

## بررسی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با تری‌کلوروفن

دکتر سعید نظیفی<sup>۱</sup>، دکتر فرید فیروزبخش<sup>۲</sup>، دکتر مینا قاضی‌زاده<sup>۳</sup>

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۶، شماره ۲، ۲۷-۲۳، ۱۳۸۰

استیل‌کولین استراز به‌وسیله سموم ارگانوفسفره مهار می‌شود. دوز ارگانوفسفره برای مهار استیل‌کولین استراز و مرگ ماهی بستگی به گونه ماهی و ترکیب ارگانوفسفره دارد (۶ و ۳). در زمینه اثرات سموم ارگانوفسفره بر روی متابولیسم بدن، کبد، کلیه و سایر بافتها گزارشهایی وجود دارد (۶، ۵، ۳). تاکنون در زمینه اثرات تری‌کلوروفن بر روی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی تحقیقی به‌عمل نیامده است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر تری‌کلوروفن با دوز درمانی ۰/۲۵ppm و دوز مسموم‌کننده ۱ppm بر روی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای است. مسلماً تغییرات پارامترهای هماتولوژیک خون در اثر مسمومیت می‌تواند نمودی از تغییرات بافت خونساز و بافتهای گوناگون ماهی در خلال مسمومیت باشد. با انجام این پژوهش مشخص خواهد شد که آیا تری‌کلوروفن در دوز درمانی ۰/۲۵ppm اثر نامطلوبی بر پارامترهای هماتولوژیک خون دارد یا خیر؟ در ضمن، در دوز مسموم‌کننده ۱ppm نیز تا چه اندازه بر روی پارامترهای هماتولوژیک خون تأثیر می‌گذارد چون ممکن است در اثر اشتباه پرسنل استخرهای پرورش ماهی، تری‌کلوروفن، بیش از دوز درمانی داده شود و مشکلاتی را به‌وجود آورد.

### مواد و روش کار

برای انجام این پژوهش از ماهیان کپور نقره‌ای با وزن متوسط ۵۵۰ گرم، طول ۲۸ سانتیمتر و سن ۷ ماه استفاده شد. پس از تخلیه ماهیان از تانک حمل و نقل، آنها به مدت ۴۸ ساعت در آکواریومهایی که از نظر اکسیژن، درجه حرارت و pH در شرایط مطلوب بودند قرار گرفتند (pH=7 و T=22°C) تا استرسهای ناشی از حمل و نقل برطرف گردد. حجم آکواریومها ۱۲۰×۱۲۰×۹۰ و از جنس فایبرگلاس بود. سپس ماهیان به سه گروه تقسیم شدند:

- ۱- تعداد ۱۲ ماهی به‌عنوان گروه شاهد
  - ۲- تعداد ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه مصرف‌کننده دوز درمانی ۰/۲۵ppm
  - ۳- تعداد ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه مسموم‌شده با دوز ۱ppm
- آکواریومهای مربوط به هر سه گروه از نظر درجه حرارت و pH آب یکسان بودند. سونوگیری در زمانهای ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از تجویز سم صورت گرفت. لازم به ذکر است که برای مقایسه گروههای مسموم‌شده با دوزهای مختلف تری‌کلوروفن از ۱۲ عدد ماهی به‌عنوان گروه شاهد استفاده شد. اما زمانی که قرار شد اثر یک دوز خاص از تری‌کلوروفن (مانند ۰/۲۵ppm یا ۱ppm) در زمانهای مختلف پس از مسمومیت مورد ارزیابی قرار گیرد، پیش از ایجاد مسمومیت از تمام ۲۴ ماهی به‌عنوان گروه شاهد نمونه‌گیری شد. آنگاه پس از ایجاد مسمومیت، اثر تری‌کلوروفن در زمانهای پس از مسمومیت مورد ارزیابی قرار گرفت. خونگیریها از ساقه دم و به روش جانبی صورت گرفت. برای خونگیری، ابتدا چند فلس از محل مورد نیاز برداشته و سپس با پارچه و پنبه خشک گردید. در این روش، سوزن از سمت جانبی با زاویه ۴۵ درجه و به اندازه یک فلس زیر خط جانبی وارد می‌شود. هنگامی که سوزن به ستون مهره‌ها برخورد می‌کند کمی آن را جابه‌جا کرده تا سوزن بین ستون مهره‌ها یعنی درون ورید ساقه دم قرار گیرد (۸). میزان خون برداشت‌شده از هر ماهی حدود ۲/۵ میلی‌لیتر بود. پس از خونگیری، نمونه‌های خون در درون لوله‌های حاوی

