

بررسی مقایسه‌ای پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی مایع صفاقی و خون گاوهای دو رگ ایرانی

دکتر سعید نظیفی حبیب‌آبادی* دکتر ابوتراب طباطبایی نائینی* دکتر رضا مجری**

خلاصه :

به منظور تعیین پارامترهای طبیعی خون و مایع صفاقی گاو، از ۴۰ رأس گاو دو رگ ماده بالغ نمونه‌های مایع صفاقی و خون گرفته شد و میزان پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، ازت اوره، گلوکز، تعداد گلبول‌های سفید و درصد و تعداد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها مورد سنجش قرار گرفتند. مقایسه نتایج به دست آمده از آنالیز آماری پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی سرم و مایع صفاقی گاوهای مورد مطالعه نشان می‌دهند که غلظت پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، تعداد گلبول‌های سفید و تعداد مطلق نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در خون بیشتر از مایع صفاقی می‌باشد ($p < 0/05$). غلظت ازت اوره، گلوکز و درصد نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌های خون و مایع صفاقی مشابه بوده و اختلاف آماری معنی‌داری نشان نمی‌دهند ($p > 0/05$). غلظت پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، ازت اوره، گلوکز، تعداد گلبول‌های سفید، نوتروفیل و لنفوسیت و مایع صفاقی گاوهای مورد مطالعه به ترتیب عبارت بودند از: $1/2380 \pm 0/102$ g/dl، $1/224 \pm 98$ μl، $56/28 \pm 6/32$ mg/dl، $23/96 \pm 4/24$ mg/dl، $738/30 \pm 57/50$ μl، $380/90 \pm 38/70$ μl، $0/552 \pm 0/040$ g/dl، $0/828 \pm 0/061$ g/dl.

واژه‌های کلیدی : مایع صفاقی، خون، گاو دو رگ ایرانی، پروتئین تام، آلبومین

مقدمه :

نشانه‌های بالینی دام بیمار می‌تواند به ناهنجاریهای درون محوطه شکم پی برد (۳، ۸ و ۱۰). پاراستنز محوطه شکمی به عنوان یک روش ارزشمند در تشخیص بیماری‌های اعضای حفره شکمی اسب و گاو کاملاً پذیرفته شده است. عمل فوق می‌تواند در تشخیص ضایعات آماسی محوطه شکم مفید باشد، چون در بیماری‌های مزمن اعضای حفره شکمی گاو برخلاف سایر گونه‌ها، تغییرات خونی نمی‌تواند راهنمای خوبی باشد. این روش خصوصاً در تشخیص

در گاو به دلیل حجیم بودن اعضای محوطه شکمی، معاینه مستقیم آنها میسر نیست و به همین دلیل آزمایش مایعات محوطه شکمی که در تماس مستقیم با این اعضا می‌باشند کمک شایان توجهی به ارزیابی سلامتی دام می‌کند. در شرایط طبیعی، مقداری مایع که از جدار مویرگ‌ها و بافت‌ها ترشح می‌گردد در حفره شکمی وجود دارند. به کمک آزمایشات بیوشیمیایی و سلول‌شناسی مایع صفاقی و با کمک گرفتن از

* - گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

** - دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز - ایران.

استفاده شوند به‌ویژه آنکه برخی از این پارامترها مانند آلبومین، گلوبولین، گلوکز و ازت اوره مایع صفاقی برای اولین بار اندازه‌گیری و گزارش می‌شوند.

مواد و روش کار:

