



تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم گوسفندان بالغ سنگسری به روش Reference Value Advisor

محمود احمدی همدانی*

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۵/۰۸

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۱۱

چکیده

ایجاد محدوده مرجع اختصاصی نژاد، ابزار مهمی جهت پایش سلامتی در نژادهای مختلف گوسفند محسوب می‌شود. هدف از مطالعه حاضر ایجاد محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی منتخب سرم برای گوسفندان بالغ به ظاهر سالم نژاد سنگسری با روش Reference Value Advisor (RVA) و مقایسه فراسنجه‌های تحت مطالعه در بین دو جنس نر و ماده این نژاد بود. نمونه خون ۶۰ رأس گوسفند سالم و بالغ (رنج سنی ۲ تا ۴ سال) سنگسری از هر دو جنس (۲۶ میش و ۳۴ قوچ) از مرکز اصلاح نژاد گوسفند سنگسری در دامغان برای تعیین محدوده مرجع مورد استفاده قرار گرفتند. مهمترین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم توسط دستگاه اتوانالایزر (Mindray, BS-120) اندازه‌گیری شدند. محدوده مرجع فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده با روش RVA مطابق با دستورالعمل انجمن کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا، تعیین شد. محدوده مرجع داده‌ها باتوجه به حجم نمونه با روش Robust Box-cox transformation، گزارش شدند و سطح اطمینان ۹۰٪ به وسیله روش بوت استرپینگ غیرپارامتری تعیین گردید. محدوده مرجع تعیین شده برای فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم بدین شرح بودند: آسپاراتات آمینو ترانسفراز ۳۳۸/۴۰-۱۰/۸۶ واحد/لیتر، آلکالین فسفاتاز ۵۶۴/۸۴-۴۹/۲۴ واحد/لیتر، گاما گلوتامیل ترانسفراز ۶۲/۲۳-۲۴/۱۴ واحد/لیتر، ازت اوره خون ۲۶/۴۳-۶/۹۱ میلی‌گرم/دسی لیتر، آلبومین ۳/۶۳-۰/۹۲ گرم/دسی لیتر و پروتئین تام ۱۳/۹۵-۵/۱۹ گرم/دسی لیتر. از میان فراسنجه‌های مذکور تنها میزان پروتئین تام در نرها به صورت معنی‌داری بیشتر از ماده‌ها بود. با مشخص نمودن محدوده مرجع می‌توانیم اطلاعات پایه‌ای را جهت تفسیر نتایج بیوشیمیایی در گوسفند سنگسری ایجاد و به بهینه‌سازی مدیریت این گونه نیز کمک نماییم.

واژه‌های کلیدی: بیوشیمی بالینی، جنس، گوسفند سنگسری، محدوده مرجع

مقدمه

باشد. همچنین به علت فقدان منابع غذایی در مناطق خشک و نیمه خشک، این نژاد به‌طور منظم سالیانه از منطقه سمنان به منطقه مازندران یا خراسان مهاجرت می‌کند. مهمترین هدف پرورش این نژاد بهره‌زایی و تولید گوشت می‌باشد (۱۹).

نرم‌افزار RVA مجموعه‌ی طراحی شده در مایکروسافت اکسل برای ویندوز ۲۰۰۳ می‌باشد که به دلیل توسعه گسترده به ابزاری مهم جهت تعیین محدوده مرجع میدل گشته است. انتخاب محاسبات انجام شده برطبق دستورالعمل فدراسیون بین‌المللی بیوشیمی بالینی و مؤسسه استانداردهای بالینی و آزمایشگاهی صورت می‌گیرد و شامل این موارد می‌شود:

۱- آمار توصیفی متداول شامل حجم نمونه، میانگین، میانه، انحراف معیار، حداقل و حداکثر مقادیر

۲- تست توزیع نرمال داده‌ها برطبق تست Anderson-Darling

به‌همراه هیستوگرام و نمودار Q-Q

۳- تست وجود داده‌های پرت که از تست‌های Dixon-Reed و

توکی استفاده می‌شود.