به‌منظور بررسی اثر تری‌کلوروفن بر روی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی، تعداد ۶۰ ماهی کپور نقره‌ای انتخاب و به سه گروه شاهد (۱۲ عدد)، مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm (۲۴ عدد) و مسموم‌شده با دوز ۱ppm (۲۴ عدد) تری‌کلوروفن تقسیم شدند. در مورد گروههای مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm و مسموم‌شده با دوز ۱ppm تری‌کلوروفن در زمانهای پیش از شروع آزمایش (شاهد)، ۱۲، ۲۴، ۳۶ و ۴۸ ساعت پس از مسمومیت تجربی، خونگیری به‌عمل آمد. در هر نمونه خون، تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، شاخصهای گلبولی، تعداد گلبولهای سفید، درصد هتروفیلها، منوسیتها، لنفوسیتها، گلبولهای سفید دژنره و تعداد ترومبوسیتها اندازه‌گیری شدند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهند که بین گروه شاهد و گروههای مصرف‌کننده دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلوروفن از نظر تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید و درصد هتروفیلها، لنفوسیتها، منوسیتها و گلبولهای سفید دژنره اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد (P<0/05). بین گروه شاهد و گروه مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ppm تری‌کلوروفن از نظر هیچ‌یک از پارامترهای هماتولوژیک خون اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد (P>0/05) با افزایش دوز سم به ۱ppm، افزایش معنی‌داری در درصد هتروفیلها و گلبولهای سفید دژنره و کاهش معنی‌داری در تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید، درصد لنفوسیتها و منوسیتها خون ماهی کپور نقره‌ای مشاهده شد (P<0/05). پس از ایجاد مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ppm و ۱ppm تری‌کلوروفن در زمانهای مختلف پس از مسمومیت تنها در مورد درصد گلبولهای سفید دژنره در مسمومیت با دوز ۱ppm، اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد (P<0/05) و در مورد سایر پارامترها در زمانهای مختلف پس از مسمومیت هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری دیده نشد. در این پژوهش هیچ‌گونه اثر متقابل بین دوز سم تری‌کلوروفن و زمانهای مختلف پس از تجویز سم، در مورد هیچ‌یک از پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای به‌دست نیامد. به‌طور خلاصه، تری‌کلوروفن در دوز ۱ppm اثرات قابل توجهی بر پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای دارد.

واژه‌های کلیدی: مسمومیت، تری‌کلوروفن، هماتولوژی، ماهی، کپور نقره‌ای.

تری‌کلوروفن (نگون "Neguvon"، مازوتن "Masoten"، یا دیپترکس "Dipterex") با نام شیمیایی ۱-۱-۲-دی‌متیل -۲-۲-تری‌کلرو -۱-هیدروکسی اتیل فسفات یک ترکیب ارگانوفسفره است که برای کنترل ترماندهای مونوژن خارجی، شیشهای ماهی، کرم آبشش، کرمهای قلابدار و زالو به میزان ۰/۲۵ppm در آب استفاده می‌شود (۱۲ و ۳). تری‌کلوروفن داروی نسبتاً بی‌خطری است که مصرف آن در برخی حیوانات تأیید شده است. سموم ارگانوفسفره از راه آبششها، آب، غذا و پوست می‌توانند وارد بدن ماهی شوند. بعد از اینکه سم وارد بدن شد، جذب خون شده و به‌وسیله آلبومین در خون جابه‌جا می‌شود. نشانه‌های مسمومیت در ماهی به مقدار سم بستگی دارد. در اثر مسمومیت، تحریک، هیجان‌زدگی و کاهش تغذیه در ماهیان دیده می‌شود. اگر شدت مسمومیت زیاد باشد گرفتگی عضلانی و انحراف ستون مهره‌ها از پهلو نیز رخ می‌دهد (۱۲ و ۳). در ماهی نیز همانند پستانداران، استیل‌کولین نقش اصلی را در انتقال پیامهای عصبی در سیناپسهای کلینرژیکي به‌عهده دارد. آنزیم

