

تغییرات تابلوی خونی گوساله‌های هلشتاین در پاسخ به التهاب حاد ناشی از کلی‌سپتی‌سمی تجربی

محمد رضا مخبردزفولی^۱، صمد لطفاله‌زاده^۲، معصومه حیدری‌سورشجانی^{۳*}، زهره افتخاری^۴، مهدی عرب‌یارمحمدی^۵ و میثم جانی^۵

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۵

تاریخ پذیرش: ۹۶/۸/۶

چکیده

کلی‌سپتی‌سمی یک بیماری کشنده‌ی حاد در نوزادان دام‌های مزرعه است که عمدتاً در سنین کمتر از ۲ هفته و بیش‌تر در گوساله‌های با نقص در انتقال ایمنی غیرفعال روی می‌دهد و خسارات سنگینی به صنعت دامپروری وارد می‌سازد. علائم اولیه سپتی‌سمی غیراختصاصی است و نمی‌توان آن‌ها را از نشانه‌های بیماری‌های غیر عفونی یا بیماری‌های با عفونت موضعی مثل اسهال تفریق نمود. تابلو خونی یک ابزار آزمایشگاهی کلیدی برای ارزیابی نوزادان بیمار مشکوک به سپتی‌سمی است که در کنار معاینه‌ی فیزیکی، اطلاعات تشخیصی با ارزشی را برای کلینیسین فراهم می‌آورد. در این مطالعه با استفاده از سویه *O111:H8* باکتری *اشریشیاکلی* در ۱۰ گوساله‌ی نر هلشتاین با وزن 50 ± 5 کیلوگرم و سن ۲۰ روز، کلی‌سپتی‌سمی تجربی ایجاد شد. بدین منظور ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری در سرم فیزیولوژی، حاوی 1×10^9 cfu، به شکل داخل وریدی به هر گوساله تزریق شد تغییرات تابلو خونی آن‌ها از ۲۴ ساعت قبل از تزریق باکتری تا ۲۴ ساعت پس از آن بررسی گردید. با شروع سپتی‌سمی، لوکوپنی، نوتروپنی، لنفوپنی، ائوزینوفیلی، ترومبوسیتوپنی و افزایش هماتوکریت، حجم متوسط گلبول قرمز (MCV)، متوسط هموگلوبین در هر گلبول قرمز (MCH) و هموگلوبین و کاهش تعداد گلبول‌های قرمز رخ داد که از نظر آماری معنی‌داری بود ($P < 0.05$). تغییرات غلظت متوسط هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCHC) و سطح فیبرینوژن و پروتئین تام پلاسما معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن از بیش‌تر از ۱۵ در ساعت صفر، به زیر ۱۰ در ساعت ۸، رسید. در نتیجه تغییرات سلول‌ها و پروتئین‌های خون در گوساله‌ها به پاسخ عمومی التهاب به دنبال کلی‌سپتی‌سمی تجربی نسبت داده شد. تفسیر تابلو خونی بر اساس مقادیر رفرانس مناسب با گونه، نژاد، سن، جنس و محیط می‌تواند در جهت تأیید یا رد بیماری و در نتیجه راهنمای درمان و تعیین پیش‌آگهی مفید باشد.

کلمات کلیدی: گوساله، کلی‌سپتی‌سمی، تابلو خونی، پروتئین خونی

مقدمه

2003, Mohri et al. 1999, Rezazadeh et al. 2004, (Smith 2015). مهم‌ترین عوامل سپتی‌سمی و یا باکتری می در نوزادان، باکتری‌های گرم منفی مثل *اشریشیاکلی* و *سالمونلاها* می‌باشند. عفونت‌های عمومی حاصل از *اشریشیاکلی* در گوساله‌ها، بره‌ها و طیور نسبتاً فراوان است

پرورش گوساله‌های سالم و با رشد سریع به منظور دستیابی به حداکثر تولید، از اهداف مهم در پرورش گاوهای شیری و گوشتی است. بیماری‌های عفونی، از جمله سپتی‌سمی از علل عمومی بیماری و مرگ و میر در دام‌های بالغ و نوزادان می‌باشد (Lotfollahzadeh et al.

^۱ استاد گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

^۲ دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

^{۳*} کارشناس تشخیص بیماری‌های دام، مرکز ملی تشخیص، آزمایشگاه‌های مرجع و مطالعات کاربردی سازمان دامپزشکی کشور، تهران

(نویسنده‌ی مسئول)

E-mail: Heidari_m90@ut.ac.ir

^۴ استادیار مجتمع تولیدی تحقیقاتی انستیتویاستور ایران، تهران

^۵ دانش‌آموخته‌ی دکترای حرفه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران

عروق و فعال‌سازی آبخار انعقادی می‌گردد که همگی خون‌رسانی را به بسیاری از ارگان‌های حیاتی بدن کاهش داده و به آسیب برگشت‌ناپذیر ارگان و متعاقباً مرگ منتهی می‌گردد. در سپتی‌سمی شدید انعقاد داخل عروقی منتشر متداول است (Ballou et al. 2011, Radostits et al. 2007).

تشخیص بیماری در بخش قابل ملاحظه‌ای از موارد بر پایه‌ی علائم بالینی است اما همچنان کشت خون به عنوان آزمایشی برای تأیید تشخیص سپتی‌سمی اهمیت دارد (Radostits et al. 2007, Thomas et al. 2004). سپتی‌سمی کلی‌باسیلی روندی سریع دارد، و علائم اولیه‌ی سپتی‌سمی مبهم و غیراختصاصی است و چون باید سریعاً در برابر سپتی‌سمی اقدام نمود، عده‌ی زیادی از کلینیسین‌ها قبل از تشخیص قطعی اقدام به درمان ضدباکتریایی می‌کنند (Nouri and Rasooli 2011, Radostits et al. 2007). اهداف تشخیصی، تعیین پیش‌آگهی و درمان، اغلب نیازمند همراهی معاینه‌ی بالینی با تست‌های آزمایشگاهی کمکی است. تابلوی خونی یک ابزار کلیدی در ارزیابی بیمار برای تأیید یا رد بیماری و در نتیجه راهنمای درمان و تعیین پیش‌آگهی می‌باشد (Benesi et al. 2012). به هر حال تشخیص قطعی سپتی‌سمی و باکتری‌می، به کشت خون بستگی دارد (Nouri and Rasooli 2011).

تفسیر دقیق تابلوی خونی نیازمند طیف‌های رفرانس است که برای فاکتورهای گونه، نژاد، سن و جنس و محیط و آب و هوا معتبر باشد، با این حال، مطالعات اندکی از این طیف‌ها برای نوزادان گاوسانان انجام شده است (Smith 2015). تحقیقات در مورد تغییرات هماتولوژیک در این بیماری‌ها، ضروری است و باعث کاهش چشم‌گیر خسارات اقتصادی مرتبط با مرگ گوساله‌ها و به ویژه گاوهای ماده‌ای شود که ویژگی‌های خوب تولید شیر و ارزش ژنتیکی بالا دارند. بدین منظور مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی تغییرات تابلوی خونی در

و اثرشیاکلی بیش‌ترین جرم جدا شده از جریان خون گوساله‌ها، بره‌ها و کره اسبان مبتلا به این عارضه می‌باشد (Mohri et al. 1999, Nouri and Rasooli 2011, Rezazadeh et al. 2004, Smith 2015).

بیماری‌هایی که اغلب اوقات گوساله‌ها را درگیر می‌کنند عبارتند از اسهال، عفونت ناف، پنومونی و سپتی‌سمی که علاوه بر نشانه‌های بالینی اختصاصی می‌تواند باعث تغییراتی در تابلوی خونی گردد (Benesi et al. 2012). سپتی‌سمی در گوساله‌ها گاهی در سن ۱۰ تا ۱۲ هفتگی هم اتفاق می‌افتد. در این حالت حتی گوساله‌هایی که دارای ایمنی پاسیو کاملی نیز می‌باشند مبتلا می‌گردند (Lotfollahzadeh et al. 2003, Mohri et al. 1999, Nouri and Rasooli 2011).

کلی‌سپتی‌سمی در اثر باکتری‌های گرم منفی (عمدتاً) و گرم مثبت ایجاد می‌شود. اندوتوکسین (لیپو پلی ساکارید)، مانوز و قسمت گلیکوپروتئینی دیواره‌ی باکتری گرم منفی با ماکروفاژها اتصال برقرار می‌نماید و باعث بیان ژن‌های التهابی در آن‌ها می‌شود، که حاصل آن آزاد شدن سیتوکین‌ها و سایر واسطه‌های التهابی می‌باشد. افزایش نفوذپذیری عروق، دپرسیون عملکرد قلب و اختلال در اعمال متابولیسم بدن، از مهم‌ترین عواقب شوک سپتیک است که به هیپوولمی، هیپوتانسیون و نارسایی تنفسی منجر می‌گردد (Nouri and Rasooli 2011, Smith 2015). تظاهرات بالینی بیماری نتیجه‌ی اثر پانوزن‌ها بر مونوسیت‌ها و لنفوسیت‌ها است که سندروم پاسخ التهابی سیستمیک را به راه می‌اندازند. در گوساله‌ها و کره اسب‌های نوزاد فاکتور نکروز دهنده‌ی تومور آلفا ($TNF-\alpha$) با سپتی‌سمی بالینی مرتبط است و غلظت پلاسمایی آن با شدت نشانه‌های بالینی ارتباط دارد (Nouri and Rasooli 2011, Radostits et al. 2007).

آزادسازی سیستمیک واسطه‌های پیش‌التهابی همچون $TNF-\alpha$ و اینترلوکین-۶ (IL-6) در پاسخ به ایمونوزن‌های مشتق از باکتری باعث اتساع عروقی، افزایش نفوذپذیری

جریان التهاب حاد ناشی از کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله‌های نوزاد طراحی و انجام گردید.

مواد و روش کار

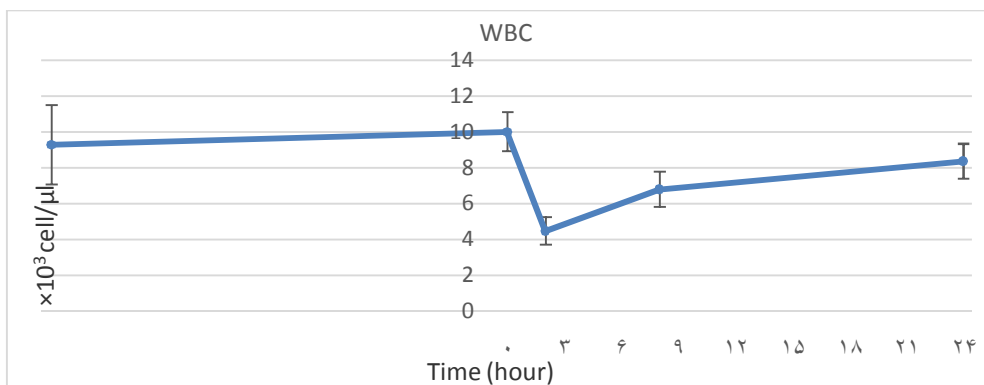
تعداد ۱۰ رأس گوساله نوزاد سالم نر نژاد هلشتاین با وزن متوسط 50 ± 5 کیلوگرم و سن متوسط 10 ± 1 روز که در بدو تولد میزان کافی آغوز دریافت نموده بودند (هر یک از گوساله‌ها به میزان ۱۰ درصد وزن بدن در ۶ ساعت ابتدایی تولد آغوز) از یکی از دامپروری‌های صنعتی شیری اطراف تهران با ظرفیت ۲۰۰۰ رأس گاو شیری دوشا که دارای شرایط مدیریتی و بهداشتی مناسبی بود، خریداری گردید. احراز شرایط سلامت گوساله‌ها بر اساس معاینات بالینی (اخذ درجه‌ی حرارت، ضربان قلب و تنفس دام‌ها) و بررسی نمونه‌ی خون وریدی به اثبات رسید. گوساله‌ها به منظور طی دوره‌ی سازگاری، به مدت ۱۰ روز پیش از القای سپتی‌سمی در بخش داخلی دام‌های بزرگ بیمارستان آموزشی-پژوهشی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران و در باکس‌های انفرادی فلزی نگهداری شدند. در طی دوره‌ی سازگاری بستر گوساله‌ها روزانه تعویض و تمام ظروف غذا خوری و آبخوری و کل سالن شستشو شد. گوساله‌ها روزانه ۲ وعده شیر کامل (در مجموع روزانه ۴ لیتر) دریافت می‌کردند و به طور دائم نیز به آب و کنسانتره (با ترکیب: ۴۰ درصد جو، ۲۰ درصد ذرت، ۱۹ درصد سبوس، ۱۸ درصد سویا، ۱/۵ درصد مواد معدنی و ۱/۵ درصد مکمل ویتامینی) دسترسی داشتند. برای ایجاد تجربی سپتی‌سمی از باکتری *اشرشیاکلی سویه O₁₁₁:H₈* که در دسترس بود، استفاده شد. این باکتری به سرعت فاگوسیتوز شده و با انفجار اکسیداتیو در سلول با آن مقابله می‌شود (Hulbert et al. 2011). این سویه از نظر بیان ژن‌های Intimin و Shiga-like toxin (STX) کنترل شد. بر اساس مطالعات گذشته، به هر یک از گوساله‌ها، ۵ میلی‌لیتر از سوسپانسیون باکتری، در سرم فیزیولوژی،

حاوی $10^9 \times 1/5$ cfu به شکل داخل وریدی تزریق شد (Ballou et al. 2011).

به منظور بررسی تغییرات خونی گوساله‌ها در جریان سپتی‌سمی تجربی، در ساعت‌های ۰-۲۴، ۲، ۸ و ۲۴ خون‌گیری از ورید وداج خون‌گیری انجام و در دو لوله دارای ضدانعقاد EDTA و بدون ضدانعقاد جمع‌آوری شد. کشت خون در ساعات صفر (قبل از تزریق باکتری)، ساعت ۸، ۱۵ و ۲۴ پس از تزریق باکتری انجام و محیط-های کشت دوفازی بلافاصله در انکوباتور ۳۷ درجه قرار داده شد. پس از ۲۴ ساعت، از محیط کشت دو فازی بر روی محیط مک‌کانکی و بلاگ آگار کشت داده شد و به مدت ۲۴ ساعت در ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت. پس از طی این مدت همه‌ی پرگنه‌های تشکیل شده در روی محیط مک‌کانکی بررسی شده و در صورت وجود پرگنه بی‌رنگ، عمل خالص‌سازی در مورد پرگنه‌ی مشکوک انجام شد. برای انتخاب آنتی‌بیوتیک مناسب جهت درمان سپتی‌سمی، آزمایش آنتی‌بیوگرام (با آنتی‌بیوتیک‌های تریمتوپریم سولفامتوکسازول، سفتری‌فور و سفنازیدیم، نکومایسین، سفالکسین و سیپروفلوکساسین مقاوم) به روش انتشاری بر روی باکتری انجام شد. آنالیز داده‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS و ویرایش 19.0 و از طریق تست داده‌های تکراری ANOVA انجام و سطح معنی‌داری ۰/۰۵ در نظر گرفته شد ($P < 0/05$).

نتایج

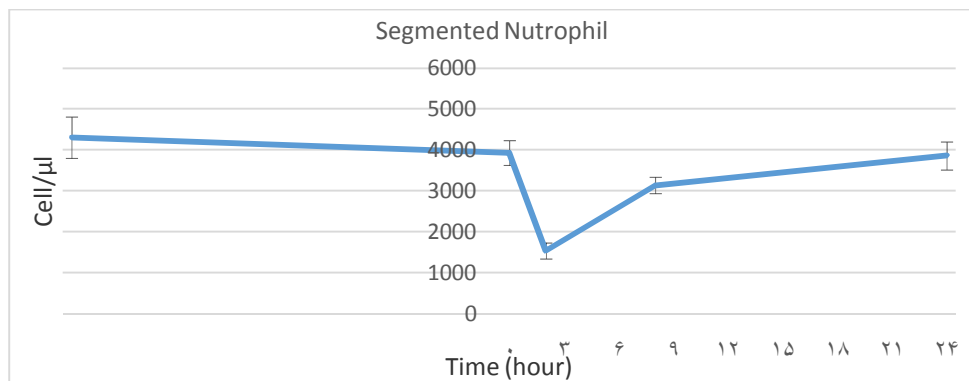
متوسط تعداد لوکوسیت‌ها با شروع سپتی‌سمی، در عرض ۲ ساعت به شدت کاهش یافت (شکل ۱) و از ۹۰۰۰ سلول به ۴۴۸۰ سلول در هر میکرولیتر رسید. تعداد لوکوسیت‌ها در ساعت ۸ کمی افزایش نشان داد (۶۸۰۰ سلول در هر میکرولیتر) و در ساعت ۲۴ مطالعه، ۸۳۷۰ سلول در هر میکرولیتر بود. روند تغییرات تعداد لوکوسیت‌ها از پیش از ایجاد سپتی‌سمی تا ۲۴ ساعت پس از آن معنی‌دار بود ($P = 0/002$).



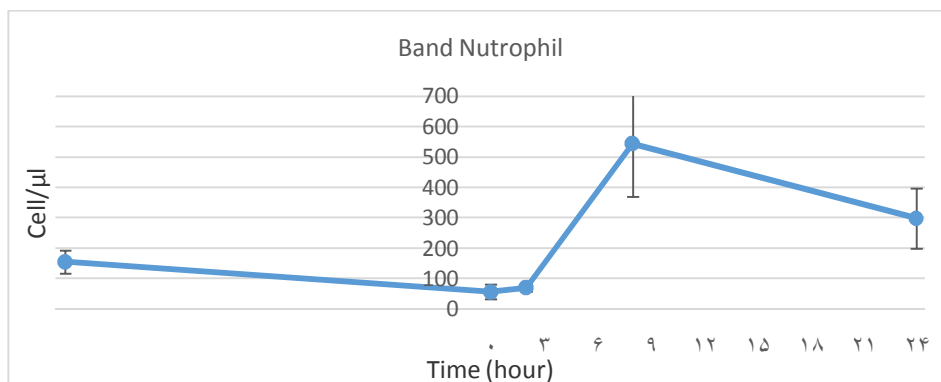
شکل ۱: تغییرات تعداد لوکوسیت‌های خون در کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله

تعداد مطلق نوتروفیل‌ها در شمارش تفریقی نمونه‌ی خون ساعت صفر، ۴۰۰۰ سلول در میکرولیتر بود که در ساعت ۲ به ۱۵۰۰ تنزل کرد و پس از آن در ساعت ۸ تعداد ۳۱۳۵ سلول در میکرولیتر شمارش شد و به تدریج تا پایان مطالعه به مقدار اولیه برگشت. این تغییرات در زمان‌های نمونه‌گیری معنی‌دار بود ($P=0/001$). تعداد نوتروفیل‌های باند خون نیز به طور معنی‌داری تغییر کرد (نشان داده شده است).

تعداد مطلق نوتروفیل‌ها در شمارش تفریقی نمونه‌ی خون ساعت صفر، ۴۰۰۰ سلول در میکرولیتر بود که در ساعت ۲ به ۱۵۰۰ تنزل کرد و پس از آن در ساعت ۸ تعداد ۳۱۳۵ سلول در میکرولیتر شمارش شد و به تدریج تا پایان مطالعه به مقدار اولیه برگشت. این تغییرات در زمان‌های نمونه‌گیری معنی‌دار بود ($P=0/001$). تعداد نوتروفیل‌های باند خون نیز به طور معنی‌داری تغییر کرد (نشان داده شده است).



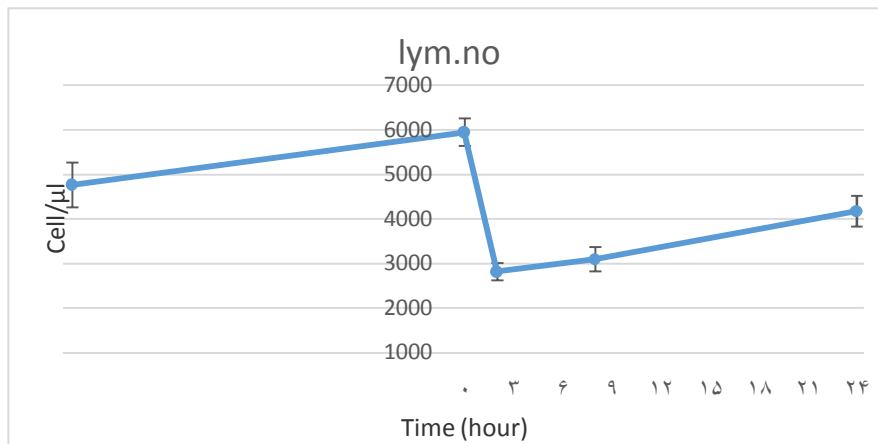
شکل ۲: تغییرات تعداد نوتروفیل‌های بالغ خون در کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله



شکل ۳: تغییرات تعداد نوتروفیل‌های باند خون در کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله

سلول). پس از افت شدید تعداد مطلق لنفوسیت در ساعت ۲، افزایشی با شیب ملایم در تعداد آن‌ها دیده شد و در ساعت ۲۴، تعداد ۴۲۰۰ لنفوسیت در میکرولیتر خون شمارش شد (شکل ۴). در کل تغییرات لنفوسیت‌ها طی سیتی‌سمی تجربی معنی‌دار بود ($P=0/001$). تغییرات نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در ساعات مختلف در جدول ۱ آمده است.

در شمارش تفریقی لوکوسیت‌ها، لنفوسیت‌ها در ساعت تزریق باکتری به گوساله‌ها ۵۹ درصد لوکوسیت‌ها را تشکیل می‌دادند در حالی که درصد لنفوسیت‌ها در ساعت ۸ مطالعه به ۴۵ درصد افت کرد. در ساعت ۲ پس از تزریق باکتری، با وجود افزایش خفیف درصد لنفوسیت‌ها (تقریباً ۳ درصد)، تعداد مطلق آن‌ها به کم‌تر از نصف کاهش پیدا کرد (از مقدار تقریبی ۶۰۰۰ به ۲۸۰۰



شکل ۴: تغییرات تعداد لنفوسیت‌های خون در کلی‌سیتی‌سمی تجربی در گوساله

این مطالعه تغییرات معنی‌داری را نشان دادند ($P=0/002$). تغییرات تعداد پلاکت‌ها نیز در این مطالعه از نظر آماری معنی‌دار بود ($P<0/001$). تعداد پلاکت‌ها با شروع سیتی‌سمی از ۵۹۱۴۴۰ در ساعت صفر به سرعت کاهش یافت و در ساعت ۲ به ۴۴۲۰۰۰ رسید. این روند کاهش با شیب ملایم‌تری تا ساعت ۸ ادامه داشت (۴۱۵۵۶۰ پلاکت در هر میکرولیتر). در پایان مطالعه (ساعت ۲۴) تعداد پلاکت‌های خون ۴۶۷۷۸۰ در هر میکرولیتر بود.

با استفاده از آزمون آنالیز داده‌های تکراری، روند تغییرات مونوسیت در زمان‌های اندازه‌گیری شده (از ۲۴ ساعت قبل تا ساعت ۲۴ پس از ایجاد سیتی‌سمی تجربی) معنی‌دار نبود ($P=0/136$). اما تعداد ائوزینوفیل‌ها از زمان ایجاد سیتی‌سمی تجربی به سرعت افزایش یافته و در ساعت ۲ مطالعه به ۵۰ سلول در هر میکرولیتر رسید. این روند با افت شدید در ساعت ۸ دنبال شد (۷/۴۸ سلول) و میانگین تعداد ائوزینوفیل‌ها در پایان مطالعه ۱۸/۴۱ سلول در هر میکرولیتر بود. در مجموع سلول‌های ائوزینوفیل در

جدول ۱: نسبت نوتروفیل به لنفوسیت و نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن در سیتی‌سمی تجربی با اشریشیاکلی

ساعت ۲۴	ساعت ۸	ساعت ۲	ساعت صفر	ساعت -۲۴	
۱ : ۱/۰۸	۱/۰۱ : ۱	۱ : ۱/۸۳	۱ : ۱/۵۱	۱ : ۱/۱	نسبت نوتروفیل به لنفوسیت (N:L)
۱۰/۸۱	۹/۰۰	۱۱/۶۸	۱۵/۵۲	۱۳/۷۵	نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن

و پس از آن نیز بالا نرفت. با استفاده از آزمون‌های آماری، روند تغییرات پروتئین تام معنی‌دار نبود ($P > 0.05$). مقدار فیبرینوژن و پروتئین تام سرم با وجود کاهش مقدار آن از نظر آماری معنی‌دار مشاهده نشد ($P > 0.05$). تغییر مقدار پروتئین تام و فیبرینوژن خون در خلال سپتی‌سمی و نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن به ترتیب در شکل‌های ۵ و ۶ و در جدول ۱ آمده است. تغییرات گلول‌های قرمز و شاخص‌های آن و نیز فیبرینوژن و پروتئین تام در جدول ۲ آمده است.

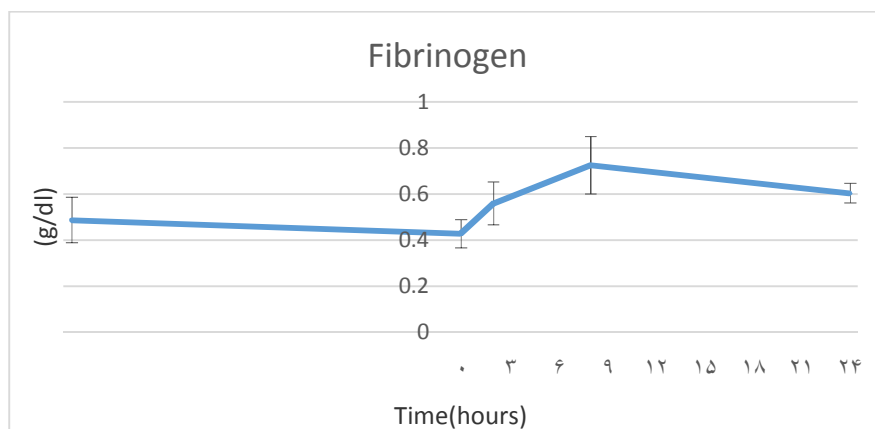
درصد هماتوکریت، مقدار هموگلوبین و MCH از ساعت صفر تا پایان مطالعه تغییرات معنی‌داری داشتند ($P < 0.001$). تعداد گلول‌های قرمز خون نیز با پیشرفت سپتی‌سمی کاهش یافت و روند تغییرات معنی‌دار بود ($P = 0.002$). با استفاده از آزمون آنالیز داده‌های تکراری، روند تغییرات MCV نیز در زمان‌های اندازه‌گیری شده معنی‌دار گزارش گردید ($P < 0.005$) اما روند تغییرات MCHC معنی‌دار نبود ($P > 0.005$). در این مطالعه پروتئین تام سرم از ساعت صفر تا ساعت ۲ کاهش یافت

جدول ۲: تغییرات گلول‌های قرمز، شاخص‌های آن، فیبرینوژن و پروتئین تام در سپتی‌سمی تجربی با اشریشیاکلی

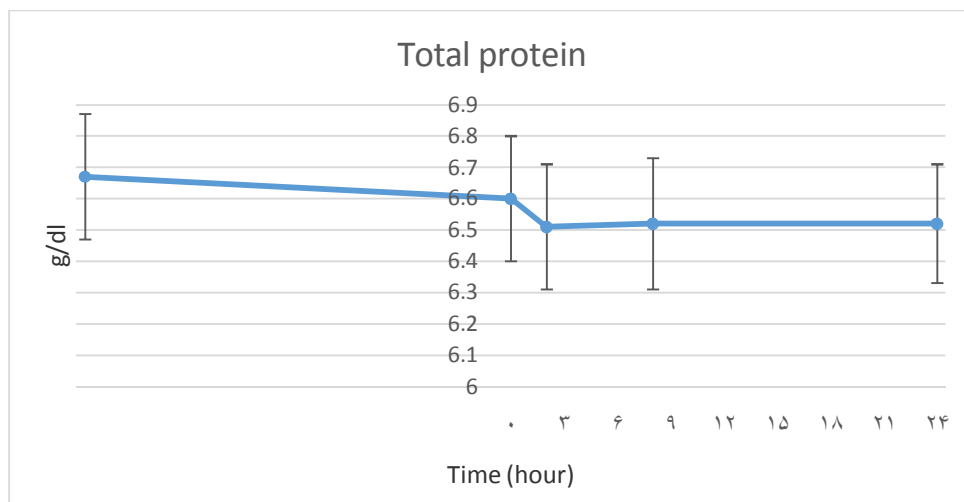
	فیبرینوژن (g/dl)	پروتئین تام (g/dl)	RBC (m μ l)	Hb (g/dl)	PCV (%)	MCV(fl)	MCH(pg)	MCHC(g/dl)
ساعت -۲۴	۰/۴۸۶±۰/۰۹۹	۶/۶۷±۰/۲۰	۷/۸۱±۰/۲۹	۸/۸۴±۰/۴۵	۲۹/۶۶±۱/۴۹	۳۷/۷۸±۱/۰۵	۱۱/۲۶±۰/۳۳	۳۰/۹۳±۱/۱۲
ساعت صفر	۰/۴۲۶±۰/۰۶۱	۶/۶۰±۰/۲۰	۷/۷۹±۰/۲۹	۸/۷۳±۰/۴۴	۲۹/۶۶±۱/۴۰	۳۷/۵۶±۰/۹۶	۱۱/۱۸±۰/۳۴	۲۹/۶۲±۰/۲۱
ساعت ۲	۰/۵۵۸±۰/۰۹۳	۶/۵۱±۰/۲۰	۷/۸۲±۰/۲۹	۸/۷۸±۰/۴۵	۲۹/۵۳±۱/۴۷	۳۷/۶۷±۰/۹۳	۱۱/۱۸±۰/۳۴	۲۹/۵۸±۰/۳۷
ساعت ۸	۰/۷۲۴±۰/۱۲۴	۶/۵۲±۰/۲۱	۷/۷۸±۰/۲۷	۸/۶۸±۰/۴۱	۲۹/۰۱±۱/۳۹	۳۷/۱۱±۱/۰۱	۱۱/۱۶±۰/۳۱	۲۹/۹۷±۰/۲۱
ساعت ۲۴	۰/۶۰۳±۰/۰۴۳	۶/۵۲±۰/۱۹	۷/۶۰±۰/۲۸	۸/۳۶±۰/۳۹	۲۸/۴۱±۱/۳۰	۲۰/۲۶±۵/۲۱	۱۰/۹۹±۰/۳۱	۲۹/۴۱±۰/۲۳

کشت خون در ساعت‌های صفر، ۸، ۱۵ و ۲۴ پس از ایجاد سپتی‌سمی تجربی مثبت شد. باکتری رشد کرده در محیط کشت برای تمام زمان‌ها، در سروتایپینگ، باکتری اشریشیاکلی سویه O111:H8 تشخیص داده شد.

در آزمایش آنتی‌بیوگرام، باکتری O111:H8 به آنتی‌بیوتیک‌های تریمتوپریم سولفامتوکسازول، سفتری‌فور و سفنازیدیم حساس و به آنتی‌بیوتیک‌های ونکومایسین، سفالکسین و سیپروفلوکساسین مقاوم بود. در نهایت آنتی‌بیوتیک سفنازیدیم برای این مطالعه انتخاب شد.



شکل ۵: تغییرات مقدار فیبرینوژن خون در کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله



شکل ۶: تغییرات مقدار پروتئین تام خون در کلی‌سپتی‌سمی تجربی در گوساله

بحث

ی حاضر لوکوپنی ناشی از کاهش شدید و همزمان جمعیت نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها بود. سپتی‌سمی با پاتوژن‌های دیگر نیز نتایج مشابهی در برداشته است. تلقیح پاستورولا مالتوسیدای زنده به گوساله سالم توانست هماتوکریت و تعداد لوکوسیت‌ها را (به شکل لوکوپنی) به طور معنی‌دار تغییر دهد (Abdullah et al. 2013). تلقیح مایکوپلازما مایکوئیدس زیرگونه مایکوئیدس (*Mycoplasma mycoides subsp. mycoides*) به بز باعث لوکوپنی و کاهش مشخص تعداد گرانولوسیت‌های پلی‌مورفونوکلئر شد (Rosendal 1981). در گوساله‌های مبتلا به اسهال حاد و مشکوک به سپتی‌سمی که دچار نارسایی در انتقال ایمنی غیرفعال بودند، عوارضی چون اسیدوز متابولیک و افزایش لوکوسیت‌ها به طور چشم‌گیری بیش‌تر از گوساله سالم بود (Basoglu et al. 2014). این امر در بره‌های دارای عفونت روده‌ای با اشیریشیاکلی که با کلی‌سپتی‌سمی همراه بودند، نیز صادق است (Hassan et al. 2013).

شواهدی وجود دارد که سپتی‌سمی نه تنها بر سیستم ایمنی بدن اثر می‌گذارد، بلکه بر سیستم انعقادی بدن و دستگاه عصبی خودمختار نیز اثرگذار است (Chen et al. 2012). وقوع سپتی‌سمی حاد با ایجاد استرس همراه

در سپتی‌سمی اختلالاتی در پارامترهای خونی اتفاق می‌افتد که با شدت بیماری در ارتباط است (Nouri and Rasooli 2011, Sharma 2012, Thomas 2004). تعداد مطلق لوکوسیت‌ها و نیز شمارش تفریقی آن‌ها در گوساله‌ی نوزاد، در مقایسه با بالغین متفاوت است و تا یک ماهگی تغییرات قابل ملاحظه‌ای در تابلو خونی آن‌ها مشاهده می‌گردد (Benesi et al. 2012). در مطالعه‌ی حاضر در ساعت ۲ پس از ایجاد سپتی‌سمی، افت شدیدی در تعداد لوکوسیت‌ها مشاهده شد و پس از ساعت ۲، دوباره تعداد لوکوسیت‌ها افزایش یافت ولی تا ۲۴ ساعت پس از ایجاد سپتی‌سمی نیز به مقدار اولیه برنگشت. کاهش تعداد لوکوسیت‌ها و حتی زمان آن با مطالعه‌ی Balloue و همکاران در سال ۲۰۱۱ هماهنگی کامل دارد. در مطالعه‌ی مذکور نیز، گوساله‌هایی که دوز باکتری مشابه را دریافت کرده بودند، در عرض ۲ ساعت لوکوپنی حاد را نشان دادند در حالی که گوساله‌های دریافت کننده-ی دوز پایین‌تر باکتری تنها در ساعت ۱۲ و ۴۸ پس از ایجاد سپتی‌سمی تجربی، لوکوپنی خفیف داشتند. محققین با لیگاتور زدن سکوم در رت، سپتی‌سمی تجربی ایجاد کردند که با کاهش لنفوسیت‌ها منجر به لوکوپنی معنی‌دار در ۲۴ ساعت اول شد (Xiao et al. 2006)، اما در مطالعه-

ماندند، یک پاسخ لوکوسیتی دو فازی همراه با لوکوسیتوز را در ۲۴ ساعت پس از تجویز اندوتوکسین تجربه کردند که مشابه با یافته‌های مطالعه‌ی حاضر است (Tennant et al. 1975).

بنابراین در هنگام ارزیابی تعداد لوکوسیت‌های خون، بسته به پیشرفت عفونت یا سپتی‌سمی، یک کاهش یا افزایش لوکوسیت‌ها ممکن است وجود داشته باشد (Georgieva et al. 2008, Jafarzadeh et al. 2004). التهاب می‌تواند باعث کاهش، تغییر شکل، تجمع و افزایش چسبندگی سلول‌های لوکوسیت به سلول‌های اندوتلیال شود که در نهایت به مسدود شدن مویرگ‌ها و ایسکمی ارگان یا بافت منجر می‌گردد.

نوتروفیل‌ها در بدو تولد گوساله‌ها و بره‌های نوزاد غالب بوده و تا یک هفته پس از تولد نیز ادامه دارد (Benesi et al. 2013, Smith 2015). در مطالعه‌ی حاضر ۲ ساعت پس از تزریق باکتری، تعداد نوتروفیل‌ها کاهش و سپس در ساعت ۸ مطالعه مجدداً افزایش یافت. در مطالعه‌ی Ballou و همکاران، گوساله‌های دریافت کننده‌ی باکتری اشریشیاکلی با دوز $10^6 \times 1/5$ cfu در ساعت ۴ دچار کاهش درصد نوتروفیل محیطی شدند. اما در گوساله‌های دریافت کننده‌ی $10^9 \times 1/5$ cfu باکتری، و در ساعت ۱۲، درصد نوتروفیل‌ها افزایش یافت. در مدل تجربی سپتی‌سمی در رت‌ها، تعداد نوتروفیل‌ها در حیواناتی که از این عارضه تلف شده بودند بیش‌تر از حیوانات زنده مانده بود (Xiao et al. 2006). عفونت تجربی بز با مایکوپلازما مایکوئیدس نیز کاهش مشخصی در تعداد گرانولوسیت‌های پلی‌مورفونوکلر را به دنبال داشت (Rosendal 1981). نتایج مطالعه‌ی حاضر نشان می‌دهد تعداد نوتروفیل پس از ساعت ۲ افزایش یافت و در پایان مطالعه به مقدار اولیه‌ی خود بازگشت.

متداولترین عامل نوتروفیلی در دام‌های بزرگ عفونت باکتریایی است (Radostits et al. 2007, Smith 2015). اما تعداد طبیعی نوتروفیل‌ها وجود یک بیماری عفونی یا

است زیرا دستگاه عصبی خودمختار که مسئول حفظ اعمال فیزیولوژیک در محیط داخلی بدن است، متأثر شده و میانجی‌گرهای هورمونی-عصبی این محور تغییراتی را در بدن اعمال می‌کنند. به هنگام واکنش‌های التهابی، دستگاه عصبی اتونومیک و سیستم ایمنی به طور نزدیکی با هم در ارتباط می‌باشند و اصلی‌ترین مسیر رابط بین آن‌ها محور هیپوتالاموس-هیپوفیز-آدرنرژیک و دستگاه عصبی اتونومیک است. سلول‌های ایمنی می‌توانند میانجی‌گرهای عصبی را تولید و ترشح کنند که سیگنال‌های شبکه‌ی عصبی-اندوکرین-ایمنی محسوب شده و به عنوان گیرنده‌های اختصاصی بیان می‌شوند (Chen et al. 2012). علت لوکوسیتوز در استرس‌ها، افزایش نوتروفیل‌ها و تحرک آن‌ها از ذخایر حاشیه‌نشینی به گردش خون است (Ramin et al. 2008). اما باید به خاطر داشت که در مواردی چون سپتی‌سمی، تابلوی خونی استرس یا کورتیکوئیدی به تابلوی خونی التهاب اضافه می‌شود (Smith 2015). کورتیزول با تأثیر بر سیستم ایمنی، تولید لنفوسیت جدید را کم و در کل ایمنی را کاهش می‌دهد. البته اثر استرس بر تابلوی خونی بسته به نوع استرس، مدت آن و نوع دام متفاوت است (Ramin et al. 2008). با این که حضور نوتروفیل‌های نابالغ نشان دهنده‌ی التهاب است، اما این احتمال وجود دارد که یک پاسخ فیزیولوژیک در گوساله‌های نوزاد باشد که سطوح سرمی کورتیزول همراه با زایمان افزایش می‌یابد (Benesi et al. 2012).

Tennant و همکاران در سال ۱۹۷۵، مقایسه‌ای را بین پاسخ لوکوسیتی گوساله‌های مبتلا به سپتی‌سمی با باکتری گرم منفی، گوساله‌های دارای عفونت غیرسپتیک و نیز گوساله‌های دارای اندوتوکسمی تجربی انجام دادند و چنین نتیجه‌گیری کردند که لوکوپنی حاد، پاسخ تابلوی خونی به اندوتوکسمی است که در عرض ۵ دقیقه تظاهر می‌یابد و اثر آن تا زمان مرگ در گوساله‌های تلف شده پایدار بود. اما گوساله‌هایی که ۱۲ ساعت یا بیش‌تر زنده

لنفوسیت‌های تیپیک که شامل لنفوسیت‌های بزرگ و کوچک می‌شود، بین زمان تولد و ۳ روزگی کم‌ترین تعداد را دارد که متعاقباً از روز ۸ تا ۹ افزایش معنی‌داری دارد و بین ۲۱ و ۲۵ روزگی به بیش‌ترین حد خود می‌رسند. بنابراین تعداد لنفوسیت‌های تیپیک مسئول اصلی تغییر در میانگین لنفوسیت‌های تام است (Benesi et al. 2012, Smith 2015). لنفوسیتوز به ویژه در اسب‌های جوان، یک پاسخ به اپی‌نفرین را نشان می‌دهد. در هر زمان تنها بخش کوچکی از لنفوسیت‌های حیوان در گردش خون حضور دارند، بنابراین تعداد لنفوسیت‌های خون محیطی منعکس‌کننده‌ی فعالیت لنفوییدی تام بدن نیست. تعداد متوسط لوکوسیت‌ها در ۶ ساعت اول پس از تولد، یک کاهش اندک را نشان می‌دهند در حالی که نوتروفیل‌ها غالب بوده و تعداد مطلق لنفوسیت‌ها در حداقل است. کاهش در تعداد مطلق ائوزینوفیل و مونوسیت‌ها نیز مورد توجه بوده و کم‌ترین آن برای ساعت ۱۲ پس از تولد ثبت گردیده است. پس از این ساعت، افزایش در تعداد تام نوتروفیل به خصوص نوتروفیل سگمانته و تعداد لنفوسیت و مونوسیت اتفاق می‌افتد. نسبت بالای نوتروفیل به لنفوسیت نیز در هنگام تولد مشاهده شد، کاهش یا برعکس شدن این نسبت در هفته‌ی اول زندگی به علت غالب بودن جمعیت لنفوسیتی است. در هفته‌ی اول حیات، حضور نوتروفیل‌های باند نیز در گردش خون گوساله‌ها توصیف شده است (Benesi et al. 2012). بررسی تابلوی خونی گوساله‌های هلشتاین سالم در ماه اول زندگی نشان می‌دهد که بیش‌ترین تعداد لوکوسیت‌ها (۹۳۰۵ در میکرولیتر)، نوتروفیل سگمانته (۶۵۵۱ در میکرولیتر) و نوتروفیل تام (۶۶۷۸ در میکرولیتر) در ۸ ساعت اول حیات جلب توجه می‌کند، اما نوتروفیل‌های باند بین ساعت ۹ و ۱۶ پس از تولد به اوج خود می‌رسد (۱۳۳ در میکرولیتر). بیش‌ترین تعداد لنفوسیت‌های تام (۴۹۹۲ در میکرولیتر) و لنفوسیت‌های تیپیک (۴۶۸۶ در میکرولیتر) بین ۲۱ و ۲۵ روزگی دیده می‌شود و

التهابی را رد نمی‌کند زیرا تعداد سلول‌های موجود در گردش خون همیشه بازتابی از میزان فعالیت بافتی نمی‌باشد. گاهی اوقات به دنبال نوتروپنی ناشی از التهاب، یک نوتروفیلی مشخص رخ می‌دهد (اثر Overshoot). سلول‌های دفاعی در پاسخ به نیاز بافت‌ها، از مغز استخوان آزاد می‌شوند. اما بر خلاف گونه‌های دیگر، این ظرفیت در گاوها محدود است، چون مغز استخوان گاوسانان ذخیره‌ی قابل توجهی از نوتروفیل بالغ ندارد. تغییرات مخازن نوتروفیل در گردش و حاشیه‌ای در پاسخ به واسطه‌های هورمونی می‌توانند منجر به تغییرات سریع در تعداد نوتروفیل‌های شمارش شده در تابلوی خونی شود (Smith 2015). نوتروپنی ناشی از تخلیه‌ی مغز استخوان اغلب در گونه‌های دام بزرگ به ویژه در گاو در خلال ۲۴ تا ۴۸ ساعت اول حمله‌ی التهابی حاد مشاهده می‌شود. وجود نوتروپنی بیش‌تر از ۳ تا ۴ روز، یک نشانه‌ی پیش‌آگهی‌دهنده‌ی ناخوشایند و نشان‌گر سرکوب مغز استخوان یا ناتوانی مغز استخوان در پاسخ به تقاضای افزایش یافته‌ی بافت‌ها است (Smith 2015). ممکن است برگشت نوتروفیلی رخ دهد و اغلب با یک انحراف به چپ معنی‌دار شامل میلویت‌ها و متامیلوسیت‌ها و نیز نوتروفیل‌های باند همراه شود. با فعالیت جبرانی مغز استخوان در جهت افزایش تقاضای بافت‌ها، تعداد نوتروفیل‌ها افزایش خواهد یافت و به این ترتیب انحراف به چپ برطرف می‌گردد (Smith 2015).

مطالعه‌ی تابلوی خونی گاوهای هلشتاین از حدود ۶۰ سال پیش تاکنون نشان می‌دهد که در طول زمان، متوسط تعداد نوتروفیل‌ها افزایش یافته در حالی که تعداد سایر لوکوسیت‌ها کم شده است. بررسی داده‌های آزمایشگاهی دیگر نیز مشاهده این یافته را در سایر نقاط جهان اثبات می‌کند، اما یک پدیده‌ی جهانی نیست و علت آن را انتخاب‌های ژنتیکی و تغییر در روش‌های مدیریتی می‌دانند (Smith 2015).

آن اندک است. کلاً ائوزینوفیل و بازوفیل در خون گوساله و گاو بالغ اندک است و حضور کورتیزول آن را به حد صفر می‌رساند (Benesi et al. 2012).

پلاکت‌ها جزئی از سیستم انعقادی هستند که در روند سپتی‌سمی دستخوش تغییر می‌شود (Chen et al. 2011). تعداد پلاکت‌های در گردش، در ساعت ۸ به کم‌ترین مقدار خود در گوساله‌های مشکوک به شوک سپتیک می‌رسد (Irmak et al. 2006). ترومبوسیتوپنی به وسیله‌ی یکی از سه مکانیسم زیر رخ می‌دهد: به دام افتادن پلاکت‌ها، کاهش تولید پلاکت‌ها و کاهش عمر پلاکت‌ها به خاطر مصرف یا تخریب آن‌ها. عمر پلاکت‌ها می‌تواند با تخریب پلاکت‌ها یا مصرف آن‌ها در روندهای گسترده انعقادی کاهش یابد. ترومبوسیتوپنی با واسطه ایمنی می‌تواند ایدیوپاتیک یا نتیجه ترومای شدید، بیماری‌های عفونی یا سایر بیماری‌های التهابی مثل سپتی‌سمی و نئوپلازی منتشر باشد (Smith 2015). کنار هم چیدن تغییرات پلاکت‌ها و اشکال مختلف درمان ضد پلاکتی برای مرحله‌ی سپسیس و نیز تعادل ایمنی می‌تواند رهیافتی نویدبخش برای افزایش اثر بخشی این درمان‌ها در آینده باشد (Ploppa et al. 2010).

روند تغییرات پروتئین تام پلازما در مطالعه‌ی حاضر معنی‌دار نبود. پروتئین تام سرم و فیبرینوژن در نوزادان آلیپاکا که در اثر سپتی‌سمی طبیعی تلف شده بودند، بیش‌تر از نوزادانی بود که پس از بیماری زنده مانده بودند، با این حال، این اختلاف از نظر آماری معنی‌دار نبود. فاکتورهایی مانند تولید پروتئین‌های التهابی حاد، وضعیت هیدراسیون، وضعیت حجم خون در گردش و کاتابولیسم، همگی در مقدار پروتئین تام نقش دارند و همین امر پروتئین تام را به یک شاخص غیرقابل اعتماد از غلظت ایمنوگلوبولین G در نوزادان بیمار آلیپاکا تبدیل کرده است (Dolente et al. 2007).

در یک مطالعه‌ی تجربی که خرگوش‌های سالم با باکتری اشریشیاکلی آلوده شده بودند، از روز هفتم

لنفوسیت‌های غیرتیپیک بین ۲۶ و ۳۰ روزگی به بیش‌ترین تعداد خود می‌رسد (۳۸۸ در میکرولیتر) که نشان‌دهنده‌ی برعکس شدن نسبت نوتروفیل به لنفوسیت در این مدت است (Benesi et al. 2012).

در مطالعه‌ی حاضر با شروع سپتی‌سمی (ساعت صفر) و کاهش هر دو نوع سلول لنفوسیت و نوتروفیل، نسبت نوتروفیل به لنفوسیت کاهش یافت، چرا که شدت کاهش لنفوسیت‌ها (در مخرج کسر) کم‌تر از کاهش تعداد نوتروفیل بود. در ادامه‌ی مطالعه، در ساعت ۸ با افزایش شدیدتر تعداد نوتروفیل‌ها (در صورت کسر) و در مقایسه با لنفوسیت‌ها (در مخرج کسر)، نسبت نوتروفیل به لنفوسیت افزایش یافت و به ۱:۱ بازگشت و تا پایان مطالعه نیز ثابت بود. کاهش شدید تعداد لنفوسیت‌ها در مطالعه‌ی حاضر می‌تواند ناشی از استرس باشد. تابلوی خونی کورتیکواستروئیدی نسبتاً در نشخوارکنندگان متداول است و تغییرات تابلوی خونی استرس اغلب به التهاب اضافه می‌شود (Smith 2015). ارزیابی نسبت نوتروفیل تام به لنفوسیت تام در سه روز اول پس از تولد حاکی از غالب بودن سلول‌های پلی‌مورفونوکلئار است و نشان می‌دهد که این نسبت در روز چهارم حیات عکس می‌شود. هر چند این عکس شدن پایدار نبود و پس از ۷ روزگی که جمعیت لنفوسیت‌ها غالب گشت، آشکار گردید (Benesi et al. 2012, Smith 2015).

در مطالعه‌ی حاضر به نظر می‌رسد کاهش ناگهانی در تعداد ائوزینوفیل‌ها پیامد استرس است چرا که ائوزینوپنی می‌تواند مشخصه‌ی پاسخ کورتیکواستروئیدی در اکثر گونه‌ها باشد، با این حال اغلب به علت صفر بودن آستانه پایینی در طیف‌های استاندارد گزارش شده، تشخیص ائوزینوپنی مشکل است (Smith 2015). علت ائوزینوپنی در استرس نیز توانایی کورتیزول در القای مهاجرت ائوزینوفیل‌ها به اندام‌های لنفوئیدی می‌باشد (Ramin et al. 2008). مطالعه‌ی Benesi و همکاران، تعداد متوسط ائوزینوفیل و بازوفیل بین تولد و ۳۰ روزگی کم و نوسان

عفونت باکتریایی آزاد می‌گردد و به اصطلاح پروتئین التهابی مثبت آهسته نامیده می‌شوند (Georgieva et al. 2008). از آن جایی که فیبرینوژن به دنبال دهیدراسیون نیز افزایش می‌یابد، برای بررسی دقیق‌تر، محاسبه نسبت پروتئین تام پلاسما به فیبرینوژن در هنگام افزایش فیبرینوژن پلاسما بسیار مفید است. نسبت بیش‌تر از ۱۵ به این معنی است که افزایش فیبرینوژن به علت دهیدراسیون بوده است اما نسبت کم‌تر از ۱۰ دلیلی بر هایپرفیبرینوژمی حقیقی بیمار و وجود التهاب است (Smith 2015). در مطالعه‌ی حاضر در اثر کلی‌باسیلوز تجربی در گوساله‌ها نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن پلاسما در ساعت صفر بیش‌تر از ۱۵ بود. با شروع سپتی‌سمی این نسبت به سرعت کاهش یافت و در ساعت ۸ مطالعه به ۹ رسید که نشان دهنده‌ی افزایش شدید مقدار فیبرینوژن پلاسما است. با این حال تغییرات پروتئین تام و فیبرینوژن پلاسما معنی‌دار نبود. به نظر می‌رسد برای استفاده از فیبرینوژن به عنوان یک فاکتور التهابی، حداقل ۸ ساعت برای تغییر در نسبت پروتئین تام به فیبرینوژن، زمان لازم است.

ارزیابی پروفایل انعقادی در گوساله‌های مشکوک به شوک سپتیک نشان داد که غلظت فیبرینوژن و تعداد لوکوسیت‌ها در گروه مبتلا به شوک سپتیک در مقایسه با گروه کنترل بیش‌تر بود (Irmak et al. 2006). افزایش سطح فیبرینوژن و پروتئین تام در سایر بیماری‌های گاو نیز گزارش شده است (Jafarzadeh et al. 2004). برخی مطالعات نشان می‌دهند که گوساله‌های دارای اسهال حاد و مشکوک به سپتی‌سمی، در مقایسه با گوساله‌های سالم غلظت فیبرینوژن بیش‌تری داشتند و این تفاوت معنی‌دار بود. اما بیش‌تر بودن پروتئین تام در این گروه از نظر آماری معنی‌دار نبود (Irmak et al. 2006). فیبرینوژن در تعیین، تشخیص و پیش‌آگهی بیماری‌های منجر به آسیب بافتی ناشی از التهاب ارزشمند است (Jafarzadeh et al. 2004, Smith 2015).

هایپروپروتئینمی و هایپوآلبومینمی در مقایسه با گروه کنترل دیده شد، در حالی که غلظت خونی لیزوزیم و فیبرینوژن در روز ۱۱ تا ۱۸ و در روز ۳ تا ۱۸ کم‌تر گسترش یافت و منجر به کاهش معنی‌دار نسبت آلبومین به گلوبولین از روز ۱۱ شد (Georgieva et al. 2008). فیبرینوژن یک پروتئین فاز حاد مثبت جزئی با واکنش آهسته و لیزوزیم یک پروتئین فاز حاد مثبت اصلی تأخیری است اما آلبومین یک پروتئین فاز حاد منفی در عفونت باکتریایی تجربی در خرگوش‌ها می‌باشد. پروتئین و گلوکز سرم در بره‌های دارای عفونت روده‌ای مرتبط با کلی‌باسیلوز در مقایسه با بره‌های سالم کاهش داشت (Hassan et al. 2013).

غلظت فیبرینوژن پلاسما شاخصی از التهاب عمومی می‌باشد و در جریان سپتی‌سمی افزایش می‌یابد (Georgieva et al. 2008, Jafarzadeh et al. 2004). فیبرینوژن به طور ویژه شاخص مفیدی از التهاب در گاو و سایر نشخوارکنندگان است و برخی بیماری‌های التهابی در گاو با هایپرفیبرینوژمی همراه می‌باشد از جمله: پرتیونت، ماستیت، و پنومونی (Smith 2015). موارد نادر هایپوفیبرینوژمی در جریان سپتی‌سمی ممکن است نتیجه‌ی سنتز کبدی ناقص، افزایش مصرف فیبرینوژن در طی DIC، از بین رفتن آن در هایپرفیبرینولیز اولیه یا از دست رفتن آن در طی خون‌ریزی شدید جبران نشده، باشد (Irmak et al. 2006). بیماری شدید التهابی در اسب و نشخوارکنندگان به طور پایداری باعث هایپرفیبرینوژمی می‌شود، اما ممکن است افزایش فیبرینوژن با درجه‌ی التهاب متناسب نباشد. افزایش فیبرینوژن اغلب مقدم بر ایجاد تابلوی خونی التهابی در نشخوارکنندگان، به ویژه گاو است. اما هایپرفیبرینوژمی به عنوان یک شاخص التهاب، به اندازه‌ی لوکوسیتوز مفید نیست به عبارت دیگر اهمیت لوکوسیتوز به عنوان نشان‌گر التهابی و سپتی‌سمی در مقایسه با هایپرفیبرینوژمی بیش‌تر است (Smith 2015). فیبرینوژن را جز پروتئین‌های التهابی آهسته دسته‌بندی می‌کنند که در پاسخ به

2014). بره‌هایی که به طور همزمان دارای عفونت روده‌ای و سپتی‌سمی کلی‌باسیلوزی بودند، افزایش معنی‌دار هماتوکریت و افزایش غیرمعنی‌دار هموگلوبین را نشان دادند که به غلیظ شدن خون (به دنبال از دست رفتن مایعات از فضای عروقی) نسبت داده شد (Hassan et al. 2013). در مطالعه‌ی حاضر چون مایعات از فضای عروقی به داخل گوارش نرفته بود، افزایش هماتوکریت و هموگلوبین دیده نشد. تغییرات هماتوکریت و هموگلوبین می‌تواند به علت استرس باشد، هر چند اختصاصی و قابل پیش‌بینی نیست (Ramin et al. 2008). MCHC، MCH، MCV هر سه یک روند کاهش را از ساعت ۲ مطالعه داشتند. احتمالاً کاهش تعداد اریتروسیت‌ها و نیز مقدار هموگلوبین و درصد هماتوکریت همگی منجر به کاهش این اندیس‌ها شده است. به نظر می‌رسد در بروز التهاب حاد زمان کافی برای ایجاد تغییرات مورفولوژیک در سلول‌های گلبول قرمز وجود ندارد، اما گزارشاتی مبنی بر تغییرات مورفولوژیک در گلبول قرمز گوساله‌های مبتلا به شوک سپتیک وجود دارد (Irmak et al. 2006).

تغییرات سلول‌های خونی و به ویژه شمارش تفریقی سلول‌های سفید خون در سپتی‌سمی ارزش تشخیصی دارد. تفسیر مناسب نتایج به دست آمده از معاینه‌ی فیزیکی و تست‌های آزمایشگاهی نیازمند جمع‌آوری بیش‌ترین اطلاعات در فیزیولوژی ارگان‌ها و سیستم‌های درگیر و پاتوژنز بیماری است (Benesi et al. 2012). تعداد انواع لوکوسیت‌ها باید در مقادیر رفرائس مناسب تفسیر شود، اما اگر هنوز ابهاماتی در این مورد وجود دارد، کلینیسین باید از افراد همان گله با سن، جنس، ژنتیک و شرایط نگهداری مشابه با بیمار نیز، نمونه‌هایی برای آزمایش ارسال کند. در کل، یکپارچگی داده‌های تابلوهای خونی بررسی شده، بهترین رهیافت برای شناسایی الگوهای تشخیصی است (Smith 2015).

در مطالعه‌ی حاضر درصد هماتوکریت از ساعت ۲ پس از سپتی‌سمی شروع به کاهش کرد و تا پایان مطالعه نیز این روند ادامه داشت و در ساعت ۲۴، هماتوکریت ۲۸/۵ درصد بود. از آن جایی که با کلی‌سپتی‌سمی تجربی ایجاد شده دهیدراسیون نیز دیده می‌شود، افزایش درصد هماتوکریت می‌تواند از پیامدهای بالا رفتن غلظت خون باشد، که در مطالعات دیگر نیز گزارش شده است. عفونت تجربی گوساله‌ها با پاستورولا مالتوسیدا تفاوت معنی‌داری را در هماتوکریت گوساله‌های دریافت‌کننده‌ی باکتری در مقایسه با گروه کنترل ایجاد کرد (Abdullah et al. 2013). عفونت تجربی با مایکوپلازما مایکوئیدس باعث افزایش تعداد اریتروسیت‌ها، هماتوکریت و غلظت هموگلوبین خون شد اما هرگز خارج از محدوده‌ی طبیعی گزارش نشدند (Rosendal 1981). در سپتی‌سمی طبیعی هم هماتوکریت با افزایش وخامت بیماری بالاتر می‌رود (Dolente et al. 2007). گوساله‌های مبتلا به اسهال و مشکوک به سپتی‌سمی، علاوه بر پایین‌تر بودن تعداد لوکوسیت‌ها در مقایسه با گوساله‌های سالم، MCV بیش‌تر و فیبرینوژن کم‌تری نیز داشتند. اما تعداد گلبول‌های قرمز، ترومبوسیت، پروتئین تام، هموگلوبین و هماتوکریت بیش‌تر و MCH و MCHC کم‌تر و بدون تغییر معنی‌دار آماری گزارش شد (Basoglu et al. 2014). البته گزارشاتی از تغییر هماتوکریت در هنگام استرس وجود دارد که بیش‌تر به نظر می‌رسد به علت افزایش گلبول‌های قرمز در جریان خون باشد و نه جابه‌جایی مایعات کل خون، اما تغییرات هماتوکریت و هموگلوبین خون در استرس، اختصاصی نبوده و قابل پیش‌بینی نیست (Ramin et al. 2008).

سپتی‌سمی تجربی با پاستورولا مالتوسیدا تعداد گلبول‌های قرمز و هموگلوبین را تغییر داد ولی تغییرات رخ داده در عفونت تجربی با مایکوپلازما مایکوئیدس، سطح هموگلوبین و تعداد گلبول‌های قرمز و درصد هماتوکریت را از محدوده‌ی طبیعی خود خارج نمود (Basoglu et al. 2014).

منابع

- Abdullah, F.F.J.; Yusuf Osman, A.; Adamu, L.; Zakaria, Z.; Abdullah, R.; Zamri-Saad, M. et al. (2013). Haematological and biochemical alterations in calves following infection with *Pasteurella multocida* type B: 2, bacterial lipopolysaccharide and outer membrane protein immunogens (OMP). *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(6): 806-813.
- Ballou, M.A.; Cobba, C.J.; Hulbert, L.E. and Carroll, J.A. (2011). Effects of intravenous *Escherichia coli* dose on the pathophysiological response of colostrum-fed Jersey calves. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 141(1-2): 76-83.
- Basoglu, A.; Baspinar, N.; Tenori, L.; Hu, X. and Yildiz, R. (2014). NMR Based Metabolomics Evaluation in Neonatal Calves with Acute Diarrhea and Suspected Sepsis: A New Approach for Biomarker/S. *Metabolomics*. 2(4):1-6.
- Benesi, F.J.; Teixeira, C.M.C.; Leal, M.L.R.; Lisboa, J.A.N.; Miranda, R.M.S.; Shecaira, C.L. et al. (2012). Leukograms of healthy Holstein calves within the first month of life. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 32 (4): 352-356.
- Binder, C.; Urlesberger, B.; Riedl, R.; Morris, N.; Schwaberger, B. and Pichler, G. (2013). Leukocytes influence peripheral tissue oxygenation and perfusion in neonates. *SIGNA VITAE*, 8(2):20-23.
- Chen, X.; Yin, Y. and Zhang, J. (2011). Sepsis and immune response. *World Journal of Emergency Medicine*, 2(2): 88-92.
- Dolente, B.A.; Lindborg, S.; Palmer, J.E. and Wilkins, P.A. (2007). Culture-Positive Sepsis in Neonatal Camelids: 21 Cases. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(3): 519-525.
- Georgieva, T.M.; Penchev Georgiev, I.; Iliev, Y.; Petrov, V.S.; Vachkov, A. and Kanelov, I.N. (2008). Blood serum concentrations of total proteins and main protein fractions in weaning rabbits experimentally infected with *E. coli*. *Revue de Medecine Veterinaire*, 159(8-9): 431-436.
- Hassan, N.; Sheikh, G.N.; Malik, H.U.; Shaheen, M. and Willayat, M.M. (2013). Hemato-biochemical and therapeutic studies on *Escherichia coli* associated with concurrent enteric infection in lambs. *Veterinary World*, EISSN, 6(11):870-873.
- Hulbert, L.E.; Cobb, C.J.; Carroll, J.A. and Ballou, M.A. (2011). Effects of changing feeding milk replacer from twice to once daily on Holstein calf innate immune responses before and after weaning. *Journal of Dairy Science*, 94(5): 2557-2565.
- Irmak, K.; Sen, I.; Col, R.; Birdane, F.M.; Guzelbektes, H.; Civelek, T. et al. (2006). The Evaluation of Coagulation Profiles in Calves with Suspected Septic Shock. *Veterinary Research Communications*, 30(5): 497-503.
- Jafarzadeh, S.R.; Nowrouzian, I.; Khaki, Z.; Ghamsari, S.M. and Adibhashemi, F. (2004). The sensitivities and specificities of total plasma protein and plasma fibrinogen for the diagnosis of traumatic reticuloperitonitis in cattle. *Preventive Veterinary Medicine*, 65(1-2): 1-7.
- Lotfollahzadeh, S.; Mokhber Dezfouli, M.R.; Khazraei Nia, P.; Tajik, P.; Alidadi, N. and Farshadi, H. (2003). Evaluation of influence of two methods of artificially feeding colostrums on serum gammaglobulin concentration of neonatal calves. *Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 58 (1): 79-82. (in Persian)
- Mohri, M.; Poorkabir, M.A.; Hassani Tabatabai, A.M. and Mokhber Dezfouli, M.R. (1999). Seasonal variation of serum total protein and gammaglobulin levels of neonatal calves in a dairy farm of Tehran suburb. *Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 54(2): 25-30. (in Persian)
- Nierhaus, A.; Klatte, S.; Linszen, J.; Eismann, N.M.; Wichmann, D.; Hedke, J. et al. (2013). Revisiting the white blood cell count: immature granulocytes count as a diagnostic marker to discriminate between SIRS and sepsis – a prospective, observational study. *Bio Med Central Immunology*, 14(8): 1-8.
- Nouri, M. and Rasooli, A. (2011). Pathophysiology of gastrointestinal and respiratory diseases in the calf. (1st ed.) Shahid Chamran University Press, Ahvaz, Iran, 161-218.
- Ploppa, A.; Schmidt, V.; Hientz, A.; Reutershan, J.; Haeberle, H.A. and Nohé, B. (2010). Mechanisms of leukocyte distribution during sepsis: an experimental study on the interdependence of cell activation, shear stress and endothelial injury. *Critical Care*, 14(6): 1-13.
- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Hinchcliff, K.W. and Constable, P.D. (2007). *Veterinary Medicine: A textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. 7th ed. WB Saunders Co. Philadelphia, USA. Pp: 51-68.

- Ramin, A.G.; Asri-Rezaie, S.; Hayateghibi, H. and Mohammadi, D. (2008). Influence of the short-term road transport stress on blood parameters in dairy cows. *Pajouhesh & Sazandegi* No 77: 163-169. (in Persian)
- Rezazadeh, F.; Zahraei-Salehi, T.; Mokhber Dezfouli, M.R.; Rabani, M.; Morshedi, A.; Khaki, Z. et al. (2004). Clinical, biochemical and microbiological finding of calves' diarrhea in dairy herd in suburb of Tehran. *Journal of Faculty Veterinary Medicine*, 59(4): 301-308. (in Persian)
- Rosendal, S. (1981). Experimental Infection of Goats, Sheep and Calves with the Large Colony Type of *Mycoplasma mycoides* subsp. *mycoides*. *Veterinary Pathology*, 18(1): 71-81.
- Sharma, S.K. and Ul Haq Sh.A. (2012). The pharmacokinetics of ceftazidime in *E. coli* lipopolysaccharide induced febrile buffalo calves. *Veterinary Archives*, 82(6): 555-565.
- Smith, B.P. (2009). *Large Animal Internal Medicine*. 5th ed. St. Louis, MO, Mosby Elsevier. Pp: 376-398.
- Tennant, B.; Harrold, D. and Reina-Guerra, M. (1975). Hematology of the neonatal calf. II. Response associated with acute enteric infections, gram-negative septicemia, and experimental endotoxemia. *The Cornell Veterinarian*, 65(4): 457-475.
- Thomas, E.; Roy, O.; Skowronski, V.; Zschiesche, E.; Martin, G. and Böttner, A. (2004). Comparative field efficacy study between cefquinome and gentamicin in neonatal calves with clinical signs of septicemia. *Revue de Médecine Vétérinaire*, 155(10): 489-493.
- Xiao, H.; Siddiqui, J. and Remick, D.G. (2006). Mechanisms of mortality in early and late sepsis. *Infection and Immunity*, 74(9): 5227-5235.

Leukogram changing of Holstein calves response to acute inflammation due to experimental Colisepticemia

Mokhber Dezfouli, M.R.¹; Lotfollahzadeh, S.²; Heidari Sureshjani, M.³; Eftekhari, Z.⁴; Arab Yarmohammadi, M.⁵ and Jani, M.⁵

Received: 04.01.2017

Accepted: 28.10.2017

Abstract

Colisepticemia is an acute fatal disease that occurs primarily in calves less than 2 week's age and in calves with failure of passive transfer, and cause heavy economic losses to husbandry industries. Primary signs of septicemia is nonspecific and cannot be differentiated from non-infectious diseases or diseases with local infection such as diarrhea. Leukogram is a key laboratory tool to evaluate neonates suspected to septicemia in which supplies valuable diagnostic information for clinician next to physical examination. In this study, colisepticemia was induced with *Escherichia coli* strain of O111:H8 in 10-day bull Holstein calves weighting 50 ± 50 Kg. so, suspension of bacteria in normal saline, containing 1.5×10^9 CFU, was given intravenously through the jugular vein. Leukogram changing was examined from before 24 hours of bacterial injection till 24 hours after that. Leukopenia, neutropenia, lymphopenia, eosinophilia, thrombocytopenia and increase of PCV, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular hemoglobin (MCH) and hemoglobin, and decrease in red blood cell count was observed significantly associated with septicemia beginning ($P < 0.05$). Changing of mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) and plasma fibrinogen and total protein were not significant ($P > 0.05$). Total protein: fibrinogen ratio altered from >15 at 0h to <10 at 8h after challenge. In conclusion, changing of blood proteins and cells was related to systemic inflammatory response due to experimental colisepticemia in calves. Leukogram interpretation based on reference ranges appropriated to specie, breed, age, sex and environment can be useful to confirm or reject the disease and thus, guiding the therapy and give prognosis.

Key word: Calf, Colisepticemia, Leukogram, Blood protein

1- Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- Associate Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

3- Expert of Livestock Disease Diagnosis of Iran Veterinary Organization, Central Veterinary Laboratory, Tehran, Iran

4- Assistant Professor, Research and Production Complex Institute of Pasteur, Tehran, Iran

5- DVM Graduated from Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran, Tehran, Iran

Corresponding Author: Heidari Sureshjani, M., E-mail: Heidari_m90@ut.ac.ir