بیوشیمی بالینی و خون‌شناسی برای تعیین سلامتی، تشخیص و پیش‌آگهی بیماری ضروری هستند. گرچه این پارامترها ممکن است تحت تأثیر نژاد، تغذیه، سن، جنس، استرس و بیماری قرار بگیرند (۳). تفسیر نتایج بیوشیمی بالینی به‌همراه یافته‌های بالینی و سایر نتایج تست‌های پاراکلینیکی می‌توانند تشخیص افتراقی و یا پیش‌آگهی خاصی را ایجاد کنند (۵ و ۲۳). گوسفندان به لحاظ اقتصادی تولیدکننده‌های مهم گوشت، پشم و شیر در خیلی از کشورها هستند. گوسفند سنگسری یکی از نژادهای مهم گوسفند بدون دنبه ایرانی است که سبک وزن و کوچک‌جثه است و کاملاً به مناطق خشک و نیمه‌خشک کوهستانی مخصوصاً استان سمنان آداپته شده است. سیستم پرورش گله‌های گوسفند سنگسری به‌صورت غیرمتمرکز می‌

۱- استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان

(*- نویسنده مسئول: (Email: ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir)

DOI: 10.22067/ijasr.v10i3.66483

شدند. سپس نمونه‌ها در کنار یخ به آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی آموزشکده دامپزشکی شه‌میرزاد منتقل شدند و بلافاصله سرم آنها از طریق سانتریفیوژ با $g \times 800$ به مدت ۱۰ دقیقه (۲۰) جهت اندازه‌گیری فراسنجه‌های بیوشیمیایی، جدا گردید.

تمامی آزمایشات بیوشیمی توسط دستگاه اتوآنالایزر اتوماتیک (Mindray مدل BS-120) و با استفاده از کیت‌های تجاری (پارس آزمون، تهران) در آزمایشگاه کلینیکال پاتولوژی بیمارستان حیوانات خانگی دانشکده دامپزشکی دانشگاه سمنان آنالیز شدند. فراسنجه‌های بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده شامل پروتئین تام، آلبومین، ازت اوره خون، آلکالین فسفاتاز، گاما گلوتامیل ترانسفراز و آسپارات آمینو ترانسفراز بودند.

محدوده مرجع برطبق دستورالعمل انجمن کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا تعیین و با روش RVA آنالیز شدند. برای محاسبه فواصل مرجع (RI) در صورتی که تعداد داده‌ها ($n \geq 40$) باشد از روش غیرپارامتری استفاده می‌شود و دامنه اطمینان ۹۰ درصد به روش بوت استرپینگ تعیین می‌گردد. اما اگر تعداد داده‌ها ($20 < n < 40$) باشد از روش‌های پارامتری استفاده می‌کنیم بدین ترتیب که ابتدا نرمال و متقارن بودن داده‌ها را با روش Darling/Symmetry test - p-Anderson value توسط نرم‌افزار اکسل RVA محاسبه می‌شود اگر توزیع داده‌ها نرمال باشند از روش پارامتری استاندارد داده‌های تغییر نیافته (standard untransformed data) و نرمال نباشد اما متقارن باشد از روش پارامتری رابوست داده‌های تغییر نیافته (Robust untransformed data) محدوده رفرانس تعیین می‌گردد. اما اگر پس از تغییر داده‌ها با نرم‌افزار اکسل RVA توزیع داده‌ها نرمال گردید از روش پارامتری استاندارد داده‌های تغییر یافته باکس-کاکس (BOX-COX transformed data) و اگر پس از تغییر داده‌ها با نرم افزار توزیع داده‌ها نرمال نگردید اما متقارن گردید از روش پارامتری رابوست داده‌های تغییر یافته باکس-کاکس (Robust BOX-COX Transformed data) استفاده می‌کنیم. در مواردی که توزیع پارامترها نرمال بود از آزمون آماری T مستقل (Independent-Samples T test) و اگر توزیع نرمال نبودند از آزمون من ویتنی برای مقایسه‌ی میانگین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم بین دو جنس استفاده شد و مقادیر $P < 0.05$ به‌عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی گوسفند سنگسری بالغ گزارش شده در جدول ۱ براساس روش غیرپارامتری محاسبه و سطح اطمینان ۹۰٪ از محدوده‌های مرجع به روش بوت استرپینگ تعیین شدند. در جدول ۲ و ۳ محدوده مرجع، روش مورد استفاده براساس نرمال یا غیرنرمال بودن توزیع داده‌ها و اختلاف آماری این پارامترها بین قوچ‌ها و میش‌های سنگسری گزارش شده است.