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

۲) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان - ایران.

۳) دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان، کرمان - ایران.



جدول ۱ - میزان\* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با تری‌کلوروفن

اختلاف آماری معنی‌دار (P<0/05)	گروه‌های آزمایشی			پارامترهای هماتولوژیک
	مسمومیت با دوز ۱ ppm تری‌کلوروفن (n = 24)	مصرف‌کننده دوز 0/25 ppm تری‌کلوروفن (n = 24)	شاهد (n = 12)	
S	1/42±0/11 <sup>b</sup>	1/69±0/21 <sup>a</sup>	1/76±0/12 <sup>a</sup>	تعداد گلبولهای قرمز (ل/ل) (×10 <sup>9</sup> )
S	10/29±0/28 <sup>b</sup>	12/72±0/72 <sup>a</sup>	12/90±0/94 <sup>a</sup>	غلظت هموگلوبین (g/dl)
S	23/30±0/98 <sup>b</sup>	28/23±0/83 <sup>a</sup>	28/48±0/94 <sup>a</sup>	هماتوکریت (%)
NS	164/01±13/75	167/04±23/37	161/81±11/01	(fl) MCV
NS	72/46±4/36	75/26±6/90	73/29±8/31	(pg) MCH
NS	44/16±2/05	45/05±2/45	45/29±4/48	(%) MCHC
S	5/79±4/05 <sup>b</sup>	9/26±5/89 <sup>a</sup>	9/96±2/73 <sup>a</sup>	تعداد گلبولهای سفید (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )
S	72/90±4/07 <sup>b</sup>	56/64±3/18 <sup>a</sup>	55/56±4/44 <sup>a</sup>	هتروفیل (%)
S	24/86±4/47 <sup>b</sup>	40/57±2/66 <sup>a</sup>	41/50±4/46 <sup>a</sup>	لنفوسیت (%)
S	2/22±0/79 <sup>b</sup>	2/79±1/00 <sup>a</sup>	2/92±0/84 <sup>a</sup>	منوسیت (%)
S	15/92±3/58 <sup>b</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>	گلبولهای سفید دژنره (%)
NS	25/34±3/84	29/78±6/13	28/81±3/85	تعداد ترومبوسیت (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )

جدول ۲ - میزان\* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در زمانهای مختلف پس از مصرف دوز 0/25 ppm تری‌کلوروفن (n = 24)

