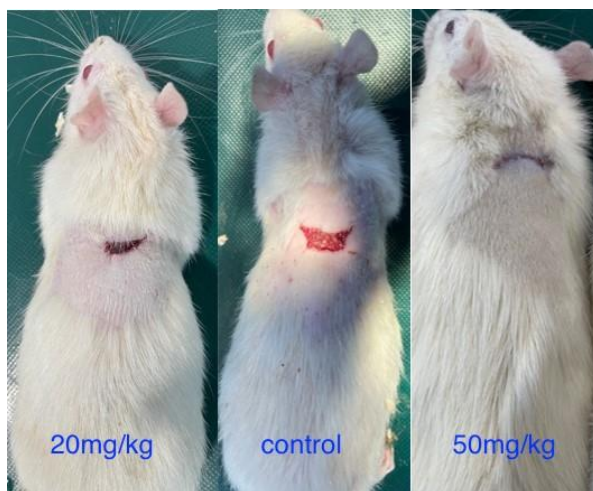
فاکتور اصلی شامل تشکیل بافت جوانه‌گوشتی (granulation tissue) و بازآپی‌تلیالیزاسیون (re-epithelialization) در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین خوراکی (50 mg/kg) به‌طور معنی‌دار بهتر از دو گروه دیگر بود. در ادامه، هر یک از فاکتورهای پاتولوژیک به تفکیک گزارش می‌شوند.

فاکتور هیستوپاتولوژیک	دستمبندی امتیازدهی (نمره)
بافت گرانولاسیون (جوانه‌گوشتی)	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳، غایب-۴
التهاب	فراوان-۱، متوسط-۲، اندک-۳
جهت‌گیری رشته‌های کلاژن	عمودی-۱، مختلط-۲، افقی-۳
الگوی کلاژن	شبکه‌ای-۱، مختلط-۲، دسته‌ای-۳
میزان کلاژن زودرس	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳، غایب-۴
میزان کلاژن بالغ	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳
بازپوشانی اپیتلیال (re-epithelialization)	وجود دارد (بله-۱)، وجود ندارد (خیر-۲)
فیبروبلاست	خفیف-۱، متوسط-۲، شدید-۳
عروق تازه تشکیل‌یافته	خفیف-۱، متوسط-۲، شدید-۳
تعداد ماست‌سل‌ها	فراوان-۱، متوسط-۲، کم-۳

تصویر ۱: شاخص‌های پاتولوژیک ارزیابی شده در ترمیم زخم (۱۳)



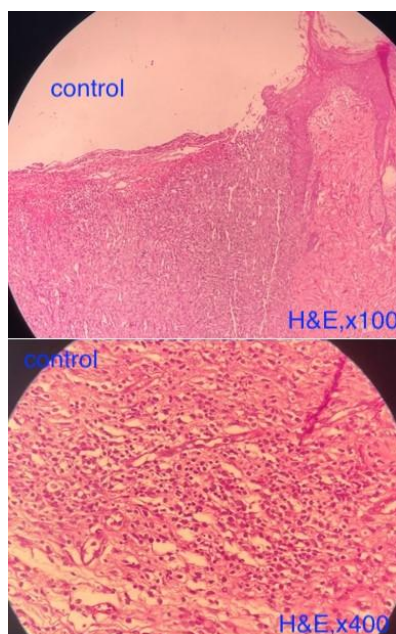
تصویر ۲: نمای زخم‌ها در روز صفر



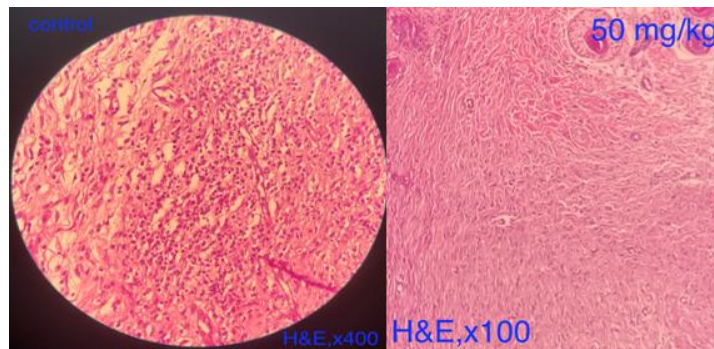
تصویر ۳: نمای زخم ها در روز دهم، به ترتیب از راست به چپ، گروه ۵۰ mg/kg، گروه کنترل، گروه ۲۰ mg/kg



تصویر ۴: نمای روز بیست و یکم، به ترتیب از راست به چپ، گروه ۵۰ mg/kg، گروه کنترل، گروه ۲۰ mg/kg



تصویر ۵: وجود التهاب حاد و اختلال در ترمیم به دلیل التهاب در تصویر بالا



تصویر ۶: مقایسه مقدار کم التهاب در گروه ۵۰ mg/kg در سمت راست و التهاب حاد در گروه کنترل در سمت چپ تصویر

جهت‌گیری الیاف کلاژن (collagen fiber orientation)

پس از تشکیل کلاژن، جهت‌گیری الیاف آن یکی از شاخص‌های بلوغ ترمیم محسوب می‌شود. تغییر جهت از حالت افقی به آرایش مخلوط یا عمودی‌تر نشان‌دهنده بلوغ بیشتر بافت ترمیمی است (۱۵). در گروه دوز بالا، آرایش الیاف کلاژن نسبت به سایر گروه‌ها بیشتر به سمت حالت مخلوط و بالغ مشاهده شد.

