

ارزیابی اثر پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از مسمومیت‌های باکتریایی غذایی در سگ

سام ترکان^{۱*}، داریوش شیرانی^۲، ابراهیم رحیمی^۳، کیوان قمی^۴

The Evaluation of Probiotic Effect on Prevention of Food Bacterial Poisoning in Dog

Torkan, S.^{1*}, Shirani, D.², Rahimi, E.³, Ghomi, K.⁴

1*- Graduated of clinical science, Faculty of veterinary medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran (saamtorkan@yahoo.com)

2- Professor of clinical science, Faculty of veterinary medicine, Tehran University, Tehran, Iran

3- Professor of Food Hygiene, Faculty of veterinary medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

4- Graduated of veterinary medicine, Shahrekord Branch, Islamic Azad University, Shahrekord, Iran

The present study was conducted to evaluate the effects of probiotics on the prevention of food poisoning and bacterial diarrhea in dogs. In order to achieve this, 15 male dogs from persian sheep dog breed, ages 1 to 2 years and 20 to 25 kg of weight were selected and after being physically examined were divided randomly in to 3 groups including one control (witness) group and two sub treatment groups which were fed by healthy, poisoned food containing probiotics (9 grams of primalac per 10 kg of food) and poisoned food respectively. In addition to the examination of general symptoms, starting from the 2nd day of the research, the feces of each dog were collected with 12 hour intervals and were examined for the total number aerobic microbes.

In this study the total number of aerobic microorganisms per each gram of feces on the 1st day was measured as the following: $73/4 \times 10^5$ in the control groups, $77/6 \times 10^5$ in the 1st sub treatment group and $80/1 \times 10^5$ in the 2nd sub treatment group following the study, the number of aerobic microorganisms of the feces in the 1st sub treatment group decreased gradually and reached $36/1 \times 10^5$ bacteria per 1 gram of feces on the 6th day, which showed a significant difference with the first day.

The average aerobic microorganisms of the faces in the 2nd sub treatment

Increased gradually and reached $172/5 \times 10^5$ bacterial per 1 gram of feces on the last day. In this group, there was also a significant difference between the number of bacterial on the first day and other days of the study. Other signs and changes intensified on 5th and 6th days of the study.

The result of the study showed that probiotics have an effective role on the decrease of digestive problems in a way that their addition to the diet of the 1st sub treatment group significantly decreased the occurrence of food poisoning in this group.

Key words: probiotics, Bacterial Poisoning, diet, dog

چکیده

مطالعه حاضر با هدف بررسی اثرات پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از مسمومیت‌های غذایی و اسهالهای باکتریایی در سگ، انجام شد. ۱۵ اقلاده سگ نر نژاد گلّه ایرانی ما بین ۱ تا ۲ سال و وزن بین ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم انتخاب و پس از اطمینان از سلامت آنها، به طور تصادفی ساده، به ۳ گروه، شامل گروه شاهد و ۲ گروه تیمار، تقسیم بندی شدند؛ که به ترتیب با غذای سالم، غذای مسموم با پروبیوتیک (پریمالاک ۹gr/10kg food) و غذای مسموم، تغذیه شدند. علاوه بر بررسی علائم عمومی، از روز دوم به مدت ۵ روز نمونه‌های مدفوع هر سگ با فاصله ۱۲ ساعت اخذ، و از نظر تعداد کلی میکروبیهای هوازی، مورد آزمایش قرار گرفتند.

تعداد کلی میکروارگانسیم های هوازی موجود در هر گرم مدفوع، روز اول، $73/4 \times 10^5$ در گروه شاهد، $77/6 \times 10^5$ در گروه تیمار اول و $80/1 \times 10^5$ در گروه تیمار ۲، برآورد شد. به تدریج تعداد میکروارگانسیم های هوازی مدفوع در گروه تیمار ۱ کاهش و در روز ۶ طرح به $36/1 \times 10^5$ باکتری در هر گرم مدفوع رسید، که اختلاف معنی داری را نسبت به روز اول طرح نشان می دهد. این تعداد در گروه تیمار ۲، به تدریج افزایش و به $172/5 \times 10^5$ باکتری در هر گرم مدفوع در روز آخر رسید که اختلاف معنی داری را نسبت به روز اول نشان می دهد. دیگر علائم و تغییرات در روز ۵ و ۶ طرح، تشدید گردید.

نتایج نشان داد که پروبیوتیک‌ها، نقش مؤثری در کاهش اختلالات دستگاه گوارش بازی می کنند به نحوی که اضافه نمودن آن به جیره غذایی گروه تیمار ۱، وقوع مسمومیت غذایی را در این گروه به طور قابل ملاحظه‌ای کاهش داد.

واژگان کلیدی: پروبیوتیک، مسمومیت باکتریایی، تغذیه، سگ

تاریخ دریافت: ۸۹/۳/۱۵ تاریخ پذیرش: ۸۹/۹/۲۰

مقدمه

یکی از بیماری‌های رایج در تغذیه‌ی سگ، مسمومیت‌های غذایی ناشی از افزایش لود باکتریایی غذای مصرفی حیوان محسوب می‌شود. از ابتدایی‌ترین علائم این حالت، ایجاد

*- دانش آموخته گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد،

ایران: (saamtorkan@yahoo.com)

۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- گروه بهداشت و مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

۴- دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شهرکرد، شهرکرد، ایران

واسطه‌ی منع مصرفی غذایی، به حالت طبیعی برگرداندن فلور دستگاه گوارش و... (۱۰).