اختلاف آماری معنی‌دار (P<0/05)	زمان پس از مسمومیت (ساعت)				پیش از مسمومیت (شاهد)	پارامترهای هماتولوژیک
	48	26	24	12		
NS	1/71±0/18	1/57±0/27	1/61±0/19	1/75±0/22	1/79±0/14	تعداد گلبولهای قرمز (ل/ل) (×10 <sup>9</sup> )
NS	12/62±0/68	12/59±0/76	12/79±0/85	12/81±0/65	12/89±0/87	غلظت هموگلوبین (g/dl)
NS	28/14±0/86	27/52±1/02	29/11±0/75	28/16±0/91	28/59±0/97	هماتوکریت (%)
NS	164/56±22/94	175/28±21/41	180/80±19/65	160/91±24/18	159/72±20/17	(fl) MCV
NS	73/80±6/16	80/19±7/43	79/44±5/71	73/22±7/19	72/01±6/16	(pg) MCH
NS	44/84±2/32	45/74±2/27	43/92±2/74	45/49±2/16	45/08±2/21	(%) MCHC
NS	9/29±2/97	9/09±4/13	9/41±5/11	9/12±4/71	9/88±2/82	تعداد گلبولهای سفید (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )
NS	54/92±3/96	57/46±3/72	58/29±3/24	55/35±4/17	56/95±4/75	هتروفیل (%)
NS	40/45±2/47	42/51±2/79	39/75±2/16	38/49±1/79	40/26±4/19	لنفوسیت (%)
NS	2/94±0/93	2/69±0/62	2/88±0/67	2/49±1/02	2/79±0/76	منوسیت (%)
NS	0/00±0/00	0/00±0/00	0/00±0/00	0/00±0/00	0/00±0/00	گلبولهای سفید دژنره (%)
NS	20/46±16/45	28/67±13/44	28/96±7/94	29/83±12/84	28/42±3/13	تعداد ترومبوسیت (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )

جدول ۳ - میزان\* پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در زمانهای مختلف پس از مسمومیت با دوز ۱ ppm تری‌کلوروفن (n = 24)

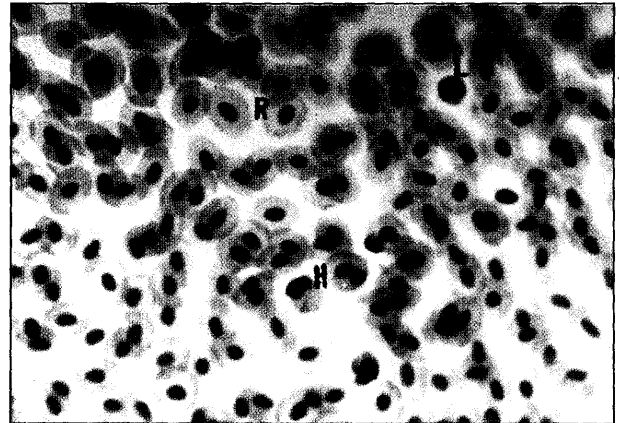
اختلاف آماری معنی‌دار (P<0/05)	زمان پس از مسمومیت (ساعت)				پیش از مسمومیت (شاهد)	پارامترهای هماتولوژیک
	48	26	24	12		
NS	1/51±0/25	1/49±0/53	1/41±0/96	1/37±0/21	1/59±0/32	تعداد گلبولهای قرمز (ل/ل) (×10 <sup>9</sup> )
NS	10/36±2/23	9/58±1/52	11/12±1/23	10/50±1/34	11/17±1/43	غلظت هموگلوبین (g/dl)
NS	24/16±4/11	23/05±0/82	24/53±3/32	22/62±3/50	24/92±1/69	هماتوکریت (%)
NS	160/00±23/19	154/69±22/16	172/97±18/43	165/11±21/97	156/72±22/65	(fl) MCV
NS	68/60±6/43	64/29±7/16	78/86±5/92	76/64±6/24	70/25±5/19	(pg) MCH
NS	42/88±2/41	41/56±2/37	45/33±2/52	46/41±2/12	44/82±2/36	(%) MCHC
NS	5/48±0/95	6/13±0/62	5/97±0/78	4/78±1/18	9/62±2/54	تعداد گلبولهای سفید (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )
NS	67/62±7/23	72/43±11/14	75/91±12/52	66/21±10/76	55/32±5/79	هتروفیل (%)
NS	24/96±11/02	24/41±13/16	22/14±19/11	25/27±14/17	41/37±5/23	لنفوسیت (%)
NS	7/42±1/12	3/16±0/97	1/95±0/26	8/52±0/76	2/31±0/62	منوسیت (%)
S	19/79±1/34 <sup>b</sup>	18/32±1/76 <sup>b</sup>	13/69±2/92 <sup>b</sup>	10/75±5/49 <sup>b</sup>	0/00±0/00 <sup>a</sup>	گلبولهای سفید دژنره (%)
NS	24/96±4/91	22/41±7/46	29/63±11/73	25/52±9/73	27/35±3/27	تعداد ترومبوسیت (ل/ل) (×10 <sup>3</sup> )