۴- محاسبه محدوده مرجع: برای هر سری از داده‌ها، RVA پنج محدوده مرجع را براساس مفروضات توزیع داده‌ها، محاسبه و گزارش می‌کند. چهار محدوده مرجع ابتدایی از طریق روش پارامتری استاندارد و Robust داده‌های خام و تغییر یافته حاصل می‌شوند. محدوده‌های استاندارد به نرمال بودن توزیع داده‌ها قبل و پس از تغییر آنها نیاز دارند، درحالی‌که روش Robust تنها به تقارن داده‌ها نیاز دارند. پنجمین محدوده بدون هیچ فرضی درباره توزیع داده‌ها حاصل می‌شود. بنابراین روش غیرپارامتری مورد استفاده قرار می‌گیرد، اما تنها زمانی قابل محاسبه است که حجم نمونه به اندازه کافی بزرگ باشد ($n \geq 40$).

۵- سطوح اطمینان محدوده‌های مرجع برای هر روش: برای روش استاندارد، وقتی $n \leq 20$ سطح اطمینان ۹۰٪ با روش بوت استرپینگ پارامتری حاصل می‌شود. در سایر موارد روش بوت استرپینگ غیرپارامتری به کار گرفته می‌شود. برای روش غیرپارامتری، سطح اطمینان برطبق حجم نمونه $370 < n < 120$ تعیین می‌شود، اگر حجم نمونه کوچکتر از ۱۲۰ باشد، روش بوت استرپینگ به کار گرفته می‌شود (۹).

گزارشات محدودی از تعیین محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم در برخی نژادهای گوسفند وجود دارد (۱۷ و ۲۶). در این راستا مجایی و همکاران (۲۰) میزان طبیعی فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون گوسفندان نژاد قزل را گزارش نموده‌اند. در مطالعه دیگری که توسط متقی‌نیا و همکاران (۲۲) انجام شد مقادیر برخی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم خون گوسفندان نژاد بلوچی را بررسی نمودند. اطلاعات منتشر شده‌ای در مورد محدوده مرجع اختصاصی نژاد برای گوسفند سنگسری موجود نمی‌باشد، لذا هدف از مطالعه حاضر ایجاد محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی منتخب سرم برای گوسفندان بالغ به ظاهر سالم نژاد سنگسری با روش استاندارد RVA و مقایسه فراسنجه‌های تحت مطالعه در بین دو جنس نر و ماده این نژاد بود.

مواد و روش‌ها

از مرکز اصلاح نژاد گوسفند سنگسری در دامغان، تعداد ۶۰ رأس گوسفند سالم و بالغ با رنج سنی ۲ تا ۴ سال از هر دو جنس (۲۶ میش و ۳۴ قوچ) انتخاب شدند. تمام اطلاعات شامل وضعیت سلامتی این حیوانات در زمان گذشته و حال، وضعیت تولیدمثلی آنها، داروهای که مصرف کرده بودند، در قالب یک فرم یادداشت گردید. همچنین معاینات کامل جسمانی به‌وسیله دامپزشکان باتجربه همان مرکز از هر گوسفند صورت گرفت.

به منظور کاهش استرس، نمونه‌های خون کامل در همان مرکز اصلاح نژاد با کمترین تغییر در برنامه روزمره دام‌ها از گوسفندان اخذ شد. نمونه‌های خون در لوله‌های ساده فاقد ماده ضد انعقاد جمع‌آوری

جدول ۱ - تعیین فواصل مرجع فراسنج‌های بیوشیمیایی متناسب سرم گوسفندان بالغ و سالم سنگسری به روش Reference Value Advisor for select serum biochemical parameters of healthy adult Sangsari sheep using Reference Value Advisor

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی			محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪		مقادیر مرجع گزارش شده Previously published RI	
	تعداد N	میانگین Median	حداقل Min	حداکثر Max	محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI		
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	60	289.07	37.71	588.65	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI	70-390
گاماگوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	60	33.38	24.13	63.37	49.24 (37.71-118.92)	64.84 (511.09-588.65)	20-52
آسیارات آمینوترانسفراز AST (U/L)	60	157.42	7.97	347.82	24.14 (24.13-24.86)	62.23 (54.23-63.37)	60-280
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	60	15.07	6.79	27.16	10.86 (7.97-18.38)	38.40 (297.44-347.82)	10-35
پروتئین تام TP (g/dl)	60	9.28	4.82	14.07	6.91 (6.79-8.40)	26.43 (23.59-27.16)	6-7.9
آلبومین Alb (g/dl)	60	2.00	0.80	3.53	5.19 (4.82-6.14)	13.95 (13.54-14.07)	2.4-3

محدوده مرجع به‌وسیله روش Robust Box-Cox transformed data تعیین شد. محدوده‌های مرجع با سطح اطمینان ۹۰ درصد گزارش شده‌اند. سطح اطمینان به‌وسیله روش بوت استرپینگ غیرپارامتری تعیین گردید. مقادیر مرجع گزارش شده توسط رادوستیس و همکاران (۲۴).