در همین راستا، از صدها سال پیش، مصرف دوغ و ماست تازه، برای بازیافت جمعیت طبیعی میکروب‌های روده، مورد نظر انسان‌ها قرار داشته است. و در طب نوین استفاده از پروبیوتیک‌ها (Probiotic (pro=for, biotic=live)) (این لغت از کلمه‌ی یونانی پرو به معنای "برای" و بیوتیک به معنای "زندگی"، تشکیل شده است) (۳)، مورد توجه قرار گرفته است.

هدف اصلی از مصرف پروبیوتیک‌ها، جایگزینی آنها با باکتری‌های پاتوژن در فلور دستگاه گوارش می‌باشد. حضور آنها باعث عدم فعالیت پاتوژن‌ها می‌گردد زیرا با افزایش تعداد باکتری‌ها یا مخمرهای پروبیوتیکی در فلور گوارشی، دیگر جایی برای رشد و تولید توکسین توسط باکتری‌ها یا عوامل پاتوژن، باقی نخواهد ماند. آنها با تحریک بدن به منظور ساخت هورمون‌ها و عوامل و فاکتورهای شیمیایی، سیستم ایمنی بدن را نیز تقویت می‌کنند (۳ و ۸).

از انواع پروبیوتیک‌های موجود می‌توان به پروبیوتیک‌های: لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس (*Lactobacillus acidophilus*) - لاکتوباسیلوس بولگاریکوس (*L. bulgaricus*) - لاکتوباسیلوس ترموفیلوس (*L. thermophilus*) - لاکتوباسیلوس روتری (*L. reuteri*) - استرپتوکوکوس بولگاریکوس (*Streptococcus bulgaricus*) - انتروکوکوس فاسیوم (*Enterococcus faecium*) - بیفیدوباکتریوم بیفیدوس (*Bifidobacterium bifidus*) - ساکارومایسس بولاردی (*Saccharomyces boulardii*) و... اشاره نمود، که در بازار به صورت فراوان در دسترس هستند (۸). تحقیقات زیادی بر روی تأثیرات پروبیوتیک‌ها در انسان انجام شده است. با این وجود مطالعات بیشتری نیاز است که توانایی‌های آنها را در درمان بیماری‌ها بررسی کنند. تنها مکانیسم‌های کلی آنها در حال شناسایی است. نسبتاً تحقیقات

اسهال در حیوان می‌باشد. اسهال براساس زمان وقوع به ۲ گروه حاد (دوره‌ی آن کمتر از ۳ هفته است و اکثراً خود به خود بهبود می‌یابد) و گروه مزمن (مدت زمان رخداد آن بیشتر از ۳ هفته است و الگوی عود کننده دارند)، تقسیم می‌شوند (۶).

همچنین براساس آناتومی، وقوع با منشاء روده‌ی باریک و روده‌ی بزرگ، صورت می‌گیرد و به طور کلی با افزایش میزان آب مدفوع به دفعات دفع و حجم مدفوع، براساس فعالیت باکتری یا توکسین آن، شناخته می‌شود. علل مختلف ایجاد کننده‌ی این بیماری با اختلال در هضم (Digestion)، جذب (Absorption)، ترشح (Secretion) و تحرک (Motility) توصیف می‌شود (۵).

همانطور که عنوان گردید، ایجاد اختلال در هضم و پیامد آن در جذب مواد غذایی، می‌تواند علتی بر وقوع این بیماری محسوب شود. بر هم خوردن و عدم تعادل فلور باکتریایی مخاط دستگاه گوارش (به خصوص روده‌ها) را می‌توان از علت‌های دیگر این بیماری عنوان نمود. دلیل این برهم خوردن و عدم تعادل فلور باکتریایی مخاط دستگاه گوارش، می‌تواند افزایش پاتوژن به طریق مصرف مواد غذایی آلوده که دارای بار میکروبی بالا هستند، باشد. به طور کلی تعادل معمول میکروفلور دستگاه گوارش، ممکن است بر اثر مصرف داروهای گوناگون، تغییر رژیم غذایی، تماس یا وارد شدن ویروس‌ها و باکتری‌های پاتوژنیک یا التهاب مجاری معده‌ای - روده‌ای، بر هم بخورد. متخصصان در روش‌های درمانی این بیماری، تاکنون پیشنهادات متفاوتی را ارائه کرده‌اند و از موارد گوناگون داروها سود جستند (۳).

از جمله، مصرف داروهای کاهش‌دهنده‌ی حرکات گوارشی، مصرف برخی آنتی‌بیوتیک‌ها در موارد خاص اسهال‌های میکروبی، درمان‌های حمایتی شامل تأمین آب از دست رفته‌ی بدن و یا استراحت دادن به دستگاه گوارش با

۶- پروبیوتیک ترکیبی پریمالاک ساخت کشور ایالات متحد آمریکا (دارای سویه‌های لاکتوبایلوس، انتروکوکوس و بیفیدوباکتریوم).