\* میانگین ± خطای معیار (X±SE)، در هر ستون، میانگینهایی که با حروف لاتین نامتشابه نشان داده شده‌اند با یکدیگر اختلاف آماری معنی‌دار دارند (NS، Significant (S، P<0/05). Non Significant (NS





تصویر ۲ - خون محیطی ماهی کپور نقره‌ای در مسمومیت با دوز ۱ ppm تری‌کلورفن (رنگ‌آمیزی گیمسا ×۵۰۰). در این تصویر، گلبولهای قرمز متلاشی شده و تنها هسته آنها باقی مانده است. (M) منوسیت فعال شده، (D) سلول دژنره.



تصویر ۱ - خون محیطی ماهی کپور نقره‌ای پس از مصرف دوز ۰/۲۵ ppm تری‌کلورفن (رنگ‌آمیزی گیمسا ×۵۰۰). (H) هتروفیل، (L) لنفوسیت، (R) گلبول قرمز سالم.

لنفوسیت‌ها و منوسیت‌های خون ماهی کپور نقره‌ای مشاهده شد ( $P < 0/05$ ). پس از ایجاد مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ ppm و ۱ ppm تری‌کلورفن در زمانهای مختلف پس از مسمومیت تنها در مورد درصد گلبولهای سفید دژنره در مسمومیت با دوز ۱ ppm اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد ( $P < 0/05$ ) و در مورد سایر پارامترها در زمانهای مختلف پس از مسمومیت هیچ گونه تغییر معنی‌داری دیده نشد. در این پژوهش، هیچ گونه اثر متقابل بین دوز سم تری‌کلورفن و زمانهای مختلف پس از تجویز سم، در مورد هیچ یک از پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای به دست نیامد. در آزمایش هیستوپاتولوژی مشخص شد که پس از مسمومیت با دوز ۱ ppm تری‌کلورفن، نکروز بافتی، خونریزی، کم‌خونی و بزرگ شدن سلولهای آبششها، کبد و کلیه رخ داده است. واکوئوله‌شدن سیتوپلاسم، تغییر شکل هسته و نکروز سلولهای کبدی به‌طور مشخص دیده شد.

### بحث

در این پژوهش، در دوز درمانی ۰/۲۵ ppm تری‌کلورفن در مقایسه با ماهیان سالم (گروه شاهد)، پارامترهای هماتولوژیک خون تغییرات معنی‌داری نشان ندادند (تصویر ۱) اما در دوز مسموم‌کننده ۱ ppm تری‌کلورفن تغییرات معنی‌داری در پارامترهای هماتولوژیک خون دیده شد. از مهمترین تغییرات مشاهده‌شده، درصد بالای گلبولهای سفید دژنره بود. در هتروفیلهای ماهیان مسموم، تغییرات ناشی از مسمومیت بخوبی آشکار بود. سیتوپلاسم هتروفیلها کف‌آلود، واکوئوله و بازوفیلی شده و دانه‌های سمی ارغوانی و گنججیدگیهای سیتوپلاسمی آبی رنگ در آنها دیده می‌شد. در دوز ۱ ppm تری‌کلورفن با گذشت زمان مسمومیت، درصد هتروفیلهای سمی افزایش یافت. این نکته حکایت از افزایش تأثیر سم با گذشت زمان دارد. تغییرات دژنراتیو و ریخت‌شناسی گلبولهای سفید، شاخص خوبی برای بررسی اثر سم بر سلولهای خونی هستند. واکوئوله و فعال‌شدن منوسیت‌ها، فعال‌شدن لنفوسیت‌ها، حضور هتروفیل‌های سمی و سایر تغییرات گلبولهای سفید همگی از دلایل اثر سم تری‌کلورفن بر تابلوی گلبولهای سفید خون است (۴). در دوز ۱ ppm تری‌کلورفن گلبولهای قرمز متلاشی شده و تنها هسته آنها باقی مانده بود. به‌طوری که در ۴۸ ساعت پس از شروع مسمومیت بسیاری از گلبولهای قرمز متلاشی شده بودند (تصویر ۲). این نکته، دلیلی بر کم‌خونی ناشی از مسمومیت