نمونه‌های خون و مایع صفاقی ۴۰ رأس گاو ماده بالغ دو رگ از کشتارگاه مجتمع صنعتی گوشت فارس، جهت آزمایشات مختلف سلول‌شناسی و بیوشیمیایی تهیه گردید. نمونه‌های خون جهت آزمایشات هماتولوژیک بر روی ماده ضدانعقاد EDTA گرفته شدند. برای انجام آزمایشات بیوشیمیایی سرم، نمونه‌های خون در لوله‌های بدون ماده ضدانعقاد گرفته و پس از لخته‌شدن اقدام به جداسازی سرم‌ها گردید. برای نمونه‌گیری از مایع صفاقی، دام در حالت ایستاده مقید می‌گشت. محل گرفتن مایع، عقب جناغ و به فاصله سه تا پنج سانتیمتری طرف چپ خط میانی بدن بود. مسیر رگ شیر (سیاهرگ زیرجلدی شکمی) نشانه خوبی برای پیدانمودن محل پاراستنز بوده به‌طوری که شکاف ۳-۴ سانتیمتر به طرف خط وسط شکم از رگ شیر و ۵ تا ۷ سانتیمتر جلوتر از ورود رگ شیر به بدن داده می‌شد. برای بیحسی موضعی از ۵ تا ۱۰ میلی‌لیتر گزیلوکائین دو درصد استفاده می‌شد. پس از ایجاد شکافی به عمق نیم سانتیمتر، کانول پستانی از میان شکاف‌ها عبور داده می‌شد تا از پرده صفاق نیز عبور کند. در موقع عبور کانول پستانی از پرده صفاق اندکی مقاومت ایجاد شده و سپس صدای مخصوصی که حاکی از گذر کانول از پرده صفاق بود به گوش می‌رسید. در این هنگام دام اندک تکانی می‌خورد. سپس با وصل نمودن سرنگ توسط لوله‌ای پلاستیکی به

تورم پرده صفاق مزمن گاو کاربرد فراوانی دارد. برای رسیدن به تشخیص قطعی بیماری‌های اعضاء حفره شکمی گاو علاوه بر جراحی اکتشافی با انجام روش پاراستنز می‌توان به بسیاری از بیماری‌ها و ناراحتی‌های اعضاء مزبور قبل از عمل جراحی پی برد و در مورد نحوه و میزان تأثیر درمان تصمیم گرفت. در ضمن جراح با دید بهتری اقدام به عمل می‌نماید (۳ و ۸). در حیوانات طبیعی، مایع صفاقی در حالت تعادل بیوشیمیایی با مایع داخل سلولی قرار دارد. چون مایع صفاقی به‌عنوان دیالیز سرم محسوب می‌شود از اینرو میزان پارامترهای آن منعکس‌کننده وضعیت سرم می‌باشد. سرم و مایع صفاقی در حالت تعادل دینامیکی در سطح غشاء مویرگ‌های صفاق می‌باشند. آنالیز سلولی و بیوشیمیایی مایع صفاقی کمک ارزشمندی به تشخیص بیماری‌های اعضاء حفره شکمی می‌کند (۱).

در زمینه تحقیقات انجام شده بر روی مایع صفاقی گاو در حالت طبیعی و بیماری‌ها می‌توان از تحقیقات هیرچ (Hirsch) و تاونسند (Townsend) (۱۹۸۲)، ویلسون (Wilson) و همکاران (۱۹۸۵) و اندرسون (Anderson) و همکاران (۱۹۹۵) نام برد (۲، ۵ و ۱۰). با توجه به تحقیقات محدود انجام شده در زمینه مایع صفاقی گاو تصمیم گرفته شد تا تحقیق جامعی در زمینه مقایسه پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی مایع صفاقی و خون گاو انجام شود. نتایج به‌دست آمده در این تحقیق می‌توانند به‌عنوان مقادیر طبیعی برای تفسیر تغییرات این پارامترها در بیماری‌های حاد و مزمن اعضاء حفره شکمی گاو

جدول ۱ - مقایسه میزان* پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی سرم و مایع صفاقی گاو.