روش کار

۱۵ قلاده سگ نر، نژاد گله ایرانی با سن ما بین ۱ تا ۲ سال و وزن بین ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم را به منظور شروع طرح آماده نمودیم. سپس آنها را به ۳ گروه ۵ قلاده‌ای تقسیم کردیم. (انتخاب تعداد گروه‌ها بر اساس روش آماری تجربی- استنباطی می‌باشد).

گروه الف، شامل ۵ قلاده سگی می‌باشد که تا انتهای طرح با غذای سالم و طبیعی تغذیه شدند. از این گروه، به منظور تهیه نمونه‌های مدفوع گروه شاهد و تعیین بار میکروبی مدفوع آنها استفاده شد.

گروه ب، یا گروه تیمار ۱، شامل ۵ قلاده سگی است که با غذای مسموم (غذایی که دارای بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/1gr food باشد) و پروبیوتیک ترکیبی پریمالاک (به میزان ۹ گرم برای هر ۱۰ kg غذای مسموم) تغذیه شدند.

گروه ج، یا گروه تیمار ۲، گروهی ۵ قلاده‌ای هستند که تنها با غذای مسموم (غذای دارای بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/1gr food) تغذیه گشتند.

پیش از آغاز طرح، جهت اطلاع از سلامت عمومی حیوانات مورد آزمون، معاینات بالینی از آنها صورت گرفت. معاینات شامل اندازه‌گیری پارامترهای مختلفی همچون: تعداد ضربان قلب در هر دقیقه، درجه حرارت بدن، تعداد تنفس در هر دقیقه، وضعیت پوست و مخاطات و وضعیت مدفوع هم از نظر حجم و هم از نظر قوام مدفوع، می‌باشد. نمونه خام این جدول را که برای روزهای طرح مورد استفاده قرار می‌گرفته است، در زیر مشاهده می‌نمایید.

کمی بر روی پروبیوتیک‌ها در سگ‌ها، گربه‌ها و حیوانات خانگی انجام شده است.

برخلاف تحقیقات کم، به نظر می‌آید پروبیوتیک‌ها کاملاً بی‌خطرند و نقش آنها در درمان بیماری‌های التهابی روده بر اثر تأثیرات کاهنده‌ی سیستم ایمنی، تأثیرات مخرب استفاده‌ی طولانی از آنتی‌بیوتیک‌ها بر روی میکروفلور دستگاه گوارش، درمان اسهال و زخم‌های روده‌ای بر اثر بیماری‌های عفونی، مورد توجه می‌باشد (۳).

با توجه به شرایط یاد شده، اهمیت موضوع این مطالعه به منظور بررسی دقیق‌تر اثرات پروبیوتیک‌ها در پیشگیری از مسمومیت‌های غذایی و متعاقباً ایجاد اسهال‌های باکتریایی در سگ، مشخص می‌گردد.

این تحقیق در نوع خود جدید و بی‌سابقه بوده و در این راستا، به ارتقاء سطح بهداشت و سلامت سگ‌های خانگی امید است. همچنین نتایج این مطالعه مقدمه‌ای برای مطالعات بعدی می‌باشد.

مواد و ابزار لازم جهت انجام این تحقیق

۱- ۱۵ قلاده سگ نر نژاد گله ایرانی با سن ما بین ۱ تا ۲ سال و وزن بین ۲۰ تا ۲۵ کیلوگرم

۲- قرص ضد انگل یونیورم (Univerm) ساخت کارخانه Meriden Animal Health کشور انگلستان

۳- پودر ضد انگل‌های خارجی Bolfo (پروبوکسور ۱٪) ساخت کارخانه بایر کشور ترکیه

۴- غذای سالم (به منظور تغذیه سگهای گروه شاهد) شامل سیب‌زمینی پخته و له شده و پای مرغ پخته

۵- غذای مسموم (به منظور تغذیه سگهای گروه‌های تیمار ۱ و تیمار ۲) شامل سیب‌زمینی پخته و له شده و پای مرغ پخته دارای بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/1gr food

جدول خام مورد استفاده در روزهای آزمون

تاریخ طرح : نوبت طرح: ساعت :

قوام مدفوع	کلونی کانت مدفوع CFU/Igr feces	تعداد تنفس در هر دقیقه	وضعیت پوست و مخاطات	درجه حرارت بدن	تعداد ضربان قلب در دقیقه	گروه الف
						۱
						۲
						۳
						۴
						۵
						گروه ب
						۱
						۲
						۳
						۴
						۵
						گروه ج
						۱
						۲
						۳
						۴
						۵

نمونه‌گیری از مدفوع هر ۳ گروه نمودیم (نمونه‌ها جهت اطمینان از پاک بودن دام‌ها از هرگونه آلودگی انگلی، به آزمایشگاه ارسال شدند). نمونه‌های مدفوع جمع‌آوری شده در این روز را با نام نمونه‌های روز ۱۰ قبل از طرح، نامگذاری نمودیم.