EDTA ریخته و به هم زده می‌شد. شمارش گلبولهای سفید و قرمز به روش هماسیتومتری، اندازه‌گیری هموگلوبین به روش سیانمت هموگلوبین، سنجش هماتوکریت به روش میکروهماتوکریت، شمارش ترومبوسیت‌ها براساس شمارش غیرمستقیم از راه گسترش‌های خونی، تشخیص تفریقی گلبولهای سفید براساس تهیه گسترش خون و رنگ‌آمیزی با گیمسا و سنجش شاخصهای گلبولی (MCH، MCV و MCHC) براساس فرمولهای استاندارد صورت گرفت (۹). نتایج به‌دست آمده از این پژوهش با استفاده از آزمونهای آنالیز واریانس (ANOVA) یکطرفه و دو طرفه مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. برای پی‌بردن به اختلاف آماری معنی‌دار بین میانگینها در مورد هر پارامتر از آزمون دانکن استفاده شد. برای پی‌بردن به اختلافهای موجود بین دوزهای مختلف سم و نیز زمانهای متفاوت پس از مسمومیت در مورد هر پارامتر از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و برای پی‌بردن به تقابل اثر دوز سم و زمانهای پس از مسمومیت از آنالیز واریانس دوطرفه استفاده شد.

### نتایج

نتایج به‌دست آمده از بررسی اثر دوزهای مختلف سم تری‌کلورفن روی پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای در جدول ۱ ارایه شده است. جداول ۲ و ۳ به ترتیب میزان پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای را در زمانهای مختلف پس از مسمومیت با دوزهای ۰/۲۵ ppm و ۱ ppm تری‌کلورفن نشان می‌دهند.

نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان می‌دهند که بین گروه شاهد و گروههای مصرف‌کننده دوزهای ۰/۲۵ ppm و ۱ ppm تری‌کلورفن از نظر تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید و درصد هتروفیلها، لنفوسیت‌ها، منوسیت‌ها و گلبولهای سفید دژنره اختلاف آماری معنی‌دار وجود دارد ( $P < 0/05$ ). بین گروه شاهد و گروه مصرف‌کننده دوز ۰/۲۵ ppm تری‌کلورفن از نظر هیچ یک از پارامترهای هماتولوژیک خون اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده نشد. به این معنی که با دوز ۰/۲۵ ppm تری‌کلورفن هیچ تغییر معنی‌داری در پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره‌ای رخ نداد. با افزایش دوز سم به ۱ ppm، افزایش معنی‌داری در درصد هتروفیلها و گلبولهای سفید دژنره و کاهش معنی‌داری در تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین، میزان هماتوکریت، تعداد گلبولهای سفید، درصد



2. Coles, E.H. (1986): *Veterinary Clinical Pathology*. 4th ed. W.B. Saunders Co., Philadelphia, pp: 43-79.
3. Coppage, D.O. and Mathew, S.E. (1974): Short-term effect of organophosphate pesticides on cholinesterase of estuarine fish and pink shrimp. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2: 433.
4. Duncan, J.R., Prasse, K.W. and Mahaffey, E.A. (1994): *Veterinary Laboratory Medicine. Clinical Pathology*. 3rd ed. Iowa State University Press. Ames. Iowa. U.S.A, pp: 37-52.
5. Ferguson, H.W. (1995): *Systemic Pathology of Fish*. 3rd ed. Iowa State University Press, pp: 146.
6. Gantverg, A.N. and Pervoznikov, M.A. (1984): Inhibition of cholinesterase in the brain of perch, *percafluviatilis* (percidae) and common carp. *Cyprinus carpio* (Cyprinidae) under the action carbophos. *J. Ichthyol.* 23: 174.
7. Hines, R.S. and Spria, D.T. (1973): Ichthyophthiriasis in mirror carp II. Leukocyte response. *J. Fish Biol.* 5: 527-534.
8. Ikeadaly, S. and Ozaki, H. (1981): The examination of tail peduncle severing blood sampling method from aspect of observed serum constituent level in carp. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 47: 1447-1453.
9. Jain, N.C. (1986): *Schalms Veterinary Hematology*. 4th ed. Lea & Febiger. Philadelphia, pp: 20-80.
10. Morris, D.D. (1996): Alteration in the Leukogram. In: *Large Animal Internal Medicine*. Edited by Smith, B.P. 2nd ed. Mosby - Year Book, Inc., pp: 483.
11. Sharma, R.C. and Gupta, N. (1982): Carbon tetrachloride induced hematological alternations in *Clarias batrachus*. *Environ. Biol.* 3: 127-131.
12. Stoskopf, M.K. (1993): *Fish Medicine*. 1st ed. W.B. Saunders Co. Philadelphia, pp: 127-131.
13. Vars, H.M. (1934): Blood studies on fish and turtles. *J. Biol. Chem.*, 105: 135-137.
14. Weinreb, E.H. and Weinreb, S.A. (1969): Study of experimentally induced endocytosis in a teleost. I. Light microscopy peripheral blood cell response. *Zool. N.Y.*, 54: 25-34.

### Evaluation of hematological parameters in experimental intoxication with trichlorofen in the silver carp

Nazifi, S.<sup>1</sup>, Firozbakhsh, F.<sup>2</sup>, Ghazizadeh, M.<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz - Iran. <sup>2</sup>Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar Kerman University, Kerman - Iran. <sup>3</sup>Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar Kerman University, Kerman - Iran.

To evaluate the effects of intoxication with trichlorofen on

با تری کلروفن است. در این پژوهش، در اثر مسمومیت با تری کلروفن، هتروفیلی، لنفوسیت و منوسیتوپنی مشاهده شد. علت اصلی لنفوسیتوپنی و منوسیتوپنی را می توان استرس ناشی از مسمومیت و آزاد شدن گلوکوکورتیکوئیدها دانست (۹، ۴، ۲). در این حالت هتروفیل ها بالغ بوده و هیچ نشانه ای از انحراف به چپ دیده نشد. هتروفیلی ناشی از کاهش مهاجرت هتروفیل ها از خون به بافت، تسریع خروج هتروفیل ها از اندامهای خونساز ماهی (کلیه، طحال و ...) به گردش خون و جابه جایی هتروفیل های حاشیه رگهای خونی به گردش خون می باشد. به دنبال استرس، هورمونهای بخش قشری غده فوق کلیوی آزاد شده و با متوقف کردن تقسیم میتوزی لنفوسیت ها و متلاشی کردن آنها و آتروفی گره های لنفاوی سبب لنفوسیتوپنی می شوند. همچنین گلوکوکورتیکوئیدها با تغییر در گردش مجدد لنفوسیت ها، آنها را بیشتر در گره های لنفاوی نگهداشته و کمتر وارد خون می سازند در نتیجه لنفوسیتوپنی رخ می دهد (۱۴، ۷، ۱). اثر مالاتیون بر پارامترهای خونی گربه ماهیان مورد بررسی قرار گرفته است. مالاتیون، تعداد لنفوسیت های T را کاهش می دهد (۱۳) منوسیتوپنی حاصله در اثر عملکرد گلوکوکورتیکوئیدها بر منوسیت های حاشیه رگهای خونی است. در نتیجه با کاهش جابه جایی منوسیت های حاشیه رگهای خونی به درون گردش خون منوسیتوپنی رخ می دهد (۴ و ۱)، گزارش شده است که در انتهای دوره استرس، منوسیت های خون افزایش می یابند (۱۰).