الگوی کلاژن (pattern of collagen)

نظم و الگوی قرارگیری الیاف کلاژن شاخص دیگری از کیفیت ترمیم زخم است. الگوی منظم‌تر و نزدیک‌تر به الگوی رتیکولار نشان‌دهنده ترمیم بهتر است (۱۵). در این شاخص، تفاوت قابل توجهی بین گروه‌ها مشاهده نشد و الگوی کلاژن در هر سه گروه مشابه بود.

میزان کلاژن بالغ و نابالغ

ارزیابی کلاژن بالغ و نابالغ با استفاده از رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining) انجام شد. افزایش نسبت کلاژن بالغ به نابالغ نشان‌دهنده پیشرفت بازآرایی و بهبود ترمیم است (۱۵). در مطالعه حاضر، به صورت توصیفی میزان کلاژن بالغ در گروه دوز بالا بیشتر بود، اما تفاوت آماری معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد (تصویر ۹).

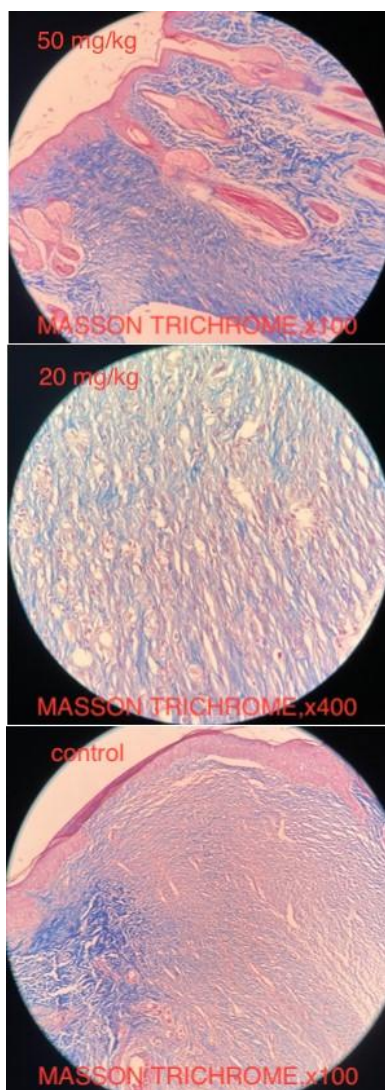
تشکیل بافت جوانه‌گوشتی (granulation tissue)

بافت جوانه‌گوشتی طی روزهای ۳ تا ۵ پس از زخم و پس از فاز التهاب حاد تشکیل می‌شود و شامل رگ‌زایی (angiogenesis)، تکثیر فیبروبلاست‌ها، رسوب کلاژن اولیه و تشکیل ماتریکس خارج سلولی است. این بافت با ترشح فاکتورهای مانند فاکتور رشد تبدیل‌کننده بتا-۲ (Transforming Growth Factor- β 2; TGF- β 2) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) موجب تسهیل تکثیر فیبروبلاست‌ها و رگ‌زایی شده و ورود به فاز تکثیر را ممکن می‌سازد. همچنین در پاکسازی بافت نکروتیک و میکروبی از طریق ماکروفاژها نقش دارد و زمینه ورود به فاز بازآرایی را فراهم می‌کند (۱۳).

در این مطالعه، میزان تشکیل بافت جوانه‌گوشتی در گروه دریافت‌کننده دوز بالاتر کافئین نسبت به دو گروه دیگر بیشتر بود که نشان‌دهنده روند ترمیم مطلوب‌تر در این گروه است (تصویر ۷).

بازآپی تلیالیزاسیون (re-epithelialization)

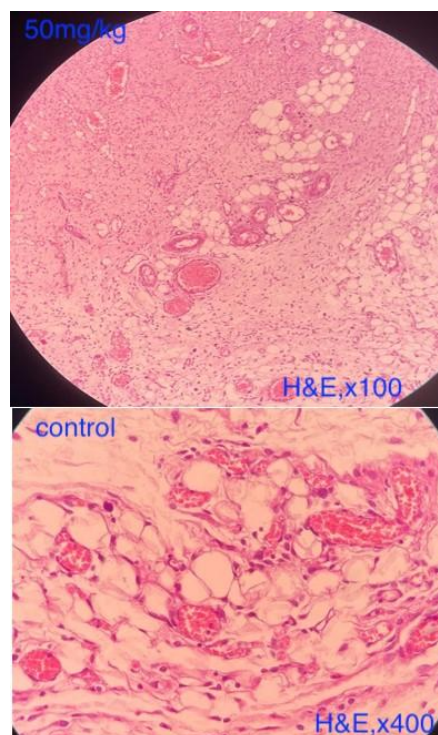
بازسازی اپی‌تلیوم مهم‌ترین شاخص ترمیم کامل زخم است و نشان‌دهنده پوشش مجدد سطح زخم توسط سلول‌های اپی‌تلیال می‌باشد (۱۴). در مطالعه حاضر، در گروه دریافت‌کننده مقدار بیشتر کافئین، تشکیل اپی‌تلیوم در تمامی نمونه‌ها مشاهده شد و این گروه تفاوت معنی‌دار با دو گروه دیگر نشان داد (تصویر ۸).