نمونه‌ها در شرایط مناسب در کنار یخ ($4^{\circ}\text{C} - 0$) به آزمایشگاه ارسال شدند. به منظور شمارش کلی میکروب‌های هوازی، از نمونه‌ها در شرایط استریل رقت سازی به عمل آمد. سپس از نمونه‌ها در رقت 10^{-5} ، به روش کشت مخلوط (ppc) در محیط آگار مغذی، کشت صورت گرفت. نمونه‌های کشت داده شده، به مدت ۲۴ ساعت در گرمخانه 37°C درجه سانتیگراد قرار گرفتند. سپس پلیت‌هایی که حاوی $300-30$ کلونی بودند، جهت شمارش انتخاب شدند.

پس از این مرحله به مدت ۱۰ روز، غذای یکسان و سالم را برای تغذیه هر ۳ گروه، استفاده نمودیم. پس از گذشت ۱۰ روز، به روز صفر یعنی روز آغاز طرح می‌رسیم. روز صفر به این دلیل این نام را دارد که در این روز، جیره غذایی مورد نظر

نتایج این معاینات، برای هر سگ، در جدول طراحی شده آنها، ثبت گردید. پس از بررسی نتایج و کسب اطمینان از سلامت عمومی این حیوانات، اقدام به انگل‌زدایی خارجی و داخلی نمودیم.

ضد انگل یونیورم، قرص ترکیبی می‌باشد که به صورت Single dose به کار می‌رود (ترکیب فن بندازول (Fenbendazole) و پرازای کوانتل (Praziquantel)). به ازای هر ۱۰ کیلوگرم، یک قرص به هر سگ خوراندیم. بعد از آن برای زدودن انگلهای خارجی، از پودر ضد انگل Bolfo ساخت کارخانه بایر کشور ترکیه، استفاده کردیم. این ضد انگل، حاوی ماده مؤثره پورپوکسور ۱٪ می‌باشد. در دو نوبت صبح و عصر و به مدت ۳ روز، این پودر را روی بدن سگ‌ها و محیط اطراف قفس‌ها پاشیدیم.

پس از انجام این مقدمات، ۵ روز به منظور اعمال اثر ضدانگل‌ها، صبر نمودیم. پس از گذشت این ۵ روز، جهت انجام عملیات تحقیق، اقدام به انجام معاینات بالینی و همچنین

غذای مصرفی برای هر سگ، ۲۵۰ گرم به ازای هر ۱kg وزن بدنشان و ۱ بار در روز، می باشد).

نتایج

نتایج حاصل از این تحقیق را با توجه به جداولی که روش کار ذکر شده، بررسی می کنیم. این جداول هرکدام برای ۱ روز و یا ۱ نوبت تعبیه شدند. ضمن ثبت تاریخ و روز طرح، کلیه پارامترهای گفته شده نیز در جدول جای می گیرند. این پارامترها شامل تعداد ضربان قلب، درجه حرارت بدن، تعداد تنفس، وضعیت پوست و مخاطات، کلونی کانت مدفوع و قوام مدفوع می باشد. این مشخصات برای هر قلابه سگ و هر گروه ثبت شدند. بررسی های آماری نتایج، نشان دادند که پارامترهای مورد بحث، از روز ۱۰ قبل از طرح و روز صفر آغاز طرح، با انتهای طرح (روز ۶ طرح) در گروه تیمار یک، دارای اختلافات معناداری می باشند. جداول ضمیمه نتایج که شامل، میانگین کلونی کانت مدفوع و میانگین درجه حرارت بدن می باشند را، به ترتیب ذکر شده، در زیر مشاهده می نمایید. (جداول ۱ الی ۶).

برای شروع تحقیق، برای تغذیه گروه های تیمار، وارد عمل می شوند.

در روز صفر نیز، تمام پارامترهای ذکر شده (ضربان قلب، تعداد تنفس و...) به همراه نمونه گیری از مدفوع، برای هر قلابه سگ، انجام شده و ثبت گردید.

بعد از اتمام مراحل نمونه گیری، جیره غذایی جدید وارد طرح شد. جیره شامل: غذای سالم برای سگ های گروه الف، غذای مسموم (دارای بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/1gr food) همراه با پروبیوتیک پریمالاک، جهت تغذیه گروه ب و غذای مسموم (دارای بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/1gr food) برای تغذیه گروه ج بود.

از روز ۲ طرح، هر روز و روزی ۲ بار (با اختلاف ۱۲ ساعت)، نمونه گیری صورت پذیرفت. ذکر این موضوع مهم است که در هر نوبت از نمونه گیری، اقدام به ثبت پارامترهای دیگر نیز، می نمودیم. انجام این عملیات تا روز ۶ طرح، به طول انجامید. دلیل این امر، حضور علائم غیرطبیعی و به وجود آمدن اسهال در سگ های گروه ج، بود. زمانیکه در این گروه علائم اختلالات گوارشی مشاهده گردید، عملیات تحقیق به پایان رسید (میزان

جدول ۱- میانگین کلونی کانت مدفوع (گروه الف یا شاهد)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلابه)	میانگین کلونی کانت مدفوع CFU/1gr	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸Am	۵	105×10^5	21×10^5
روز ۰ آغاز طرح	۸Am	۵	$73/4 \times 10^5$	$3/4 \times 10^5$
روز ۲ طرح	۸Am	۵	$73/4 \times 10^5$	$6/8 \times 10^5$
	۸Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸Am	۵	$71/1 \times 10^5$	$7/9 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	73×10^5	$8/8 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸Am	۵	$74/2 \times 10^5$	$6/9 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸Am	۵	$75/6 \times 10^5$	$8/9 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		