جدول ۲ - تعیین فواصل مرجع فرآیندهای بیوشیمیایی قوچ‌های سنگسری به روش Reference Value Advisor و مقایسه آنها با میش‌ها
Table 2- Determining the reference interval (RI) for serum biochemical parameters of Sangsari rams using Reference Value Advisor and compare them with ewes

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی Descriptive statistics			محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI			روش Method	P- Value
	تعداد N	میانگین Median	حداقل Min	حداکثر Max	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI		
		Reference interval	Method	P- Value				
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	34	299.25	127.47	506.54	106.08 (79.70-151.85)	568.55 (494.84-642.58)	BCTD*	0.613
گاماگلوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	34	39.19	24.13	63.37	20.80 (16.49-25.45)	58.30 (53.99-63.25)	SUD**	0.154
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	34	191.61	17.78	347.82	(47.35)	360.12 (311.42-401.13)	SUD**	1.174
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	34	17.15	8.40	27.16	8.15 (5.96-10.85)	26.04 (23.91-28.01)	BCTD*	0.815
پروتئین تام TP (g/dl)	34	10.22	4.82	14.07	4.66 (3.69-6.10)	15.59 (14.28-16.84)	SUD**	0.006
آلبومین Alb (g/dl)	34	2.36	1.05	3.75	0.74 (0.33-1.12)	3.77 (3.41-4.11)	SUD**	0.133

* توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust-Box-Cox transformed data محاسبه شد.
 ** توزیع نرمال داشتند و به روش Standard-untransformed data (SUD) محاسبه شد.

جدول ۳- تعیین فواصل مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی میش‌های سنگسری به روش Reference Value Advisor و مقایسه آنها با قوچ‌ها

Table 3- Determining the reference interval (RI) for serum biochemical parameters of Sangsari ewes by Reference Value Advisor and compare them with rams

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	آمار توصیفی Descriptive statistics				محدوده مرجع با سطح اطمینان ۹۰٪ Reference interval with 90% CI		روش Method	P- Value
	تعداد N	میان	حداقل Min	حداکثر Max	حد پایین محدوده مرجع Lower limit RI	حد بالا محدوده مرجع Upper limit RI		
		Median	Min	Max	Lower limit RI	Upper limit RI		
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	26	300.47	37.71	588.65	29.98 (1.22-77.70)	702.89 (553.95-798.91)	BCTD*	0.613
گاماگوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	24	29.41	24.16	49.17	22.41 (21.33-23.59)	54.49 (43.73-73.45)	BCTD*	0.154
آسیارات آمینوترانسفراز AST (U/L) ³	25	102.02	7.97	220.43	1.36 (18.49)	279.89 (232.63-333)	BCTD*	1.174
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	26	11.03	6.79	25.78	5.95 (5.37-6.81)	26.86 (20.08-33.11)	BCTD*	0.815
پروتئین تام TP (g/dl)	26	8.31	6.03	13.64	5.75 (6.39)	12.83 (11.33-14.12)	BCTD*	0.006
آلبومین Alb (g/dl)	26	1.91	0.80	2.69	0.84 (0.62-1.13)	2.77 (2.46-3.01)	SUD**	0.133

* توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust-Box-Cox transformed data محاسبه شد.
 ** توزیع نرمال داشتند و به روش Standard-untransformed data (SUD) محاسبه شد.