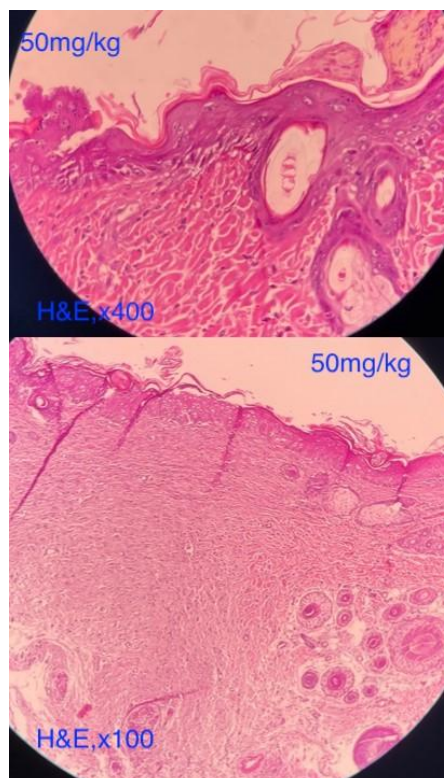
تصویر ۹: کلاژن بالغ در بالا، کلاژن نابالغ در میانه و تشکیل کلاژن‌های اولیه یا نابالغ در محل زخم در کنار بافت سالم که دارای کلاژن بالغ یا ثانویه است در تصویر پایین قابل مشاهده است. رنگ آمیزی اختصاصی تری کروم ماسون (Masson's trichrome staining)

فیبروبلاست‌ها و عروق جدید

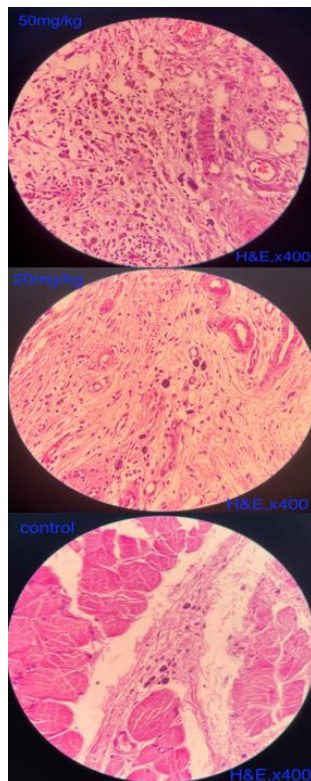
افزایش فیبروبلاست‌ها و رگ‌زایی از شاخص‌های اصلی فاز تکثیر هستند (۱۶). در این مطالعه، تفاوت آماری معنی‌داری مشاهده نشد، اما به صورت توصیفی میزان فیبروبلاست‌ها و عروق جدید در گروه دوز بالا (۵۰ mg/kg) بیشتر بود. با توجه به نقش این دو در تشکیل بافت جوانه‌گوشتی، این یافته می‌تواند نشان‌دهنده بهبود نسبی روند ترمیم در این گروه باشد (تصویر ۱۰).



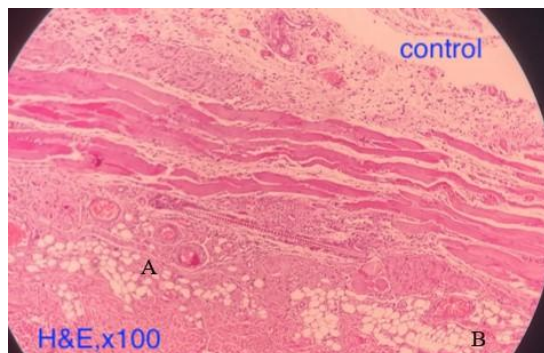
تصویر ۷: بافت جوانه‌گوشتی در بالا و احتقان (Congestion) و ادم به عنوان یک نشانه تشکیل بافت جوانه‌گوشتی در پایین



تصویر ۸: اپی‌تلیالیزاسیون مجدد و تشکیل بافت اسکار در زخم



تصویر ۱۱: مقایسه مقدار ماست سل در زخم ها، به ترتیب مقدار زیاد این سلول ها در تصویر بالا، متوسط در تصویر میانی و کم در تصویر پایین



تصویر ۱۲: حضور جسم خارجی گیاهی در برخی نمونه ها (در فاصله نقطه A تا B)

بحث

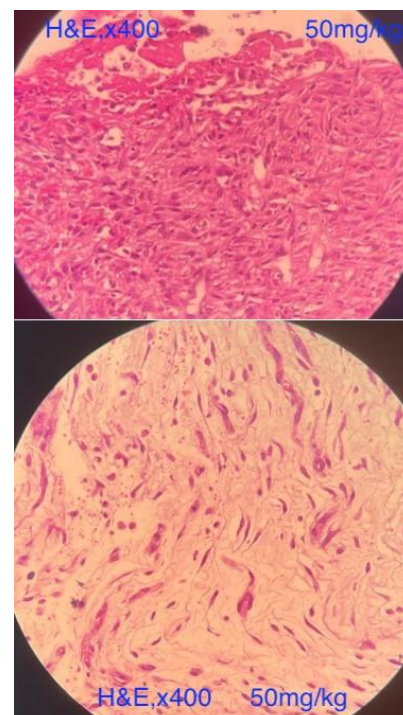
کافئین یکی از پرمصرف ترین آلکالوئیدهای طبیعی موجود در رژیم غذایی انسان است که به طور گسترده در نوشیدنی هایی نظیر قهوه، چای، کاکائو و نوشابه های انرژی زا یافت می شود. این ترکیب متیل گزانتینی، به دلیل ویژگی های فارماکولوژیک متنوع از جمله مهار گیرنده های آدنوزین، اثرات ضدالتهابی و تنظیم کنندگی پاسخ سلولی در سال های اخیر مورد توجه گسترده پژوهشگران علوم زیستی و پزشکی قرار گرفته است. با توجه به نقش کلیدی