جدول ۲- میانگین کلونی کانت مدفوع (گروه ب یا تیمار ۱)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلاده)	میانگین کلونی کانت مدفوع CFU/1gr	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸ Am	۵	103×10^5	13×10^5
	۸ Am	۵	$77/6 \times 10^5$	$8/2 \times 10^5$
روز ۲ طرح	۸ Am	۵	54×10^5	10×10^5
	۸ Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸ Am	۵	$48/1 \times 10^5$	$9/4 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	$45/2 \times 10^5$	10×10^5
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸ Am	۵	$40/8 \times 10^5$	$10/3 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸ Am	۵	$36/1 \times 10^5$	12×10^5
	۸ Pm	۵		

۳- میانگین کلونی کانت مدفوع (گروه ج یا تیمار ۲)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلاده)	میانگین کلونی کانت مدفوع CFU/1gr	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸ Am	۵	110×10^5	$15/3 \times 10^5$
	۸ Am	۵	$80/2 \times 10^5$	$6/6 \times 10^5$
روز ۲ طرح	۸ Am	۵	$154/5 \times 10^5$	$8/5 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸ Am	۵	$158/3 \times 10^5$	$8/7 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	$163/2 \times 10^5$	$11/7 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸ Am	۵	$168/8 \times 10^5$	$10/2 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸ Am	۵	$172/5 \times 10^5$	$11/8 \times 10^5$
	۸ Pm	۵		

۴- میانگین درجه حرارت بدن (گروه الف یا شاهد)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلاده)	میانگین درجه حرارت بدن °C	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸ Am	۵	37/58	0/28
	۸ Am	۵	37/52	0/31
روز ۲ طرح	۸ Am	۵	37/52	0/29
	۸ Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸ Am	۵	37/5	0/28
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	37/5	0/28
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸ Am	۵	37/5	0/28
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸ Am	۵	37/5	0/28
	۸ Pm	۵		

۵- میانگین درجه حرارت بدن (گروه ب یا تیمار ۱)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلاده)	میانگین درجه حرارت بدن °C	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸ Am	۵	37/92	0/25
روز ۰ آغاز طرح	۸ Am	۵	37/8	0/4
روز ۲ طرح	۸ Am	۵	37/75	0/42
	۸ Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸ Am	۵	37/78	0/37
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	37/78	0/37
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸ Am	۵	37/78	0/37
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸ Am	۵	37/78	0/37
	۸ Pm	۵		

جدول ۶- میانگین درجه حرارت بدن (گروه ج یا تیمار ۲)

روز اخذ نمونه	نوبت	تعداد سگها (قلاده)	میانگین درجه حرارت بدن °C	SD
روز ۱۰ قبل از طرح	۸ Am	۵	37/38	0/41
روز ۰ آغاز طرح	۸ Am	۵	37/52	0/5
روز ۲ طرح	۸ Am	۵	37/42	0/42
	۸ Pm	۵		
روز ۳ طرح	۸ Am	۵	37/52	0/47
	۸ Pm	۵		
روز ۴ طرح	۸ Am	۵	37/82	0/48
	۸ Pm	۵		
روز ۵ طرح	۸ Am	۵	38/47	0/41
	۸ Pm	۵		
روز ۶ طرح	۸ Am	۵	38/94	0/52
	۸ Pm	۵		

حرارت و بالطبع تعداد تنفس، قوام مدفوع کاهش بیشتری یافت و مدفوع تقریباً به حالت اسهال (مدفوع بدون قوام) درآمد. این تغییرات با افزایش کلونی کانت مدفوع همراه شده و در روز ششم مخاطات در گروه سوم (تیمار ۲ یا گروه ج) به حالت Pale درآمد و با کاهش کشش سطحی پوست همراه شد. مدفوع گروه ج یا تیمار ۲ که فقط غذای مسموم استفاده می‌کردند، در روز ششم طرح، به حالت اسهال درآمد. با مشاهده علائم بالینی درگیری دستگاه گوارش، پایان عملیات تحقیق اعلام شد.

تغییرات دیگری را نیز در طول طرح شاهد بودیم که به اختصار و به صورت توصیفی به بیان آنها می‌پردازیم. این تغییرات، شامل تغییرات قوام مدفوع و وضعیت پوست و مخاطات می‌باشد. در طول طرح و تا روز سوم طرح، قوام مدفوع و وضعیت پوست و مخاطات در گروه ج، هر دو حالت نرمال داشتند. اما از روز چهارم طرح، کمی کاهش قوام مدفوع را شاهد بودیم که همزمان با افزایش ناچیزی در ضربان قلب و درجه حرارت این اتفاق رخداد نمود. روز پنجم طرح، مخاطات کمی Pale شدند و مجدداً با افزایش ضربان قلب و درجه

گذاشته است. که نتیجتاً این باکتری ها برای فلور باکتریایی روده نیز مفید واقع شده‌اند. میانگین کلونی کانت مدفوع در گروه مصرف کننده پروبیوتیک، به صورت معنی داری کمتر از گروهی بود که مصرف پروبیوتیک نداشته‌اند. همچنین میانگین تعداد ضربان قلب، تعداد تنفس و درجه حرارت بدن، در این دو گروه به صورت معنی داری متفاوت بود ($p < 0.05$). این نتایج حاکی از اثرات سودمند پروبیوتیک‌ها بر اختلالات گوارشی می‌باشند.