جدول ۴- مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی گوسفند سنگسری با سایر منابع

Table 4- Comparison the hematological parameters of Iranian Sangsari sheep with other references

متغیرهای بیوشیمیایی Biochemical variables	محدوده مرجع Reference Intervals			
	گوسفند سنگسری Sangsari sheep	گوسفند بیگهورن Bighorn sheep	گوسفند چورا -da-Terra sheep Churra	گوسفند کرادی Karadi sheep
آلکالین فسفاتاز ALP (U/L)	49.24 - 564.84	73 - 575	15 - 331	68 - 387
گاماگلوتامیل ترانسفراز GGT (U/L)	24.14 - 62.23	20 - 130	10 - 90	-
آسپاراتات آمینوترانسفراز AST (U/L)	10.86 - 338.40	78 - 312	58 - 300	79 - 323
ازت اوره خون BUN (mg/dl)	6.91 - 26.43	5 - 28	7.59 - 31.80	-
پروتئین تام TP (g/dl)	5.19 - 13.95	6.00 - 9.3	6.31 - 8.81	5.03 - 6.14
آلبومین Alb (g/dl)	0.92 - 3.63	2.8 - 3.7	-	3.46 - 3.58

محدوده مرجع همه‌ی پارامترها کمتر و حد بالای محدوده مرجع اکثر آنها به استثناء ازت اوره بیشتر از مقادیری که قبلاً گزارش شده بود، هستند. این اختلافات ممکن است به علت تفاوت در جمعیت مورد مطالعه از نظر تعداد محدود مشاهدات در مطالعه حاضر، سن، جنس، سویه، شرایط محیطی، تغذیه، شیوه زندگی و به‌ویژه روش آماری به کار رفته، باشد (۴، ۸، ۱۰، ۱۱ و ۱۸). همانگونه که از نتایج جدول ۲ و ۳ مشخص است میانگین غلظت پروتئین تام سرم در قوچ‌ها به‌صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) از میش‌ها بیشتر است. این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط خان (۱۶) و استیمو (۲۶) کاملاً مطابق هستند. یکی از دلایل این یافته می‌تواند ناشی از این موضوع باشد که اکثر قوچ‌های مورد مطالعه بزرگتر از ۳ سال بودند و همانگونه که ذکر شد افزایش سن به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش پروتئین تام و آلبومین در این مطالعه گردید. نتایج مطالعه ما نشان داد که ازت اوره خون در قوچ‌ها به‌صورت معنی‌داری ($P < 0.05$) از میش‌ها بیشتر است. این نتایج با یافته‌های به‌دست آمده توسط برجسن و همکاران (۴) و استیمو (۲۶) مطابقت داشت. افزایش سطح ازت اوره خون در قوچ‌ها می‌تواند ناشی از افزایش دامینه شدن یا کم بودن میزان متابولیسم پایه در قوچ‌ها نسبت به میش‌ها باشد. سایر فراسنجه‌های بیوشیمیایی تحت تأثیر جنس قرار نگرفتند که این یافته‌ها با نتایج گزارش شده توسط مستقنی و همکاران (۲۱)، خان (۱۵) و استیمو (۲۶) کاملاً مطابقت داشتند.

در جدول ۴ مقایسه پارامترهای بیوشیمیایی بین گوسفند سنگسری و گوسفند بیگهورن (۴)، گوسفند چورا (۱۶) و گوسفند کرادی (۷) مشخص شده است. از بین فراسنجه‌های بیوشیمیایی تحت مطالعه، تنها پروتئین تام در میش‌ها توزیع نرمال داشت و به روش استاندارد داده‌های خام (SUD) محدوده مرجع آن محاسبه شد و به لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به قوچ‌ها نشان داد. درحالی‌که در قوچ‌ها آلکالین فسفاتاز و ازت اوره توزیع نرمال نداشتند و به روش Robust- BCTD محدوده مرجع آنها محاسبه شد. تفسیر نتایج بیوشیمیایی در نژادهای مختلف گوسفند، با درنظر گرفتن محدوده مرجع برای هر پارامتر، در تقابل با تاریخچه، یافته‌های بالینی و سایر آزمایشات پاراکلینیک، به کلینیسین در جهت رسیدن به تشخیص قطعی کمک می‌کند (۲۳). یکی از ویژگی‌های منحصر به فرد گوسفند سنگسری سازگاری بسیار زیاد آنها با مناطق بیابانی و کوهستانی است. این نژاد اندازه نسبتاً کوچک و وزن سبکی دارد و اکثر مطالعات بر خصوصیات ژنتیکی مرتبط با این صفت متمرکز شده اند (۱۲ و ۱۴). با درنظر گرفتن ویژگی‌هایی که در بالا ذکر شد و باتوجه به فقدان محدوده مرجع فراسنجه‌های بیوشیمیایی، تعیین محدوده مرجع در گوسفند سنگسری ضروری به‌نظر می‌رسد. به منظور ایجاد محدوده مرجع جامع در گوسفند سنگسری طیفی از مهمترین فراسنجه‌های بیوشیمیایی سرم با یک روش به روز و استاندارد که مورد تأیید جامعه کلینیکال پاتولوژی دامپزشکی آمریکا می‌باشد، مورد ارزیابی قرار گرفتند. تقریباً اکثر محدوده‌های تعیین شده برای فراسنجه‌های بیوشیمیایی در این مطالعه با مقادیر مرجع گزارش شده توسط رادوستیتس و همکاران (۲۴) اختلاف داشتند، به گونه‌ای که حد پایین