ماست سل ها

ماست سل ها در تنظیم پاسخ التهابی و فاز تکثیر از طریق ترشح واسطه هایی مانند اینترلوکین-۱ (IL-1)، فاکتور نکروز توموری آلفا (Tumor Necrosis Factor- α ; TNF- α)، فاکتور رشد تبدیل کننده بتا-۲ (Transforming Growth Factor- β 2; TGF- β 2) و فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) نقش دارند (۱۷). در مطالعه حاضر، حضور ماست سل ها در گروه دریافت کننده دوز بالاتر به صورت توصیفی بیشتر مشاهده شد، اما تفاوت معنی داری بین گروه ها وجود نداشت (تصویر ۱۱).

جسم خارجی

وجود جسم خارجی یکی از عوامل مداخله گر در روند ترمیم زخم است (۱۴). در یکی از نمونه ها، جسم خارجی با منشأ گیاهی به صورت تصادفی مشاهده شد (تصویر ۱۲) که احتمالاً ناشی از ورود ذرات بستر (خرده چوب) به زخم بوده و موجب اختلال در روند ترمیم شده است.



تصویر ۱۰: تشکیل رگ های جدید در بالا و تکثیر فیبروبلاست ها در پایین

مسیرهای وابسته به آدنوزین در تنظیم التهاب، تکثیر سلولی، آنژیوژنز و بازسازی ماتریکس خارج سلولی، بررسی اثر کافئین بر فرایند ترمیم زخم، به ویژه از طریق مصرف خوراکی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. با این حال، مرور مطالعات پیشین نشان می‌دهد که شواهد موجود در این زمینه همچنان محدود و در برخی موارد متناقض هستند؛ موضوعی که ضرورت انجام پژوهش‌های دقیق‌تر را برجسته می‌سازد (۱۸).

مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر مصرف خوراکی کافئین بر روند ترمیم زخم‌های جلدی در مدل حیوانی موش صحرایی انجام شد. نتایج به دست آمده نشان داد که مصرف خوراکی کافئین، به ویژه در گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم کافئین به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، موجب بهبود برخی شاخص‌های کلیدی ترمیم زخم می‌گردد. در ارزیابی بالینی، زخم‌های گروه دریافت کننده دوز بالای کافئین سرعت بیشتری در جمع شدن لبه‌های زخم و بسته شدن کامل ضایعه نشان دادند و در برخی نمونه‌ها تشکیل کامل اپیدرم نیز مشاهده شد. در بررسی‌های هیستوپاتولوژیک نیز میزان تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپی‌تلیالیزاسیون مجدد در گروه دوز بالا به صورت معناداری بیشتر از سایر گروه‌ها بود. همچنین اگرچه تفاوت آماری معناداری در شاخص‌هایی نظیر التهاب، تکثیر فیبروبلاست‌ها، رگ‌زایی، میزان بلوغ کلاژن و حضور ماست سل‌ها مشاهده نشد، اما ارزیابی توصیفی این شاخص‌ها نیز عمدتاً به نفع گروه دریافت کننده دوز بالاتر کافئین بود.

فرایند ترمیم زخم یک پاسخ بیولوژیک پیچیده و چندمرحله‌ای است که شامل فازهای هموستاز، التهاب، تکثیر و بازسازی می‌باشد. این مراحل به صورت هم‌پوشان و در تعامل مستقیم با یکدیگر عمل می‌کنند و اختلال در هر یک از آن‌ها می‌تواند منجر به تأخیر در ترمیم یا تشکیل بافت ترمیمی ناکارآمد گردد. در فاز التهابی، نوتروفیل‌ها و ماکروفاژها با حذف عوامل میکروبی و بقایای سلولی، بستر لازم را برای آغاز بازسازی بافت فراهم می‌کنند. در ادامه،

طی فاز تکثیری، رگ‌زایی، تکثیر فیبروبلاست‌ها، تشکیل بافت جوانه گوشتی و مهاجرت سلول‌های اپیتلیال نقش اصلی را در بازسازی بافت ایفا می‌کنند. در نهایت، طی فاز بازآرایی (remodeling)، آرایش مجدد رشته‌های کلاژن و بلوغ بافت همبند موجب افزایش استحکام زخم می‌شود (۱۳).

یکی از مهم‌ترین یافته‌های مطالعه حاضر، افزایش معنادار تشکیل بافت جوانه گوشتی در گروه دریافت کننده مقدار بیشتر کافئین بود. بافت جوانه گوشتی، شاخص اصلی ورود زخم به فاز تکثیری محسوب می‌شود و از مجموعه‌ای شامل مویرگ‌های تازه تشکیل شده، فیبروبلاست‌های فعال، سلول‌های التهابی و ماتریکس خارج سلولی تشکیل شده است. افزایش این بافت نشان‌دهنده فعال شدن مناسب فرایندهای ترمیمی از جمله رگ‌زایی و ساخت ماتریکس خارج سلولی است. از سوی دیگر، تشکیل مطلوب بافت جوانه گوشتی می‌تواند شرایط لازم برای مهاجرت کراتینوسیت‌ها و پوشش مجدد اپیتلیال را فراهم کند؛ موضوعی که با افزایش معنادار اپی‌تلیالیزاسیون مجدد در گروه دوز بالا در مطالعه حاضر هم‌خوانی داشت.