پارک یونگ‌ها و همکاران نیز در سال ۲۰۰۳، مطالعه‌ای را بر روی پروبیوتیک‌های حاوی باکتری لاکتوباسیلوس روتری به انجام رساندند. نتایج حاصل از استفاده از این گروه پروبیوتیک‌ها، بر روی حیوانات دچار عفونت‌های رتاویروسی و دیگر پاتوژن‌های روده‌ای، خبر از سودمندی این پروبیوتیک و خواص درمانی و پیشگیری کننده آن در اختلالات گوارشی و روده‌ای دادند (۱۱). در این مطالعه، پس از جداسازی باکتری از مدفوع خوک، آن را در محیط آزمایشگاه و در شرایط بی‌هوازی کشت دادند. باکتری خالص را در شرایط آزمایشگاهی از نظر تأثیر بر اسهال رتاویروسی و همچنین التهابات گوارشی، مورد بررسی قرار دادند. که به این نتیجه که در درمان اسهال‌ها و التهابات گوارشی می‌توان از باکتری لاکتوباسیلوس روتری به عنوان پروبیوتیک استفاده نمود، دست یافتند. از تفاوت‌های این تحقیق با مطالعه حاضر به تک سویه بودن پروبیوتیک می‌توان اشاره داشت. این تحقیق را تنها در مورد دخالت پروبیوتیک‌ها در درمان اسهال، مشابه تحقیق حاضر می‌دانیم. با توجه به حساسیت کار و همچنین کمبود امکانات و محدودیت، مجبور به استفاده از پروبیوتیک ترکیبی بر روی حیوان زنده بودیم؛ که با مشاهده وضعیت مدفوع و بررسی‌های آماری دیگر پارامترها، به تأثیر آنها در درمان اسهال پی بردیم.

در سال ۲۰۰۴، بایلون و همکاران، تحقیقی را تقریباً مشابه با این تحقیق حاضر بر روی ۱۵ قلاده سگ، به انجام رساندند. آنها در

در کل حضور اختلافات معنادار بین گروه‌های تحت آزمایش، از نظر کلونی کانت مدفوع و دیگر پارامترها، نشان دادند که اگر همزمان با غذای مسموم (غذایی که بار میکروبی بالاتر از 10^6 CFU/lgr food داشته باشد)، پروبیوتیک ترکیبی به جیره اضافه گردد، می‌توان از بروز اختلالات گوارشی و علائم ثانویه آن (افزایش درجه حرارت بدن، افزایش ضربان قلب، افزایش تعداد تنفس، کاهش کشش سطحی پوست، Pale شدن مخاطات، کاهش قوام مدفوع و یا ایجاد اسهال) جلوگیری به عمل آورد. با بررسی‌های آماری موجود و مشخصات هر سگ و هر گروه می‌توان به این نتیجه دست یافت.

بحث

مطالعات متعددی بر ایجاد مسمومیت‌های غذایی (باکتریایی) و به دنبال آن وقوع اسهال، صورت پذیرفته است. درمان‌های مناسبی نیز از قبیل درمان‌های حمایتی، دارویی و ... نیز اعمال شده‌اند. در این تحقیق، اصول درمان و پیشگیری از وقوع این نوع اسهال تغذیه‌ای، بر اساس استفاده از پروبیوتیک‌های ترکیبی می‌باشد. هدف پیشگیری و یا درمان این نوع اسهال‌ها با استفاده از پروبیوتیک‌ها می‌باشد. چنانچه در این زمینه، مطالعات فراوانی نیز صورت گرفته است و نتایج حاصل از این مطالعات، در مورد استفاده از پروبیوتیک‌ها به منظور درمان اسهال، با نتایج حاصل از این تحقیق به نوعی مشابهت داشته است.

در سال ۲۰۰۰، رایال دی رولف، تحقیقی را مبنی بر استفاده از پروبیوتیک‌ها و تأثیر آنها در افزایش سلامت روده‌ها، به سرانجام رسانید. در این تحقیق، او نقش پروبیوتیک‌ها را در طیف‌های گوناگون اختلالات گوارشی مفید دانسته و آنها را محرک‌های پیشگیری و درمان کننده این اختلالات، نامیده است (۴). مشابهت تحقیق حاضر با کار دی رولف، در استفاده از پروبیوتیک باکتری‌های اسید لاکتیک بوده و تأثیرات مشابهی نیز در درمان اختلالات گوارشی همچون اسهال، بر جای