نتیجه‌گیری کلی

احتمال بسیار زیاد می‌تواند به دلیل اختلاف اختصاصی نژاد باشد. با مشخص نمودن محدوده مرجع می‌توانیم اطلاعات پایه‌ای را جهت تفسیر نتایج بیوشیمیایی در گوسفند سنگسری ایجاد و به بهینه‌سازی مدیریت این گونه نیز کمک نماییم.

داده‌های حاصل محدوده مرجعی از فراسنجه‌های بیوشیمیایی را در گوسفند سنگسری برای نخستین بار فراهم نمود. مطالعه حاضر نشان داد که اختلافات مشخص در فراسنجه‌های اندازه‌گیری شده به

منابع

- Alonso, A. J., R. D. Theresa, M. Garcia, J. R. Gonzalez, and M. Vallejo. 1997. The effects of age and reproductive status on serum and blood parameters in Merino breed sheep. *Journal of veterinary medicine*, 44(1): 223-231.
- Antunović, Z. M., Z. Šperanda, and Z. V. Steiner. 2004. The influence of age and the reproductive status to the blood indicators of the ewes. *Arch Tierz Dummerstorf*, 1(47): 265-273.
- Baumgartner, W., and A. Pernthaner. 1994. Influence of age, season, and pregnancy upon blood parameters in Austrian Karakul sheep. *Small Ruminant Research*, 13(2): 147-151.
- Borjesson, D. L., M. M. Christopher, and W. M. Boyce. 2000. Biochemical and hematologic reference intervals for free-ranging desert bighorn sheep. *Journal of wildlife Disease*, 36(2): 294-300.
- Braun, J. P., C. Trumel, and P. Bezille. 2010. Clinical biochemistry in sheep: a selected review. *Small Ruminant Research*, 92(1): 10-18.
- Carlos, M. M., J. H. Leite, D. F. Chaves, A. M. Vale, D. A. Façanha, M. M. Melo, and B. Soto-Blanco. 2015. Blood parameters in the morada nova sheep: influence of age, sex and body condition score. *Journal of animal Plant Science* 25(4): 950-955.
- Khan, K. M. H., K. A. Ahmed, E. H. Ahmad, and C. A. Omar 2013. Study of some serum biochemical parameters of Karadi sheep in Sulaimani city, Iraq. *Research opinions in animal and veterinary sciences*, 3(12): 443-446.
- Farver, T. B. 2008. Concepts of normality in clinical biochemistry. Pages 21-27: *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. J. J. Kaneko., J. W. Harvey, and M. L. Bruss, ed. Academic Press, New York.
- Geffre, A., D., Concordet, J. P., Braun, and C. Trumel. 2011. Reference value advisor: a new freeware set of macroinstructions to calculate reference intervals with Microsoft Excel. *Veterinary Clinical Pathology*, 40(1): 107-112.
- Greenwood, B. 1977. Hematology of the sheep and goat. Pages 305-344: *Comparative clinical hematology*. R. K. Archer, and L. B. Jeffcott, ed. Oxford Press, Blackwell.
- Jain, N. C. 1993. Comparative hematology of common domestic animals. Pages 19-53: *Essentials of veterinary hematology*. N.C. Jain, ed. Philadelphia Press, Lea and Febiger.
- Jamshidi, R., M. M. Kasiriyani, and H. Hafezian. 2009. Application of PCR-RFLP technique to determine BMP15 gene polymorphism in Sangsari sheep breed of Iran. *Journal of Animal Veterinary Advances*, 8(10): 1906-1910.
- Jangsangthong, A., P. Suwanachat, P. Jaykum, S. Buamas, W. Kaewkongjan, and S. Buranasinsup. 2012. Effect of sex, age and strain on hematological and blood clinical chemistry in healthy canine. *Journal of Applied Animal Science*, 5(3): 26-38.
- Kasiriyani, M. M., H. Hafezian, and N. Hassani. 2011. Genetic polymorphism BMP15 and GDF9 genes in Sangsari sheep of Iran. *Internationa Journal of Genetics Molecular Biogy*, 3(1): 31-34.
- Kessabi, M., and D. Lamnaouer. 1981. Serum proteins and their fractions in Timahdite sheep in Morocco: variations with age and liver or lung diseases. *Annales de Recherches Veterinaires*, 12(3): 233-237.
- Khan, K. H., K. A. Ahmed, E. H. Ahmad, and C. A. Omar. 2013. Study of some serum biochemical parameters of Karadi sheep in Sulaimani city, Iraq. *Research Opinions in Animal and Veterinary Sciences*, 3(12): 443-446.
- Kiran, S., A. M. Bhutta., B. A. Khan, S. Durrani, M. Ali, and M. Ali. 2012. Effect of age and gender on some blood biochemical parameters of apparently healthy small ruminants from Southern Punjab in Pakestan. *Asianian Pacific Journal Tropical Biomedicine*, 2(4): 304-306.
- Kramer, J. W. 2000. Normal hematology of cattle, sheep and goats. Pages 1075-1084: *Schalm's veterinary hematology*. B. F. Feldman, J. G. Zinkl, and J. C. Williams, ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.
- Miraei-Ashtiani, S. R., S. A. Seyedalian, and M. Moradi Shahrba-bak. 2007. Variance components and heritabilities for body weight traits in Sangsari sheep, using univariate and multivariate animal models. *Small Ruminant Research*, 73(1): 109-114.
- Mojabi, A., M. Abbas Ali Pour Kabire, S. Safi, S. Bokaie, and T. Sharifi. 2000. Evaluation of normal range of major serum biochemical parameters in apparently healthy Ghezel sheep breed. *Journal of Veterinary Research*, 55: 19-27. (In Persian).
- Mostaghni, K., K. Badiei, and M. Emadi. 2005. Hematology and serum biochemistry of captive wild sheep (*Ovis*