تشکیل مجدد اپیتلیوم یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ترمیم موفق زخم محسوب می‌شود؛ زیرا بازسازی سد اپیدرمال نه تنها از اتلاف مایعات جلوگیری می‌کند، بلکه احتمال آلودگی و عفونت ثانویه را نیز کاهش می‌دهد. در مطالعه حاضر، گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن کافئین، بهترین وضعیت اپی‌تلیالیزاسیون مجدد را نشان داد. این یافته می‌تواند بیانگر آن باشد که مصرف خوراکی کافئین، برخلاف برخی گزارش‌های مربوط به مصرف موضعی، در شرایط خاص قادر است از طریق تعدیل پاسخ التهابی و بهبود شرایط متابولیک بافت، روند بازسازی اپیدرم را تسهیل نماید.

اگرچه تفاوت معناداری در میزان التهاب میان گروه‌ها مشاهده نشد، اما کاهش توصیفی التهاب در گروه دوز بالا می‌تواند از نظر بیولوژیک قابل توجه باشد. التهاب کنترل شده و محدود، برای آغاز روند ترمیم ضروری است،

اما تداوم بیش از حد آن می‌تواند باعث افزایش تخریب بافتی و اختلال در تکثیر سلولی شود. مطالعات مختلف نشان داده‌اند که کافئین می‌تواند از طریق مهار برخی مسیرهای التهابی وابسته به آدنوزین و کاهش تولید واسطه‌های التهابی، شدت التهاب مزمن را کاهش دهد (۱۹). به نظر می‌رسد چنین اثری بتواند شرایط مطلوب‌تری برای ورود زخم به فاز تکثیری فراهم سازد.

در بررسی آرایش و بلوغ رشته‌های کلاژن نیز اگرچه تفاوت معناداری میان گروه‌ها مشاهده نشد، اما در گروه دریافت‌کننده دوز بالای کافئین، جهت‌گیری رشته‌های کلاژن به سمت الگوی مختلط و بالغ‌تر متمایل بود. این موضوع می‌تواند نشان‌دهنده پیشرفت بهتر فرایند بازآرایی در این گروه باشد. از آنجا که آرایش مناسب رشته‌های کلاژن نقش مهمی در استحکام و کیفیت نهایی بافت ترمیمی دارد، این یافته توصیفی نیز می‌تواند در کنار سایر نتایج به نفع اثرات مثبت کافئین بر ترمیم زخم تفسیر شود. در مطالعه حاضر، میزان تکثیر فیبروبلاست‌ها و تشکیل عروق جدید نیز در گروه دوز بالا بیشتر بود، هرچند این اختلاف از نظر آماری معنادار نبود. با توجه به نقش کلیدی فیبروبلاست‌ها در سنتز کلاژن و تولید ماتریکس خارج سلولی، و همچنین اهمیت آنژیوژنز در تأمین اکسیژن و مواد غذایی موردنیاز بافت ترمیمی، افزایش توصیفی این شاخص‌ها می‌تواند بیانگر تحریک نسبی فاز تکثیری توسط کافئین باشد. علاوه بر این، افزایش حضور ماست سل‌ها در گروه دوز بالا نیز ممکن است با ترشح فاکتورهای رشد و واسطه‌های التهابی مرتبط باشد؛ اگرچه نقش دقیق این سلول‌ها در ترمیم زخم همچنان به‌طور کامل مشخص نشده است (۱۷).

یافته‌های مطالعه حاضر با برخی مطالعات پیشین هم‌خوانی و با برخی دیگر تفاوت دارد. اوجه و همکاران گزارش کردند که کاربرد موضعی کافئین باعث مهار تکثیر و مهاجرت کراتینوسیت‌ها و در نتیجه تأخیر در اپیتلیالیزاسیون می‌شود (۱۲). تفاوت نتایج مطالعه حاضر با این پژوهش احتمالاً ناشی از تفاوت در مسیر مصرف کافئین، نوع مدل

آزمایشی، غلظت موضعی ماده و تفاوت‌های فارماکودینامیکی میان مصرف موضعی و خوراکی است. در مقابل، آفونسو و همکاران نشان دادند که استفاده موضعی از عصاره قهوه سبز باعث تسریع ترمیم زخم و کاهش اندازه ضایعه می‌شود (۲۰). اگرچه در آن مطالعه از عصاره کامل قهوه استفاده شده بود و نه کافئین خالص، اما نتایج آن تا حدودی با یافته‌های مطالعه حاضر در زمینه بهبود روند ترمیم هم‌راستا است.

همچنین نتایج مطالعه حاضر تا حدی با یافته‌های ییلماز و همکاران مطابقت دارد. آن‌ها نشان دادند که مصرف دوزهای بالاتر کافئین در مدل سوختگی با افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی و تغییر در بیان فاکتورهای مرتبط با ترمیم از جمله فاکتور رشد اندوتلیال عروقی (Vascular Endothelial Growth Factor; VEGF) و ماتریکس متالوپروتئیناز-۹ (Matrix Metalloproteinase-9; MMP-9) همراه است (۱۹). این یافته‌ها می‌توانند توضیحی برای افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی در گروه دوز بالای مطالعه حاضر باشند. از سوی دیگر، چن و همکاران گزارش کردند که مصرف خوراکی کافئین در موش‌ها منجر به تأخیر در بسته‌شدن زخم و کاهش تشکیل کلاژن می‌شود (۲۰). این اختلاف ممکن است ناشی از تفاوت در مدل زخم، مدت مطالعه، دوز مصرفی و روش‌های ارزیابی بافتی باشد. به‌طور کلی، به نظر می‌رسد اثر کافئین بر ترمیم زخم وابسته به دوز، مدت مواجهه، نوع زخم و مسیر مصرف باشد.