نمونه	پارامتر مورد سنجش	تعداد	پروتئین تام (g/dl)	آلبومین (g/dl)	گلوبولین (g/dl)	ازت اوره (mg/dl)	گلوکز (mg/dl)	تعداد سلول		لنفوسیت	
								μ l	%	μ l	%
خون	۴۰	۶/۶۱۹	۳/۴۰۱	۳/۱۴۲	۲۴/۷۲	۵۷/۲۱	۵۵۳۶	۱۶۱۱	۳۰/۱۸	۶۰/۵۶	۳۲۵۰
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
مایع صفاقی	۴۰	۱/۳۸۰	۰/۸۲۸	۰/۵۵۲	۲۳/۹۶	۵۶/۲۸	۱۲۲۴	۳۸۰/۹۰	۳۱/۱۲	۶۰/۸۸	۷۳۸/۳
		\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm	\pm
		۰/۱۱۰	۰/۳۸۰	۰/۱۲۹	۸/۰۰	۴/۶۲	۱۷۰	۶۱/۷	۰/۶۶	۰/۷۷	۱۰۷/۷
		۰/۱۰۲	۰/۰۶۱	۰/۰۴۰	۴/۲۴	۶/۳۲	۹۸	۳۸/۷	۰/۳۹	۰/۳۹	۵۷/۵
		دارد	دارد	دارد	ندارد	ندارد	دارد	دارد	ندارد	ندارد	دارد
		-	(p<۰/۰۵)								

* میانگین \pm خطای معیار (X \pm SE)

مایع صفاقی از آزمون آماری T استفاده شد. میزان تمام پارامترهای مورد سنجش به صورت میانگین خطای معیار (X \pm SE) گزارش گردید.

نتایج:

نتایج به دست آمده از مقایسه میزان پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی مایع صفاقی و سرم خون گاوهای دو رگ در جدول شماره ۱ ارائه شده است.

مقایسه میزان پارامترهای سلولی و بیوشیمیایی مایع صفاقی و سرم گاوهای دو رگ نشان می دهد که پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، تعداد سلولها و تعداد مطلق نوتروفیلها و لنفوسیتها با یکدیگر اختلاف آماری معنی دار (p<۰/۰۵) دارند (جدول ۱).

بحث:

مایع صفاقی به دست آمده از گاوهای دو رگ کشتارگاه مجتمع صنعتی گوشت فارس کاهی رنگ، شفاف، فاقد لخته فیبرینی و به حجم ۱-۲ میلی لیتر بود. مایع صفاقی طبیعی کاملاً شفاف و به رنگ کاهی تا زرد می باشد (۴). حجم مایع صفاقی در حالت طبیعی ۱-۵

انتهای کانول پستانی درون سرنگ خلاء ایجاد کرده و کانول به کف و اطراف محوطه شکمی هدایت می شد تا مایع به درون سرنگ کشیده شود. مایع محوطه صفاقی جمع شده در لوله آزمایش به آزمایشگاه منتقل می گردید (۱۰).

شمارش گلبولهای سفید خون و مایع صفاقی به روش معمول هموسیتومتری صورت گرفت (۴ و ۸). گسترشهای تهیه شده از خون و رسوب مایع صفاقی که پس از سانتریفوژ به روش گیمسا رنگ آمیزی شدند (۸). در سرم و مایع صفاقی، پروتئین تام به روش بیوره، آلبومین به روش بروموکرزیل گرین، ازت اوره به روش دی استیل منوکسیم و گلوکز به روش گلوکز اکسیداز اندازه گیری شدند (۴).

جهت آنالیز آماری نتایج به دست آمده از مطالعه و سنجش پارامترهای اندازه گیری شده در خون و مایع صفاقی از برنامه کامپیوتری SPSS استفاده شد. برای یافتن اختلافات موجود در بین میانگینهای مختلف هر یک از پارامترهای مورد سنجش در خون و

میلی‌لیتر می‌باشد. در صورتی که در هر بار نمونه‌گیری ۱۰-۲۰ میلی‌لیتر مایع به دست آید نشان‌دهنده پارگی مثانه، آسیت، آماس منتشر پرده صفاق و نکروز دیواره روده می‌باشد. کدر بودن مایع صفاقی حکایت از افزایش غیرطبیعی تعداد گلبول‌های سفید دارد (۴ و ۸). در مایع صفاقی طبیعی فیبرینوژن وجود ندارد (۴، ۸ و ۹).