-
- orientalis esphahanica*) in Iran. Comparative Clinical Pathology, 13(4): 158-161.
22. Motaghi Nia, G. H., H. Farhangfar, and M. Jafari. 2012. Evaluation of inbreeding and its effect on weight of wool among Baluchi sheep in Abbas Abad breeding station, Mashhad. Journal of Animal Science Research, 22 (1): 122-129. (In Persian).
 23. Polizopoulou, Z. S. 2010. Hematological tests in sheep health management. Small Ruminant Research, 92(1): 88-91
 24. Radostits, O. M., C. C. Gay, D. C. Blood, and K. W. Hinchcliff. 2000. Veterinary Medicine. Saunders Company, London, UK.
 25. Roubies, N., N. Panousis, A. Fytianou, P. D. Katsoulos, N. Giadinis, and H. Karatzias. 2006. Effects of age and reproductive stage on certain serum biochemical parameters of Chios sheep under Greek rearing conditions. Journal of Veterinary Medicine, 53(6): 277-281.
 26. Sitmo, M. S. 2014. Effect of gender on some plasma biochemical parameters of sheep from Southern Al Jabal Al Akhdar in Libya. Journal of American Sciences, 10(8).
 27. Yamaguchi, R., H. Terashima, S. Yoneyama, S. Tadano, and N. Ohkohchi. 2012. Effects of platelet-rich plasma on intestinal anastomotic healing in rats: PRP concentration is a key factor. Journal of Surgical Research, 173(2): 258-266.



Determination of Reference Interval for Select Serum Biochemical Parameters of Healthy Adult Sangsari Sheep Using Reference Value Advisor

M. Ahmadi-hamedani^{1*}

Received: 30-07-2017

Accepted: 01-01-2018

Introduction The expected values of hematologic and serum biochemical parameters in domestic animal species can be affected by breed, age, environment, and nutrition. Established breed-specific reference intervals (RI) are an important tool for monitoring the health of sheep. There is a lack of published data on biochemical RI for Sngsari sheep. Thus, the aims of this study were to establish RI for select of serum biochemical parameters for Sangsari sheep by Reference Value Advisor (RVA) method and provide information on the studied parameters for both sex of this breed in order to form a basis for clinical interpretation.