مطالعات دیگری نیز بر نقش بالقوه کافئین در تنظیم پاسخ ترمیمی تأکید کرده‌اند، آویژه و همکاران نشان دادند که پانسمان‌های حاوی کافئین موجب افزایش تعداد فیبروبلاست‌ها و رگ‌های خونی در بافت زخم می‌شوند (۲۳). همچنین مآ و همکاران گزارش کردند که کاربرد موضعی ژل کافئین در مدل اسکار هیپرتروفیک، موجب بهبود آرایش رشته‌های کلاژن و کاهش فیبروز می‌شود (۲۴). این یافته‌ها نیز تا حدودی با نتایج توصیفی

مشاهده شده در مطالعه حاضر در زمینه آرایش مناسب تر رشته های کلاژن همخوانی دارند.

به طور کلی، یافته های مطالعه حاضر نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین، به ویژه در گروه دریافت کننده مقدار ۵۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، می تواند برخی جنبه های کلیدی ترمیم زخم، از جمله تشکیل بافت جوانه گوشتی و بازسازی اپیتلیوم را بهبود بخشد. با این حال، با توجه به پیچیدگی فرایند ترمیم زخم و مشاهده برخی نتایج متناقض در مطالعات مختلف، همچنان نمی توان درباره اثر قطعی کافئین بر تمامی مراحل ترمیم زخم با اطمینان کامل اظهار نظر کرد. تفاوت در مدل های حیوانی، مسیر مصرف، مقدار مصرفی، مدت زمان مطالعه و روش های ارزیابی، همگی می توانند در بروز این اختلافات نقش داشته باشند.

از محدودیت های مطالعه اخیر می توان به محدود بودن مدت زمان ارزیابی، استفاده از یک مدل حیوانی و بررسی نشدن برخی مسیرهای مولکولی دخیل در ترمیم زخم اشاره کرد. بنابراین، انجام مطالعات آینده با حجم نمونه بیشتر، دوره های زمانی طولانی تر و ارزیابی دقیق تر مسیرهای سلولی و مولکولی می تواند به درک بهتر نقش کافئین در ترمیم زخم کمک نماید.

نتیجه گیری

نتایج حاصل از مطالعه حاضر، در کنار مقایسه آن با یافته های پژوهش های پیشین، نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین می تواند با بهبود نسبی روند ترمیم زخم های جلدی همراه باشد. ارزیابی های بالینی و ظاهری

در این پژوهش حاکی از آن است که مصرف روزانه کافئین، به ویژه در دوز بالاتر، موجب تسریع در جمع شدن و بسته شدن ضایعه و افزایش تشکیل بافت جوانه گوشتی می گردد؛ یافته هایی که بیانگر پیشرفت مطلوب تر فرایند ترمیم هستند. همچنین بررسی های هیستوپاتولوژیک نشان داد که مصرف کافئین از نظر میکروسکوپی نیز می تواند اثرات مثبتی بر روند التیام زخم داشته باشد. اگرچه در برخی شاخص های مورد بررسی اختلاف آماری معناداری میان گروه ها مشاهده نشد، اما افزایش معنادار تشکیل بافت جوانه گوشتی و اپی تلیالیزاسیون مجدد به عنوان دو شاخص اصلی و تعیین کننده در ارزیابی ترمیم موفق زخم در گروه دریافت کننده دوز بالای کافئین، همراه با روند توصیفی مطلوب تر در سایر فاکتورها، مؤید اثرات سودمند این ترکیب بر فرایند بازسازی بافت است. علاوه بر این، افزایش نسبی حضور ماست سل ها در بافت زخم می تواند بیانگر نقش احتمالی کافئین در تنظیم پاسخ های سلولی و التهابی دخیل در ترمیم باشد. در مجموع، یافته های این پژوهش نشان می دهد که مصرف خوراکی کافئین، در شرایط مطالعه حاضر، نه تنها اثر مہاری یا مخربی بر شاخص های ترمیم زخم نداشته، بلکه می تواند در برخی مراحل کلیدی التیام بافت، نقش تسهیل کننده ایفا کند. با این حال، برای تبیین دقیق تر سازوکارهای مولکولی و ارزیابی ارزش بالینی این اثرات، انجام مطالعات تکمیلی ضروری به نظر می رسد.

تعارض منافع:

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافع را در این پژوهش شناسایی نکرده اند.