نتایج نشان می‌دهند که غلظت پروتئین تام سرم خون (۱۱۰/۰±۶/۶۱۹ گرم در دسی‌لیتر) گاوهای مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی (۱۰۲/۰±۱/۳۸ گرم در دسی‌لیتر) می‌باشد (p<۰/۰۵). نتایج به دست آمده با نتایج محققین خارجی هماهنگی و مطابقت دارد (۴، ۸ و ۱۰).

ویلسون و همکاران (۱۹۸۵) میزان طبیعی پروتئین تام مایع صفاقی را کمتر از ۳g/dl گزارش کردند (۱۰). مییر (Meyer) و همکاران (۱۹۹۲) میزان طبیعی پروتئین تام مایع صفاقی را کمتر از ۲۵۰۰ میلی‌گرم در دسی‌لیتر گزارش کردند (۸).

دانکن (Duncan) و همکاران (۱۹۹۴) میزان طبیعی پروتئین تام سرم را ۶/۷-۷/۵g/dl و مایع صفاقی را کمتر از ۳ گرم در دسی‌لیتر گزارش کردند (۴). غلظت آلبومین سرم خون (۳/۲۰۱±۰/۳۸۰g/dl)

گاوهای مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی (۰/۸۲۸±۰/۰۶۱g/dl) می‌باشد (p<۰/۰۵). در مورد میزان طبیعی آلبومین مایع صفاقی گاوهای خارجی گزارشی به دست نیامد. غلظت گلوبولین سرم خون (۳/۱۴۲±۰/۱۲۹g/dl) گاوهای مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی (۰/۵۵۲±۰/۰۴۰g/dl) می‌باشد (p<۰/۰۵). در مورد میزان طبیعی گلوبولین

مایع صفاقی گاوهای خارجی گزارشی به دست نیامد. بین میزان طبیعی گلوکز سرم خون (۵۷/۲۱±۴/۶۲mg/dl) و میزان طبیعی گلوکز مایع صفاقی (۵۶/۲۸±۶/۳۲mg/dl) اختلاف آماری معنی‌داری مشاهده نشد (p>۰/۰۵). در مورد میزان طبیعی گلوکز مایع صفاقی گاوهای خارجی گزارشی به دست نیامد.

تعداد گلبول‌های سفید خون (۵۵۳۶±۱۷۰/μl) گاوهای مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی (۱۲۲۴±۹۸/μl) می‌باشد (p<۰/۰۵). نتایج به دست آمده در این تحقیق با نتایج آندرسون و همکاران (۱۹۹۵) همخوانی و مطابقت دارد (۲). آندرسون و همکاران (۱۹۹۵) تعداد گلبول‌های سفید مایع صفاقی گوساله را ۳۳۵۰±۲۲۶۰/μl و گاو را ۱۳۷۱±۹۲۳/μl گزارش کردند (۲). مییر و همکاران (۱۹۹۲) طبیعی گلبول سفید مایع صفاقی را کمتر از ۱۰۰۰ در میکرولیتر گزارش کردند (۸). دانکن و همکاران (۱۹۹۴) تعداد طبیعی گلبول‌های سفید مایع صفاقی را کمتر از ۵۰۰ در میکرولیتر گزارش کردند (۴). آدامو (Adamu) و همکاران (۱۹۹۱) تعداد طبیعی گلبول‌های سفید مایع صفاقی بز را ۲۱۰/μl گزارش کردند (۱). سانتشی (Santschi) و همکاران (۱۹۹۸) تعداد گلبول‌های سفید مایع صفاقی اسبچه را در حالت طبیعی ۲۱۱۱±۱۲۳۸/μl گزارش کردند (۹). سانتشی و همکاران (۱۹۹۸) طی تحقیقی اظهار داشتند که پس از عمل جراحی، تعداد گلبول‌های سفید و پروتئین تام مایع صفاقی افزایش می‌یابد و تا ۶ روز بعد از عمل نیز همچنان بالا باقی می‌ماند (۹).

تعداد نوتروفیل‌های خون ($1611 \pm 61/7/\mu l$)
 گاوهای مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی
 ($380/90 \pm 38/7/\mu l$) می‌باشد ($p < 0/05$). تعداد
 لنفوسیت‌های خون ($3250 \pm 107/7/\mu l$) گاوهای
 مورد مطالعه بیشتر از مایع صفاقی
 ($738/3 \pm 57/5/\mu l$) می‌باشد ($p < 0/05$).