Materials and Methods Sixty healthy Sangsari sheep including 26 ewes and 34 rams (2–4 years old) were chosen from the breeding station of Sangsari sheep among 150 sheep in Damghan, Semnan, Iran. The type of feeding, all the animals had free access to water and to good-quality alfalfa hay (90.0 % DM, 15.8 CP % DM, 50.4NDF%DM, 31.6ADF%DM, 5.8 lignin% DM, and 2.2 EE % DM). Concentrate (23 % oats, 36 % corn, 38 % barley, and 3% mineral and vitamin supplements) was provided once daily (200 g per animal per day). In the sampling day, breeder signed a subscription form and completed a primary questionnaire consisting of specific questions about past and current health status, sexual status, medications used, and familial and reproductive medical history. Complete physical examinations were performed by the same experienced veterinarian on each sheep. In order to reduce stress, blood samples were taken in the station with minimal changes in the usual schedule of the sheep. Blood samples (taken from the jugular vein) were collected in simple tubes in order to separate the serum (centrifuged at 3000 rpm for 10 min) for biochemical analysis. Samples transported at +4 °C to the laboratory department of the Faculty of Veterinary Medicine, Semnan, Iran. Biochemical parameters were measured by a autoanalyzer. These parameters included alkaline phosphatase (ALP), gamma glutamyletransferase (GGT), aspartate aminotransferase (AST), blood urea nitrogen (BUN), total protein (TP) and albumin (Alb). For statistical analysis, data were analyzed by Reference Value Advisor and outliers were deleted if detected according to Tukey or Dixon. RIs, according to sample size, were determined using a robust method and following Box-Cox transformation of data. The data were normally distributed, and differences between sexes in biochemical parameters were analyzed using independent sample T test. A value of $P < 0.05$ was considered as significant.

Results and Discussion The RI of biochemical parameters obtained from adult healthy Sangsari sheep includes the following: ALP 49.24-564.84 u/l; GGT 24.14-62.23 u/l; AST 10.86-338.40 u/l; BUN 6.91-26.43 mg/dl; TP 5.19-13.95 gr/dl and Alb 0.92-3.63 gr/dl. Established RI of biochemical parameters for ewes and rams, respectively including: ALP 29.98-702.89 u/l; GGT 22.41-54.49 u/l; AST 1.36-279.89 u/l; BUN 5.95-26.86 mg/dl; TP 5.75-12.83 gr/dl; Alb 0.84-2.77 gr/dl and ALP 106.08-568.55 u/l; GGT 20.80-58.30 u/l; AST 360.12 u/l; BUN 8.15-26.04 mg/dl; TP 4.66-15.59 g/dl and Alb 0.74-3.77 g/dl. Interpretation of the biochemical results in different breeds of sheep, with regard to RI for each parameter, in conjunction with history, clinical findings and other paraclinical tests helps the clinician to reach a definitive diagnosis. A unique feature of Sangsari sheep is that they are highly adaptable with desert and mountain ranges with high tolerance of drought conditions. This breed is also relatively small size and light weight, and most studies have focused on genetic characteristics associated with this trait. In view of the characteristics mentioned above and considering the lack of reference range for biochemical parameters, it is necessary to determine reference intervals in Sangsari sheep. In order to establish a comprehensive reference interval in Sangsari sheep, a select biochemical parameters were evaluated in the present study. Almost most of the established RI for biochemical parameters in this study differed from previously published RI, so that the lower and upper limits of RI of these parameters (with the exception of BUN) were lower and higher than the values previously reported. Differences between obtained RI for the Sangsari sheep and previously reported RI for other breeds may be attributed to variations in hormonal influences, hydration status, dietary differences, or adaptations to a desert environment, age, breed, season of

1- Assistant professor of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

(*- Corresponding author email: ahmadi.hamedani@semnan.ac.ir)

study and analytic method.

Conclusion The obtained data provided reference interval for biochemical parameters in Sangsari sheep for the first time. Present study demonstrates significant differences in most of the biochemical parameters. Reference intervals determined in this study provide a baseline for interpreting biochemical results in Sangsari sheep, and contribute to optimization of the management of this species.

Keywords: Clinical biochemistry, Sangsari sheep, Reference Interval, Sex