کاهش تعداد گلبولهای سفید خون (لکوسیتوپنی) می تواند ناشی از توکسمی و اثر مخرب سم تری کلروفن باشد. این حالت در سایر دامها نیز رخ می دهد. عموماً در دامهای اهلی در اثر توکسمی و اندوتوکسمی، لکوسیتوپنی رخ می دهد (۴ و ۲).

کاهش تعداد گلبولهای قرمز، غلظت هموگلوبین و میزان هماتوکریت، همگی از نشانه های کم خونی در اثر مسمومیت با تری کلروفن هستند. این کم خونی بیشتر به دلیل اثر سم تری کلروفن بر روی کبد و تا حدودی کلیه می باشد (۴ و ۲). کبد عضو اصلی سم زدایی داروها و سموم است. در آزمایش هیستوپاتولوژی، نکرور مشخص سلولهای کبدی دیده شد. با توجه به آسیبهای کلیوی مشاهده شده در آزمایش هیستوپاتولوژی و کاهش اریتروپوئین کلیوی می توان بروز کم خونی را ناشی از این نکته نیز دانست (۴). متلاشی شدن و تخریب گلبولهای قرمز نیز از دیگر عوامل بروز کم خونی در این مسمومیت می باشد. کم خونی حاصله از نوع نورموسیتیک - نورموکرومیک است. چون شاخصهای گلبولی تغییر معنی داری نشان ندادند (۴ و ۲). کم خونی حاصله را می توان ناشی از آسیب کبدی، کلیوی و همولیز دانست اگرچه تخریب گلبولهای قرمز و تا حدودی آسیب کبدی عوامل مؤثرتری برای ایجاد کم خونی هستند (۴، ۲، ۱). در پژوهشی اثرات تراکلور کربن بر پارامترهای خونی گربه ماهیان به صورت کاهش تعداد گلبولهای قرمز، میزان هموگلوبین و هماتوکریت دیده شد. نتایج حاصله مشابه نتایج پژوهش حاضر بود (۱۱).

در مجموع مشخص گردید که تری کلروفن در دوز ۱ ppm اثرات قابل توجهی بر پارامترهای هماتولوژیک خون ماهی کپور نقره ای دارد.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله از زحمات و همکاریهای ارزشمند سرکار خانمها فرش نشانی و خرم نیا کارشناسان محترم آزمایشگاه گروه علوم در مانگامی و منشی محترم گروه علوم در مانگامی دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز سرکار خانم شریف پور صمیمانه تشکر و قدردانی می شود.

### References

1. Campbell, T.W. (1988): *Tropical Fish Medicine. Fish Cytology and Hematology*. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.* 18: 364-374.



hematological parameters, an experiment was conducted with 60 silver carp. All the fishes were divided to 3 different groups: Control group (12), intoxicated group with 0.25ppm of trichlorofen (24) and intoxicated group with 1ppm of trichlorofen (24). Blood samples were collected before the administration of trichlorofen for obtaining control values. Following the administration of trichlorofen, blood samples were collected 5 times at 0, 12, 24, 36 and 48 hours post administration. Following the intoxication with 0.25ppm of trichlorofen, there was no significant difference in any of the hematological parameters. After the intoxication with 1ppm of trichlorofen, the percentage of heterophils and degenerated leukocytes significantly increased ( $P<0.05$ ). However, erythrocyte counts, hemoglobin concentration, hematocrit, leukocyte counts and the percentage of lymphocytes and monocytes significantly decreased ( $P<0.05$ ). Following the intoxication with 0.25ppm and 1ppm of trichlorofen, in different times of post intoxication, there was no significant difference in any of the hematological parameters, except in the percentage of degenerated leukocytes. No significant interaction was observed between dose and different time of post intoxication with trichlorofen. This study showed that intoxication with trichlorofen can have profound effects on hematological parameters of silver carp.

**Key words :** trichlorofen intoxication, Hematological parameters, Sliver carp.