آندرسون و همکاران (۱۹۹۵) تعداد
 نوتروفیل‌های مایع صفاقی گوساله را $1877/\mu l$ و گاو
 را $870/\mu l$ گزارش کردند (۲). همین محققین تعداد
 لنفوسیت‌های مایع صفاقی گوساله را
 $1459 \pm 2139/\mu l$ و گاو را $320 \pm 304/\mu l$ گزارش
 کردند (۲). در این تحقیق درصد نوتروفیل‌های مایع
 صفاقی گاوهای دو رگ $31/12 \pm 0/39$ درصد
 به‌دست آمد. ویلسون و همکاران (۱۹۸۵) درصد
 نوتروفیل‌های مایع صفاقی گاو را کمتر از ۴۰ درصد
 گزارش کردند (۱۰). سانتشی و همکاران (۱۹۹۸)
 درصد نوتروفیل‌های مایع صفاقی اسبچه را در حالت
 طبیعی 57 ± 16 درصد گزارش کردند (۹).

در این تحقیق تمام گاوهای مورد مطالعه بالغ
 بودند و اثر سن بر روی پارامترهای سلولی و
 بیوشیمیایی مایع صفاقی و خون مورد بررسی قرار
 نگرفت که دلیل آن محدودیت‌های مربوط به
 نمونه‌گیری وسیع در محل کشتارگاه صنعتی گوشت
 فارس بود. آندرسون و همکاران (۱۹۹۵) طی تحقیقی
 اثر سن را بر روی پارامترهای طبیعی مایع صفاقی مورد
 بررسی قرار داده و اظهار داشتند که پارامترهای مایع
 صفاقی گوساله و گاو کاملاً با یکدیگر تفاوت آماری
 معنی‌دار دارند و از اینرو مقادیر طبیعی ترکیبات مایع

صفاقی گاو بالغ را نمی‌توان برای گوساله به کار برد و در
 بیماری‌های محوطه صفاقی استفاده از این مقادیر برای
 تفسیر نتایج اشتباه می‌باشد (۲).

در این تحقیق تمام نمونه‌های مایع صفاقی
 شفاف و طبیعی بودند و هیچگونه آلودگی خونی
 نداشتند. در زمینه آلودگی مایع صفاقی به خون مالارک
 (Malark) و همکاران (۱۹۹۲) طی تحقیقی اظهار
 داشتند که در هنگام نمونه‌گیری از مایع صفاقی اسب،
 در صورت آلودگی مایع با خون، اگرچه تعداد
 گلبول‌های قرمز به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابند، اما
 اگر میزان این آلودگی بیش از ۱۷ درصد مایع نباشد،
 ترکیبات طبیعی مایع صفاقی تغییر نخواهد کرد.
 به‌طوری‌که شمارش گلبول‌های سفید و غلظت پروتئین
 مایع صفاقی تغییر معنی‌داری نخواهند داشت (۷).

در این تحقیق از هر رأس گاو تنها یک بار مایع
 صفاقی و خون گرفته شد و نیازی به نمونه‌گیری مکرر
 نشد. جازویک (Juzwiak) و همکاران (۱۹۹۱) طی
 تحقیقی اظهار داشتند که نمونه‌گیری‌های مکرر از مایع
 صفاقی در صورتی که در طی ۲۴ ساعت صورت گیرد
 هیچ اثر معنی‌داری بر روی ترکیبات مایع صفاقی
 به‌ویژه ترکیبات سلولی آن ندارد (۶).

تشکر و قدردانی :

بدینوسیله از زحمات و همکاری مسئولین و
 کارکنان شریف مجتمع صنعتی گوشت فارس، مدیریت
 محترم دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز و همچنین
 زحمات سرکار خانم عظیمی منشی محترم امور اداری
 دانشکده دامپزشکی شیراز صمیمانه تشکر و قدردانی
 می‌شود.