منابع

1. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. European journal of dermatology. 2002 Jul 2;12(4):390-401.
2. George Broughton II, Janis JE, Attinger CE. Wound healing: an overview. Plastic and reconstructive surgery. 2006 Jun <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12095893/>

- 1;117(7S):1e-S.
<https://doi.org/10.1097/01.prs.0000222562.60260.f9>
3. Almadani YH, Vorstenbosch J, Davison PG, Murphy AM. Wound healing: a comprehensive review. In *Seminars in plastic surgery* 2021 Aug (Vol. 35, No. 03, pp. 141-144). Thieme Medical Publishers, Inc. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1731791>
 4. Guo SA, DiPietro LA. Factors affecting wound healing. *Journal of dental research*. 2010 Mar;89(3):219-29. <https://doi.org/10.1177/0022034509359125>
 5. Singh M, Govindarajan R, Nath V, Rawat AK, Mehrotra S. Antimicrobial, wound healing and antioxidant activity of *Plagiochasma appendiculatum* Lehm. et Lind. *Journal of Ethnopharmacology*. 2006 Aug 11;107(1):67-72. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.02.007>
 6. Singer AJ, Clark RA. Cutaneous wound healing. *New England journal of medicine*. 1999 Sep 2;341(10):738-46. <https://doi.org/10.1056/NEJM1999090234110>
 7. La Monica F, Campora S, Ghersi G. Collagen-based scaffolds for chronic skin wound treatment. *Gels*. 2024 Feb 8;10(2):137. <https://doi.org/10.3390/gels10020137>
 8. Pergolizzi S, D'Angelo V, Aragona M, Dugo P, Cacciola F, Capillo G, Dugo G, Lauriano ER. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of green coffee beans methanolic extract in rat skin. *Natural Product Research*. 2020 Jun 2;34(11):1535-41. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1523161>
 9. Ma Y, Liu Z, Miao L, Jiang X, Ruan H, Xuan R, Xu S. Mechanisms underlying pathological scarring by fibroblasts during wound healing. *International Wound Journal*. 2023 Aug;20(6):2190-206. <https://doi.org/10.1111/iwj.14097>
 10. Ojeh N, Stojadinovic O, Pastar I, Sawaya A, Yin N, Tomic-Canic M. The effects of caffeine on wound healing. *International wound journal*. 2016 Oct;13(5):605-13. <https://doi.org/10.1111/iwj.12327>
 11. AYDEMİR S, YILMAZ F, YILMAZ B, ILGEN O, KURT S, BAYKARA B. The effects of dose-dependent chronic caffeine consumption in a rat burn wound model. In *Book of Abstracts* (p. 74). <https://doi.org/10.22038/ijbms.2024.76513.16557>
 12. Supit T, Susilaningsih N, Prasetyo A. Effects of Caffeine Consumption on Autologous Full-Thickness Skin Graft Healing in an Animal Model. *Indian Journal of Plastic Surgery*. 2021 Sep;54(03):314-20. <https://doi.org/10.1055/s-0041-1734573>
 13. Kumar V, Abbas AK, Aster JC, Deyrup AT. Robbins and Kumar basic pathology, - south Asia edition-E-book. Elsevier Health

- Sciences; 2023 Mar 21.
<https://shop.elsevier.com/books/robbins-and-kumar-basic-pathology-11th-edition-south-asia-edition/kumar/978-81-312-6792-9>
14. Fossum TW. Small Animal Surgery E-Book: Small Animal Surgery E-Book. Elsevier Health Sciences; 2018 Apr 3.
<https://www.uk.elsevierhealth.com/small-animal-surgery-9780323443449.html>
15. Gupta A, Kumar P. Assessment of the histological state of the healing wound. Plastic and Aesthetic Research. 2015 Sep 15;2:239-42.
<https://doi.org/10.4103/2347-9264.158862>
16. Ng MF. The role of mast cells in wound healing. International wound journal. 2010 Feb;7(1):55-61.
<https://doi.org/10.1111/j.1742-481X.2009.00651.x>
17. Komi DE, Khomtchouk K, Santa Maria PL. A review of the contribution of mast cells in wound healing: involved molecular and cellular mechanisms. Clinical reviews in allergy & immunology. 2020 Jun;58(3):298-312.
<https://doi.org/10.1007/s12016-019-08729-w>
18. Bonyanian Z, Rose'Meyer RB. Caffeine and its potential role in attenuating impaired wound healing in diabetes. Journal of Caffeine Research. 2015 Dec 1;5(4):141-8.
<https://doi.org/10.1089/jcr.2015.0011>
19. Pergolizzi S, D'Angelo V, Aragona M, Dugo P, Cacciola F, Capillo G, Dugo G, Lauriano ER. Evaluation of antioxidant and anti-inflammatory activity of green coffee beans methanolic extract in rat skin. Natural Product Research. 2020 Jun 2;34(11):1535-41.
<https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1523161>
20. Affonso RC, Voytena AP, Fanan S, Pitz H, Coelho DS, Horstmann AL, Pereira A, Uarrota VG, Hillmann MC, Varela LA, Ribeiro-do-Valle RM. Phytochemical composition, antioxidant activity, and the effect of the aqueous extract of coffee (*Coffea arabica* L.) bean residual press cake on the skin wound healing. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. 2016;2016(1):1923754.
<https://doi.org/10.1155/2016/1923754>
21. Yilmaz F, Aydemir S, Yilmaz B, Ilgen O, Kurt S, Baykara B. Effects of dose-dependent chronic caffeine consumption in a rat burn wound model: Histopathological and immunohistochemical evaluation. Iranian Journal of Basic Medical Sciences. 2024;27(9):1180.
<https://doi.org/10.22038/IJBMS.2024.76513.16557>
22. Chen X, Luo F, Huang ZZ, Peng Y, Xiong RP, Li P. Effects of caffeine consumption on cutaneous wound healing and scar formation in

- mice.<https://doi.org/10.16016/j.1000-5404.202006248>
23. Avizheh L, Peirouvi T, Diba K, Fathi-Azarbayjani A. Electrospun wound dressing as a promising tool for the therapeutic delivery of ascorbic acid and caffeine. *Therapeutic Delivery*. 2019 Dec 1;10(12):757-67.
<https://doi.org/10.4155/tde-2019-0059>
24. Ma JC, Wang ZN, Xi MF, Yin D, Jiang LF, Qi J. Experimental study on the effect of caffeine hydrogel on the expression of TGF- β 1, α -SMA and collagen in hypertrophic scar of rabbit ears. *Journal of Burn Care & Research*. 2024 Jan 1;45(1):85-92.
<https://doi.org/10.1093/jbcr/irad115>

Abstracts in English

The effect of oral caffeine consumption on skin wound healing in rats: clinical and histopathological evaluation

Aboutorab Tabatabaei Naeini^{1*}, Ali Hosseinzadeh¹, Fatemeh Rahsepar¹, Alireza Shaikhzadeh¹

1. Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran.

Corresponding author: Aboutorab Tabatabaei Naeini * t-naeini@shirazu.ac.ir

* t-naeini@shirazu.ac.ir

Background: The skin, being the largest organ of the body, serves as the initial defense barrier against environmental damaging agents. Wound healing in the skin is a complex, dynamic, and multi-stage process resulting from the coordinated interaction of cellular, molecular, and tissue mechanisms. Caffeine is one of the most widely consumed bioactive compounds globally and has recently garnered attention from researchers for its potential benefits in wound healing due to its anti-inflammatory, and analgesic properties.

Objective: Given the clinical importance of wound healing in both human and veterinary medicine, especially in surgical settings, it is vital to explore the effects of oral caffeine consumption on cutaneous wound healing. This investigation could contribute to developing more effective therapeutic strategies, particularly in light of caffeine's widespread consumption in everyday life.

Methods: The present study involved 30 rats divided into three groups: a control group and two groups receiving different doses of oral caffeine (20 mg/kg and 50 mg/kg body weight). After creating skin wounds on the dorsal region of the rats, half of the animals were euthanized on Day 10, and tissue samples from both the wound area and adjacent healthy tissue were collected for histopathological evaluation. The other half were monitored clinically for the wound healing process until Day 21. Histopathological evaluation focused on ten main indicators related to wound healing.

Results: Clinical evaluations indicated that wound edge contraction, granulation tissue formation, and wound closure were significantly more favorable in the high-dose caffeine group compared to the others. Histopathological analysis showed that granulation tissue formation and re-epithelialization were substantially higher in the group receiving 50 mg/kg of caffeine compared to the control group, although no significant differences were found for other indicators. Additionally, an increased presence of mast cells was observed in the group that received a higher dose of caffeine, which could lead to future studies on the role of these cells in wound healing.

Conclusion: The findings suggest that oral caffeine administration, especially at higher doses, may positively affect specific stages of cutaneous wound healing. Further studies are needed to elucidate the underlying mechanisms more precisely.

Keywords: Skin, Wound healing, Rat, Oral caffeine, Histopathology

Contents

Prevalence and Distribution of Musculoskeletal Disorders in Riding and Jumping Horses ...	17
Effects of Oral Melatonin on Blood Profile Following Ovariectomy in Dogs	29
Isolation and Identification of Bacteria Forming Biofilms in Endotracheal Tubes of Small Animals	45
Assessment of Vancomycin Effect on Heart Rate and Electrocardiographic Indices...	52
Efficacy of Nano-Niosome Containing <i>Zataria Multiflora</i> Essential Oil in Control of Bacterial Keratitis...	63
The Effect of Oral Caffeine Consumption on Skin Wound Healing in Rats	79

Eltiam

Original Articles

Print ISSN: 2423-5695
Electronic-ISSN: 27833291

Publisher: Iranian Veterinary Surgery Association (IVSA)

Editor-in-Chief: Ahmadreza Mohamadnia

(Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad,
Mashhad, Iran)

Manager: Marzieh Faezi

Next Issue:

Diseases of Ornamental Birds: Identification and Surgical Interventions

Editorial Board

Baharak Akhtardanesh (Prof. of Small Animal Internal Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman)
Azin Tavakoli (Assoc.Prof. Veterinary Surgery, Islamic Azad University, Garmsar)
Mohammad Mehdi Dehghan (Prof. Veterinary Surgery, University of Tehran)
Aboutorab Tabatabai Naini (Prof. Veterinary Surgery, Siraz University)
Mohamad Mehdi Oloumi (Prof. Veterinary Surgery, Shahid Bahonar University of Kerman)
Seyed Mehdi Ghamsari (Prof. Veterinary Surgery, University of Tehran)
Ahmadreza Mohamadnia (Assoc.prof. Veterinary Surgery, Ferdowsi University of Mashhad)
Iradj Nowrouzian (Prof. Veterinary Surgery, University of Tehran)

Postal Address: Asian Highway, Opposite to Razavi Hospital, Faculty of Veterinary Medicine

Teaching Hospital, Secretariat of IVSA, Mashhad, Iran

PostalCode: 9187195786

Phone: 0098-5136579430

Fax: 0098-5136579430

Website: www.eltiamjournal.ir

Email Address: eltiam.ivsa@gmail.com

Eltiam

(Iranian Veterinary Surgery Association Journal)

ISSN 2423-5695

Electronic-ISSN: 27833291

Volume 13. Issue 1. 2026

Eltiam

Original Articles



Volume 13, Issue 1, 2026