پروبیوتیک انتروکوکوس فاسیوم سویه EE3 در سال ۲۰۰۵ توسط مارسینکوا، به بوتۀ آزمایش گذاشته شد. مارسینکوا و همکاران این پروبیوتیک را با دوز 10^9 CFU/ml به صورت خوراکی، به ۱۱ قلاده سگ، تجویز کردند. پس از گذشت ۷ روز، باکتری‌های پاتوژن موجود در مدفوع (مثل استافیلوکوک‌ها و سودوموناس) به صورت چشمگیری کاهش یافته بودند و غلظت باکتریایی اسید لاکتیک نیز افزایش یافته بود. این بدان معنا بود که استفاده متوالی از پروبیوتیک‌ها می‌تواند به بهداشت و سلامت دستگاه گوارش کمک کند (۷). در تحقیق حاضر، ما نیز با استفاده از پروبیوتیک‌ها به درمان اسهال پرداختیم که در چند روز اول استفاده از پروبیوتیک‌ها بهبودی نسبی حاصل گشت (با توجه به افزایش دوباره قوام مدفوع و کاهش چشمگیر کلونی کانت مدفوع در روزهای بعد) که حاکی از تأثیر آن بر دستگاه گوارش می‌باشد. میانگین کلونی کانت مدفوع در گروه تحت آزمایش با پروبیوتیک در روز آخر $36/1 \times 10^5$ بر اساس CFU/1gr مدفوع نشان داده شد که همین پارامتر برای گروه تیمار ۲ در روز آخر (گروهی که پروبیوتیک دریافت نمی‌نمود)، به میزان $172/5 \times 10^5$ بر اساس CFU/1gr مدفوع، بوده است که بر طبق نتایج آماری، بین بکارگیری و عدم استفاده از پروبیوتیک‌ها اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

۲۱ سگ مبتلا به اسهال تغذیه‌ای نیز در سال ۲۰۰۶، تحت مطالعه قرار گرفتند. ساتر و همکاران به غذای مصرفی این ۲۱ سگ، پروبیوتیک اضافه نمودند. در تجزیه مدفوع، باکتری‌های پروبیوتیک، باکتری‌های لاکتوباسیلوس SPP، بیفیدوباکتریوم SPP و انتروکوکوس SPP و انتروباکتریاسه، تعیین شدند.

سگ‌هایی که با این پروبیوتیک تغذیه شده بودند، لود باکتریایی و کلونی کانت کمتری را نسبت به آن دسته که از پروبیوتیک استفاده نکرده بودند، نشان دادند (۹). نتایج حاصل از تحقیق حاضر تا حدودی شبیه به نتایج حاصل شده از تحقیق ساتر، می‌باشد. در ادامه مصرف پروبیوتیک‌ها در این ۲۱ سگ، پارامترهای ضربان قلب و درجه حرارت و... نیز به حد نرمال

این تحقیق، پروبیوتیک‌های حاوی باکتری‌های لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس سویه DSM13241 را به جیره غذایی سگ‌ها اضافه نمودند. این لاکتوباسیل‌ها بعداً در کشت مدفوع، به صورت زنده یافت می‌شدند ولی باکتری‌های پاتوژن (مثل میکروارگانیزم‌های کلستریدیایی) در مدفوع به میزان زیادی کاهش یافته بودند (۱). بنابراین، بایلون استفاده از پروبیوتیک‌های حاوی لاکتوباسیلوس‌ها را مفید و مؤثر بر اختلالات روده‌ای و گوارشی دانست. روش کار بایلون بدین صورت بود که برای تغذیه سگ‌ها، ۲ هفته غذای کنترل شده، سپس ۴ هفته غذای کنترل شده همراه با مکمل غذایی (پروبیوتیک) حاوی 10^9 لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس، و در انتها مجدداً به مدت ۲ هفته غذای کنترل شده را وارد جیره غذایی آنها نموده بود. نمونه‌های خون و مدفوع هر روز اخذ شدند. آزمایشات بر کشت مدفوع نشان داد که میزان لاکتوباسیلوس اسیدوفیلوس موجود در مدفوع، در ابتدای طرح ۷۱٪ و این میزان در انتها ۶۳٪ بوده است. که در نهایت نشان داد افزودن این پروبیوتیک به غذای سگ‌ها باعث افزایش لاکتوباسیل‌های موجود در مدفوع و کاهش باکتری‌های کلستریدیایی مدفوع می‌شود. در این تحقیق حاضر، با توجه به تفاوت‌های موجود در نوع آزمایشات و توجه به نتایج آماری به دست آمده می‌توان از حضور پروبیوتیک‌ها در جیره غذایی سگ‌ها به منظور پیشگیری و درمان اسهال بهره جست.

از دیگر تفاوت‌های تحقیق حاضر با تحقیق بایلون در سال ۲۰۰۴، استفاده از غذای مسموم در جیره غذایی سگ‌ها می‌باشد که در این تحقیق و با توجه به نتایج، ثابت شد که غذای مسمومی که همراه با پروبیوتیک مصرف شود، احتمال ایجاد اسهال را در مقابل گروهی که تنها غذای مسموم دریافت‌اند، به حداقل می‌رساند و سلامت دستگاه گوارش را نیز تضمین می‌کند. که به صورت اختلافات معنی‌دار در ابتدا و انتهای طرح رخداد نموده است.

استفاده نمود (۲). همانگونه که در این طرح با اعمال اثر این پروبیوتیک ها با کاهش آماری کلونی کانت مدفوع و کاهش علائم مسمومیت در سطوح معنی داری، مواجه گشتیم. علاوه بر این، دیگر علائم بالینی به وجود آمده توسط مسمومیت نیز، رفته رفته کاهش یافته و علائم بهبودی با کاهش تب و بازگشت تعداد ضربان قلب و تعداد تنفس به سطح طبیعی خود، ظاهر گردید.

فهرست منابع

1. Baillon, Mo., Jones, Mo., Butterwick., 2004. Effect of probiotic lactobacillus acidophilus strain DSM13241 in healthy adult dogs, American journal of Veterinary. 65:338-343.
2. Biaqi, G., Cipollioni, I., Pompei, A., Zaghini, G., Matteuzzi, D., 2007. Effect of lactobacillus Animalis strain on composition and metabolism of the intestinal microflora in adult dogs. PMID: 17462835.
3. Biourge, V., Vallet, C., Levesque, A., Sergheraert, R., Chevalier, S., Roberton, J.L., 1998. The use of probiotics in the diet of dogs. The journal of Nutrition. Research & development, Royal Canine and prodeta, Vannes, France, Vol.128, 2730-2732 available online at: <http://ju.nutrition.org>
4. De Rolfe, R., 2000. Symposium: probiotic bacteria: Implication for human health. The role of probiotic cultures in the control of Gastrointestinal health, The Journal of Nutrition, 130: 396-402
5. Ethinger, S.J., Feldman, E.C., 2000. Text book of veterinary internal medicine, Fifth edition, Philadelphia, London. Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders company: 121-122.
6. Ethinger, S.J., Feldman, E.C., 2000. Text book of veterinary internal medicine, Fifth edition, Philadelphia, London. Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo, W.B. Saunders company: 123.

خود کاهش یافتند. که این نتایج نیز در تحقیق حاضر، توسط بررسی های آماری با اختلاف معنی داری نسبت به گروهی که از پروبیوتیک استفاده نمی کردند، به دست آمد. اما تفاوت ها و محدودیت هایی که بر تحقیق حاضر حکم فرما بودند شامل روش های انجام آزمایش، می باشند. روش های نمونه گیری در تحقیق آقای ساتر به این صورت است که نمونه ها مستقیماً از دئودنوم یا کلون توسط دئودنوسکوپ یا کلونوسکوپ، اخذ می شدند.

در این آزمایشات و پس از اعمال پروبیوتیک به غذای سگ ها، همه سگ های مبتلا به اسهال، کاهش علائم بالینی از قبیل اسهال و استفراغ و... را نشان دادند. که این کاهش به صورت معنی داری با قبل از استفاده از پروبیوتیک در غذای آنها، رخداد نمود ($p < 0.0001$). در تحقیق حاضر شرایط به گونه ای نبود که بتوان نمونه مدفوع دئودنال یا کلونال را به دست آورد. اما با بررسی قوام مدفوع و محاسبه کلونی کانت مدفوع، همچنین وضعیت پوست و مخاطات و دیگر علائم بالینی پی روند بهبودی در سگ ها بردیم. در اینجا نیز همانند تحقیق آقای ساتر، ملاحظات آماری، اختلافات معنی داری را در همه سطوح، در ابتدا و انتهای طرح در میان گروه های تیمار و شاهد نشان داده است ($p < 0.05$).

سویه دیگری از لاکتوباسیلوس به نام لاکتوباسیلوس انیمالیس (LA4)، توسط بیاکی و همکاران در سال ۲۰۰۷، از مدفوع سگ سالم بالغی جدا گردید. این باکتری را به عنوان پروبیوتیک به مدت ۱۰ روز به ۹ سگ بالغ خوراندند. نتایج حاصل از آزمایشات نشان داد که از روز یازدهم، لاکتوباسیلوس انیمالیس از روده سگ ها (در مدفوع) به صورت زنده خارج شده است و مقدار آن در مدفوع افزایش یافته است. اما تعداد اتروکوک ها کاهش آماری چشمگیری را نشان می داد. بیاکی پس از اتمام تحقیق، به این نتیجه رسید که می توان از لاکتوباسیلوس انیمالیس سویه LA4 به عنوان یک پروبیوتیک بالقوه در سگ

7. Marcinakova, M., Simonova, M., Strompfova, V., Laukova, A., 2005. Oral Application of *Enterococcus faecium* strain EE3 in Healthy dogs, Institute of animal physiology, Slovak Academy of sciences, 4001 Kosice, slovakia.
8. Marsden, S., Messonnier, S., 2004. probiotics, available online at: <http://www.Petcarenaturally.com/handouts/probiotics.pdf>
9. Sauter, S.N., Benyacoub, J., Allen S.K., Gashev, F., Ontsouka, E., Reuteler, G., Cavadini, C., knorr, R., Blum, J.W., 2006. Effects of probiotic Bacteria in dogs with food responsive diarrhoea treated with elimination diet, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, University of Bern, Bremgarten strasse 109A, CH-3012-Bern, Switzerland.
10. Tilley L.P., Smith, J., Francis, W.K., 2007. *The 5- minute Veterinary consult canine and feline*, fourth edition, Philadelphia, Baltimore, Newyork, London, Buenos Aires, Hongkong, Sydney, Tokyo, A. Wolters kluwer company : 380-381.
11. Yong ha, P., Yaung Hyo, C., In sun, L., Jung Hoon, Y., Chul Joong, k., 2003. Novel *Lactobacillus reuteri* useful as probiotics, probiotic corp, Application No, 10/657.814. Available online at <http://www.freepatentsonline.com/y2004/0175372.html>.