References :

- 1 - Adamu, S.S., Egwu, G.O. and Malgwi, J.T. Biochemical changes in the peritoneal fluid following rumenotomy in goats. *Vet. Res. Communications.* 15: 363-367, (1991).
- 2 - Anderson, D.E., Cornwell, D., Anderson, L.S., Jean, G.St. and Destrochers, A. Comparison of peritoneal fluid analysis of calves and adult cattle. *Vet. Surg.* 24: 420, (1995).
- 3 - Bach, L.G. and Ricketts, S.W. Paracentesis as an aid to the diagnosis of abdominal disease in the horse. *Equine Vet. J.* 6: 116-121, (1974).
- 4 - Duncnan, J.R., Prasse, K.W. and Mahaffey, E.A. *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology.* 3rd ed. Iowa State University Press. Ames. U.S.A. pp: 204-211, (1994).
- 5 - Hirsch, V.M. and Townsend, H.G.G. Peritoneal fluid analysis in the diagnosis of abdominal disorders in cattle. *Can. Vet. J.* 23: 348-353, (1982).
- 6 - Juzwiak, J.S., Ragle, C.A., Brown, C.M., Krehbiel, J.D. and Slocombe, R.F. The effect of repeated abdominocentesis on peritoneal fluid constituents in the horse. *Vet. Res. Communications.* 15: 177-180, (1991).
- 7 - Malark, J.A., Peyton, L.C. and Galvin, M.J. Effects of blood contamination on equine peritoneal fluid analysis. *JAVMA.* 201: 1545-1548, (1992).
- 8 - Meyer, D.J., Coles, E.H. and Rich, L.J. *Veterinary Laboratory Medicine. Interpretation and Diagnosis.* 1st ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia. pp: 125-130, (1992).
- 9 - Santschi, E.M., Grindem, C.B., Tate, L.P. and Corbett, W.T. Peritoneal fluid analysis in ponies after abdominal surgery. *Vet. Surg.* 17: 6-9, (1988).
- 10 - Wilson, A.D., Hirsch, V.M. and Osborine, A.D. Abdominocentesis in cattle : Technique and criteria for diagnosis of peritonitis. *Can. Vet. J.* 26: 74-80, (1985).

Analysis of Peritoneal fluid parameters in Iranian crossbred cows : Comparison with blood

Nazifi Habibabadi, S.* Tabatabaei Naini, A.* Mojri, R.**

Summary :

Abdominal paracentesis is accepted as a valuable aid in the diagnosis of bovine abdominal diseases. Peritoneal fluid is a dialysate of serum, therefore, its biochemical values reflect those of serum. The purpose of the present study is to determine cytological and biochemical parameters of peritoneal fluid in apparently healthy Iranian crossbred cows. Blood and peritoneal fluid samples were collected from 40 apparently healthy Iranian crossbred cows. Absolute and differential leukocyte counts and the concentration of total protein, albumin, glucose and urea nitrogen were measured by routine laboratory methods. Comparison of cellular and biochemical parameters in serum and peritoneal fluid of Iranian crossbred cows revealed that concentration of total protein, albumin, globulin, total leukocyte counts, neutrophils and lymphocytes in blood were higher than peritoneal fluid ($p < 0.05$). The concentration of urea nitrogen and glucose and the percent of neutrophils and lymphocytes in peritoneal fluid were similar to blood ($p > 0.05$). The mean values of total protein, albumin, globulin, urea nitrogen, glucose, total leukocyte counts, absolute neutrophil and lymphocyte counts in peritoneal fluid of crossbred cows were 1.380 ± 0.102 (g/dl), 0.828 ± 0.061 (g/dl), 0.552 ± 0.040 (g/dl), 23.96 ± 4.24 (mg/dl), 56.28 ± 6.32 (mg/dl), $1224 \pm 98/\mu\text{l}$, $380.90 \pm 38.70/\mu\text{l}$ and $738.30 \pm 57.50/\mu\text{l}$, respectively.

Key words : Peritoneal fluid, Blood, Iranian crossbred cow, Total protein, Albumin

* - Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.

** - Graduated in Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran.