

بررسی اثر گامیترومایسین و جنتامایسین بر برخی ویتامین‌ها و شاخص‌های سرمی در موارد تحت درمانگاهی و درمانگاهی پاراتوبرکولوز گاوهای شیری

امین امینی^۱، عبدالناصر محبی^۲، محمدرضا اصلانی^{۲*}، افشین جعفری دهکردی^۲

۱. دانش‌آموخته دامپزشکی، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد-ایران.

دریافت: ۲۶ اردیبهشت‌ماه ۱۴۰۵ پذیرش: ۲ مردادماه ۱۴۰۵

چکیده

پاراتوبرکولوز یک بیماری مزمن و پیش‌رونده روده‌ای در نشخوارکنندگان است که به‌وسیله *Mycobacterium avium* زیرگونه *paratuberculosis* (MAP) ایجاد می‌شود و با کاهش تولید شیر، مرگ‌ومیر، حذف زود هنگام دام‌ها و زیان‌های اقتصادی گسترده همراه است. در حال حاضر درمان قطعی برای این بیماری وجود ندارد و تلاش‌های درمانی با آنتی‌بیوتیک‌ها نتایج محدود و متناقضی به همراه داشته است. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجویز گامیترومایسین و جنتامایسین بر تیترا آنتی‌بادی، و سطوح سرمی برخی ویتامین‌ها و فراسنجه‌های بیوشیمیایی در موارد درمانگاهی و تحت درمانگاهی پاراتوبرکولوز در گاوهای شیری است. این مطالعه بر روی ۴۰ رأس گاو شیری مثبت الایزا (۲۰ رأس درمانگاهی و ۲۰ رأس تحت درمانگاهی) که به ۴ گروه ۱۰ راسی تقسیم شدند انجام شد. به‌صورت هفتگی و به مدت ۸ هفته این دام‌های تحت درمان آنتی‌بیوتیک‌های گفته شده قرار گرفتند. در طی درمان کاهش تیترا آنتی‌بادی و افزایش سطح سرمی ویتامین B₁₂ در گروه جنتامایسین به‌ویژه در گروه درمانگاهی معنی‌دار بود ($P < 0.05$). بین سطح سرمی ویتامین B₁₂ و ویتامین D با سطح سمی آنتی‌بادی MAP همبستگی منفی دیده شد. همچنین در طی این مدت تغییر بیومارکرهای کلیوی قابل توجه نبود. بر اساس این مطالعه جنتامایسین اثر درمانی بیشتری نسبت به گامیترومایسین بر پاراتوبرکولوز درمانگاهی و تحت درمانگاهی گاوهای شیری نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: پاراتوبرکولوز، گاو شیری، گامیترومایسین، جنتامایسین، ویتامین D

مقدمه

کشت مدفوع و روش‌های مولکولی متغیر بوده و ارزیابی دقیق نیازمند ترکیب این روش‌ها است چرا که هرکدام حساسیت و ویژگی متفاوتی دارند (۲۵).

پاراتوبرکولوز در سراسر جهان در بین جمعیت گاوها گزارش شده است به‌طوری که در اروپا آندمیک در نظر گرفته می‌شود. در آمریکای شمالی، شیوع آن در گله‌های گاوهای شیری بیش از ۵۰ درصد گزارش شده است (۹). همچنین در بریتانیا بیماری یون اندمیک و بسیار شایع است به شکلی که حدود سه‌چهارم از گله‌های گاو شیری آلوده به عامل بیماری

بیماری یون یا پاراتوبرکولوز، به‌وسیله مایکوباکتریوم /ویوم زیر گونه پاراتوبرکولوز (MAP) ایجاد و به شکل بیماری مزمن بسیاری از نشخوارکنندگان به‌ویژه گاو را مبتلا کرده و باعث آماس گرانولوماتوز روده و اسهال غیرقابل درمان می‌شود. مشخصه این بیماری کاهش تولید شیر، کاهش وزن و اسهال مزمن است که با خسارات اقتصادی قابل توجه همراه است (۶). برآورد میزان شیوع بیماری در گله‌های مختلف باتوجه‌به روش‌های به کار گرفته شده مانند روش‌های سرولوژیک،



این آلودگی در گاوهای جوان بیشتر نهفته و یا بیماری به شکل تحت درمانگاهی است. شکل درمانگاهی بیماری تا سن دو سال یا بیشتر ظاهر نمی‌شود.

پاراتوبرکولوز از اهمیت اقتصادی قابل توجهی برای تولیدکنندگان شیر در گاو‌داری‌ها برخوردار است؛ زیرا سبب کاهش تولید شیر می‌شود. این بیماری سبب مرگومیر، یا حذف زود هنگام گاوها و کاهش ارزش کشتار گاوهای مبتلا به فرم درمانگاهی بیماری در گله‌های شیری می‌شود. در حال حاضر برای پاراتوبرکولوز هیچ درمان قطعی وجود ندارد (۸).

با وجود این که پاراتوبرکولوز یک بیماری درمان‌ناپذیر بیان می‌شود با این حال در دهه‌های اخیر گزارش‌های فراوانی از تلاش‌های درمانی برای آن ارائه شده است. بر این منظور از داروهای مختلف، به‌ویژه از داروهایی که برای درمان سل در انسان بکار می‌روند، استفاده شده است. در این موارد آنتی‌بیوتیک‌های ایزونیاژید، ریفامپین، استرپتومایسین، کلاریترومایسین، آمیکاسین و کلوفازامین با نتایج ناهمگون به کار گرفته شده‌اند. دوره طولانی درمان، هزینه‌ها و ناتوانی درمان در جلوگیری از دفع باکتری در مدفوع از مشکلات کار اعلام شده است (۱۵).

پژوهش‌های اخیر نشان داده است که برخی ویتامین‌ها مانند ویتامین B₁₂ و ویتامین D در پاسخ‌های آماسی دارای نقش هستند و کمبود آنها موجب تشدید روندهای آماسی می‌شود. همچنین نشان داده شده است که در پاراتوبرکولوز از تبدیل ویتامین D به شکل فعال آن کاسته می‌شود. چنین روندهایی در بیماری کرونز که یک بیماری همراه با آماس مزمن و زخم شونده روده‌ها در انسان بوده و از برخی جنبه‌های شبیه پاراتوبرکولوز است نیز رخ می‌دهد (۱۹).

گامیترومایسین یک آنتی‌بیوتیک آزالید از ماکرولیدهای نیمه سنتتیک و دارای یک مولکول نیتروژن یگانه در حلقه لاکتون است. این ویژگی شیمیایی موجب جذب سریع و فعالیت طولانی‌مدت آن در بافت‌های هدف می‌شود. این دارو بدون تغییر از صفر دفع می‌شود. جنتامایسین نیز یک آنتی‌بیوتیک از گروه آمینوگلیکوزیدها است که برای درمان

بوده و منجر به زیان‌های قابل توجهی در صنعت دامپروری می‌شود (۲۵). این بیماری در ایران نخستین بار در گاوهایی نژاد جرسی وارداتی شرکت نفت آبادان در سال‌های ۱۳۳۹ و ۱۳۴۰ هجری شمسی توسط خلیلی و طلاچیان گزارش شد به دنبال آن مقامی و هدایتی در سال ۱۳۴۰ وجود بیماری یون را در یک راس گاو هلشتاین گزارش کردند و در سال ۱۳۴۹ هجری شمسی وجود بیماری در بز و گوسفند توسط بهار صفت و همکاران مورد تأیید قرار گرفت. بیماری یون در ایران اندمیک بوده و تاکنون در گوسفند، بز، شتر، گاومیش و نشخوارکنندگان حیات وحش گزارش شده است (۱۷). گاوهای آلوده به MAP که دارای نشانه‌های درمانگاهی پاراتوبرکولوز و یا بدون آن هستند می‌توانند از راه مدفوع، سایر دام‌ها به‌ویژه گوساله‌های زیر ۶ ماه را آلوده کنند (۱۳).

درمان پاراتوبرکولوز چالش برانگیز است زیرا MAP یک میکروارگانیسم داخل سلولی با توانایی زنده ماندن در ماکروفاژها است و پاک‌سازی کامل آن دشوار است (۸). همچنین توانای بقای این میکروارگانیسم در دماهای بالا و پایین، پایداری هنگام پاستوریزاسیون و محیط‌های اسیدی یا قلیایی و یا حتی در محیط‌های بانمک فراوان سبب دوام آلودگی محیط، فزونی فرصت آلوده شدن دام‌ها و بروز بیماری در شرایط مناسب می‌شود (۲۳).

باید به این نکته توجه داشت که موارد درمانگاهی پاراتوبرکولوز از دیدگاه همه‌گیری‌شناسی به عنوان نوک کوه یخ نامیده می‌شوند، زیرا برآورد می‌شود با وجود یک مورد یون درمانگاهی دستکم ۲۵ راس دیگر آلوده و بدون نشانه درمانگاهی خواهند بود (۲۴، ۲).

راه اصلی آلودگی به MAP از طریق مدفوع - دهانی است، زیرا باکتری بیشتر از طریق مدفوع دفع می‌شود (اگرچه می‌تواند در آغوز، شیر و منی هم دفع شود). باکتری ممکن است در سر پستان‌های آلوده، بستر، مرتع، خاک یا آب نیز وجود داشته باشد و سپس منتقل شود. جابه‌جایی MAP همچنین از گاوهای بالغ آلوده به نوزادان تازه متولد شده رخ می‌دهد (۱۰). با این حال، به دلیل دوره نهفته طولانی مدت،



- اندازه‌گیری آلبومین، پروتئین تام، BUN و کراتینین با استفاده از کیت‌های تجاری (بیورکس - ایران) و به‌کارگیری اتوانالایزر (بایوتکنیک‌کا، BT-1500 ایتالیا). تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۶ (IBM Corp., Armonk, NY, USA) انجام شدند. آمار توصیفی (میانگین، انحراف معیار، حداقل و حداکثر) برای تمام متغیرها محاسبه شد. داده‌ها به تفکیک گروه دارویی، وضعیت درمانگاهی، و نقطه زمانی تحلیل شدند. توزیع نرمال داده‌ها با استفاده از آزمون Shapiro-Wilk ارزیابی شد. نتایج نشان داد که برخی از متغیرها (B12، ویتامین D، و پروتئین کل) توزیع نرمال داشتند ($P < 0.05$)، در حالی که برخی دیگر (تیترا آنتی‌بادی، کراتینین، و BUN) انحرافی از نرمالیتی نشان دادند. برای بررسی اثرات دارو، وضعیت درمانگاهی، زمان، و تعامل‌های آن‌ها بر پارامترهای خونی، از مدل‌های مختلط (Mixed Model ANOVA) با ساختار کوواریانس Variance Components استفاده شد. موضوع حیوان (Subject ID) به‌عنوان اثر تصادفی (random intercept) وارد مدل شد. روش REML (Restricted Maximum Likelihood) برای برآورد پارامترها استفاده گردید. درجات آزادی با روش Atterthwaite محاسبه شدند. تعامل‌های سه‌طرفه (دارو × وضعیت درمانگاهی × زمان) نیز در مدل لحاظ شدند. همبستگی پیرسون برای متغیرهای نرمال و همبستگی برای متغیرهای غیرنرمال استفاده شد. سطح معنی‌داری (P) در ۰/۰۵ در نظر گرفته شد. برای اصلاح مقایسه‌های چندگانه، روش (Least Significant Difference) استفاده گردید.

نتایج

تغییرات سرمی ویتامین B12 گاوهای دچار شکل تحت درمانگاهی و درمانگاهی پاراتوبرکولوز دریافت‌کننده جنتامایسین و گامیترومایسین در جدول ۱ نشان داده شده است.

عفونت‌ها مختلف به‌ویژه عفونت‌های ناشی از باکتری‌های گرم منفی در دام‌های مختلف به کار می‌رود. در این مطالعه اثر تجویز این دو آنتی‌بیوتیک روی برخی پارامترها در موارد پاراتوبرکولوز تحت درمانگاهی و درمانگاهی مورد بررسی قرار می‌گیرد.

مواد و روش کار

در این پژوهش تعداد ۴۰ رأس گاو هلشتاین از یک مجموعه دامپروری صنعتی شیری اطراف اصفهان که در آزمون الیزا برای یون مثبت بودند مورد استفاده قرار گرفتند. بیست رأس از این دام‌های نشانه‌های درمانگاهی بیماری را داشتند (گروه درمانگاهی) و ۲۰ رأس دیگر بدون نشانه‌های درمانگاهی بودند و تحت درمانگاهی در نظر گرفته شدند. گروه‌ها عبارت بودند از:

- گروه جنتامایسین شامل ۲۰ رأس (۱۰ رأس تحت درمانگاهی + ۱۰ رأس درمانگاهی) جنتامایسین (جنتامایسین ۵٪ - رویان دارو) با دوز ۳ mg/kg عضلانی روزانه به مدت ۵۶ روز دریافت کردند.

- گروه گامیترومایسین شامل ۲۰ رأس (۱۰ رأس تحت درمانگاهی + ۱۰ رأس درمانگاهی) گامیترومایسین (گامیترومایسین ۱۵٪ - رویان دارو) با دوز ۶ mg/kg زیرپوستی هر ۷۲ ساعت به مدت ۵۶ روز دریافت کردند.

نمونه‌گیری خون از ورید و داج گاوهای مورد آزمون در روز صفر (قبل از آغاز تزریقات) و روزهای ۱۴، ۲۸، ۴۲ و ۵۶ و به لوله‌های بدون ماده ضدانعقاد منتقل شد. پس از سانتریفیوژ نمونه‌های خون، سرم آنها جدا و برای موارد زیر مورد استفاده قرار گرفت.

- اندازه‌گیری تیترا الیزای MAP /نسبت S/P% با کیت IDEXX بر اساس Woodbine و همکاران در سال ۲۰۰۹.

- اندازه‌گیری ویتامین B12 با استفاده از روش ELISA (شرکت Pishtaz Teb Diagnostics) - اندازه‌گیری ویتامین 25(OH)D3 D3 با کیت تجاری (مونوباند - ایران) و با استفاده از روش الیزا.

جدول ۱- مقادیر فراسنجه‌های سرمی تحت تیمار گامیترومایسین و جنتامایسین در گاوهای شیری پاراتوبرکولوز تحت درمانگاهی و درمانگاهی

فراسنجه	زمان (روز)	جنتامایسین (نشانه‌های درمانگاهی)	جنتامایسین (نشانه‌های درمانگاهی)	گامیترومایسین (نشانه‌های درمانگاهی)
		+	-	+
تیتراژ آنتی‌بادی	۰	۲۹۸/۹۷ ± ۴۵/۳۴ ^{aAB}	۳۳۶/۹۶ ± ۳۲/۰۲ ^{bB}	۲۰۶/۶۴ ± ۸۱/۹۱ ^{abAB}
	۱۴	۲۱۵/۶۳ ± ۱۰۵/۸۳ ^{abAB}	۳۱۶/۷۸ ± ۳۶/۰۸ ^{bB}	۲۰۷/۷۷ ± ۶۲/۲۸ ^{abAB}
	۲۸	۱۶۲/۳۱ ± ۱۱۸/۸۵ ^{aAB}	۲۸۴/۶۸ ± ۱۲/۲۳ ^{bB}	۲۰۰/۹۸ ± ۶۴/۵۷ ^{abAB}
	۴۲	۱۳۲/۲۵ ± ۱۳۵/۵۳ ^{aA}	۲۹۶/۶۴ ± ۲۲/۳۵ ^{bB}	۱۹۵/۸۲ ± ۷۱/۵۰ ^{abAB}
	۵۶	۱۸۶/۵۶ ± ۱۲۱/۴۲ ^{abAB}	۲۹۰/۶۵ ± ۲۴/۹۴ ^{bB}	۲۴۱/۵۵ ± ۸۰/۹۹ ^{abAB}
ویتامین B12 (pg/ml)	۰	۴۸۳/۳۳ ± ۱۵۴/۳۸ ^{aA}	۶۳۲/۴۸ ± ۸۰/۵۰ ^{abAB}	۶۶۶/۹۶ ± ۱۲۹/۹۵ ^{abAB}
	۱۴	۶۴۰/۱۲ ± ۱۵۰/۵۳ ^{abAB}	۴۷۱/۶۱ ± ۱۳۵/۶۹ ^{aA}	۵۷۲/۷۸ ± ۸۶/۲۱ ^{aAB}
	۲۸	۶۹۳/۸۲ ± ۹۱/۰۸ ^{abAB}	۶۶۶/۳۶ ± ۲۲۲/۸۶ ^{abAB}	۷۳۸/۰۱ ± ۱۰۸/۹۳ ^{bB}
	۴۲	۶۲۷/۸۹ ± ۷۹/۱۷ ^{abAB}	۶۹۶/۵۵ ± ۹۸/۶۹ ^{abAB}	۷۴۵/۴۲ ± ۸۵/۳۲ ^{bB}
	۵۶	۶۹۶/۹۴ ± ۹۰/۷۶ ^{abAB}	۶۸۴/۷۷ ± ۵۷/۷۵ ^{abAB}	۶۵۵/۲۱ ± ۸۸/۳۴ ^{abAB}
ویتامین D (ng/ml)	۰	۲۷/۷۷ ± ۶/۰۲ ^{aA}	۱۸/۴۱ ± ۶/۶۳ ^{bB}	۳۲/۹۲ ± ۹/۱۵ ^{aA}
	۱۴	۲۵/۶۹ ± ۷/۷۶ ^{aA}	۱۸/۷۹ ± ۱۱/۴۰ ^{bB}	۲۹/۶۹ ± ۸/۷۶ ^{aA}
	۲۸	۲۵/۱۴ ± ۴/۵۵ ^{aA}	۱۹/۳۸ ± ۶/۴۱ ^{abAB}	۲۵/۹۴ ± ۸/۲۴ ^{aA}
	۴۲	۲۸/۵۸ ± ۱۰/۳۹ ^{aA}	۱۲/۴۰ ± ۵/۰۴ ^{bB}	۲۶/۸۵ ± ۷/۰۵ ^{aA}
	۵۶	۲۳/۵۸ ± ۷/۹۶ ^{aA}	۲۴/۸۹ ± ۷/۲۲ ^{aA}	۲۱/۲۴ ± ۶/۷۹ ^{aA}
پروتئین تام (gr/dl)	۰	۷/۵۲ ± ۰/۶۱ ^{abAB}	۶/۷۸ ± ۰/۹۱ ^{abAB}	۶/۱۲ ± ۱/۰۹ ^{aA}
	۱۴	۷/۷۶ ± ۰/۹۲ ^{bB}	۷/۳۸ ± ۱/۲۷ ^{abAB}	۶/۴۴ ± ۱/۲۱ ^{abAB}
	۲۸	۶/۳۷ ± ۱/۱۷ ^{abAB}	۶/۷۸ ± ۰/۸۵ ^{abAB}	۶/۳۴ ± ۱/۰۲ ^{abAB}
	۴۲	۷/۹۹ ± ۰/۴۳ ^{bB}	۷/۷۸ ± ۱/۰۷ ^{abAB}	۶/۳۴ ± ۰/۸۷ ^{abAB}
	۵۶	۷/۳۹ ± ۰/۸۰ ^{abAB}	۷/۰۷ ± ۰/۹۶ ^{abAB}	۶/۶۴ ± ۰/۶۵ ^{abAB}
آلبومین (gr/dl)	۰	۴/۲۲ ± ۰/۵۳ ^{aA}	۳/۳۶ ± ۰/۳۸ ^{abB}	۳/۴۵ ± ۰/۴۹ ^{abB}
	۱۴	۴/۳۶ ± ۰/۷۱ ^{aA}	۳/۵۳ ± ۰/۶۱ ^{abB}	۳/۳۹ ± ۰/۵۸ ^{abB}
	۲۸	۳/۶۴ ± ۰/۷۹ ^{abAB}	۳/۴۶ ± ۰/۵۵ ^{abAB}	۳/۳۴ ± ۰/۴۷ ^{abB}
	۴۲	۴/۵۴ ± ۰/۳۰ ^{aA}	۳/۷۸ ± ۰/۵۶ ^{abB}	۳/۳۳ ± ۰/۳۹ ^{abB}
	۵۶	۴/۳۸ ± ۰/۵۰ ^{aA}	۳/۶۱ ± ۰/۶۴ ^{abB}	۳/۳۸ ± ۰/۳۷ ^{abB}
کراتینین (mg/dl)	۰	۰/۹۰ ± ۰/۱۱ ^{abAB}	۰/۸۲ ± ۰/۱۱ ^{abAB}	۰/۸۸ ± ۰/۱۷ ^{abAB}
	۱۴	۰/۸۸ ± ۰/۱۳ ^{abAB}	۰/۸۰ ± ۰/۱۱ ^{abAB}	۰/۸۶ ± ۰/۰۷ ^{abAB}
	۲۸	۰/۸۱ ± ۰/۱۸ ^{aA}	۰/۸۳ ± ۰/۱۱ ^{abAB}	۰/۸۱ ± ۰/۰۶ ^{abAB}
	۴۲	۰/۹۸ ± ۰/۱۴ ^{bB}	۰/۸۴ ± ۰/۱۴ ^{abAB}	۰/۷۸ ± ۰/۱۳ ^{aA}
	۵۶	۰/۹۸ ± ۰/۱۵ ^{bB}	۰/۸۹ ± ۰/۱۲ ^{abAB}	۰/۸۹ ± ۰/۰۹ ^{abAB}
BUN (mg/dl)	۰	۱۵/۹۰ ± ۳/۵۱	۱۶/۸۷ ± ۴/۰۵	۱۵/۳۶ ± ۵/۵۱
	۱۴	۱۱/۸۱ ± ۲/۴۹	۱۳/۰۹ ± ۳/۵۲	۱۲/۵۷ ± ۲/۵۰
	۲۸	۱۲/۶۵ ± ۲/۵۴	۱۶/۴۲ ± ۲/۷۳	۱۳/۱۳ ± ۲/۷۱
	۴۲	۱۴/۶۶ ± ۲/۵۸	۱۱/۵۲ ± ۴/۰۲	۱۳/۲۵ ± ۲/۵۹
	۵۶	۱۴/۹۸ ± ۳/۴۶	۱۶/۳۰ ± ۴/۰۸	۱۴/۳۳ ± ۱/۶۱

حروف کوچک مختلف در هر ستون نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین زمان‌ها و حروف بزرگ مختلف در هر سطر نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین گروه‌هاست (P<۰/۰۵).



وضعیت بالینی نیز تأثیر معنادار بر تیترا آنتی‌بادی نداشت. اگرچه تمایلی به تیتراهای بالاتر در گروه‌های بیمار دیده شد. باین‌حال، زمان تأثیر معناداری بر تیترا آنتی‌بادی نشان داد و تغییرات معنادار طی ۵۶ روز مطالعه دیده شد. علاوه بر این تأثیر متقابل معنی‌دار دارو $\times$ زمان بر تیترا نشان داد که الگوهای تغییر تیترا آنتی‌بادی در گروه‌های جنتامایسین و گامیترومایسین متفاوت است.

جدول ۱ سطح سرمی بیومارکرهای کلیوی، کراتینین و BUN را در گاوهای دچار شکل تحت درمانگاهی و درمانگاهی پاراتوبرکولوز دریافت‌کننده جنتامایسین و گامیترومایسین نشان می‌دهد. بر اساس این نتایج تغییر معنی‌دار فقط در روزهای ۴۲ و ۵۶ گروه درمانگاهی درمان شده با جنتامایسین دیده می‌شود.

تحلیل Mixed Model (جدول ۲) نشان داد که داروی مورد استفاده تأثیر معنی‌دار بر کراتینین سرم نداشت و اثر وضعیت درمانگاهی نیز معنی‌دار نبود. اثر زمان بر کراتینین معنی‌دار بود. تعامل دارو $\times$ زمان نیز معنادار بود که نشان‌دهنده الگوهای متفاوت زمانی در کراتینین بین گروه‌های درمانی است. تحلیل Mixed Model نشان داد که داروی مورد استفاده و وضعیت درمانگاهی تأثیر معنی‌داری بر BUN نداشت. اثر زمان نیز معنی‌دار نبود. اگرچه نوسانات کلی مشاهده شدند. تعامل‌های دارو $\times$ زمان و وضعیت بالینی $\times$ زمان نیز معنی‌دار نبودند که نشان‌دهنده الگوهای مشابه تغییر BUN در تمام گروه‌هاست.

جدول ۱ تغییرات مقدار پروتئین سرم را در طول مطالعه نشان می‌دهد. در این مورد تفاوت قابل توجه و معنی‌داری بین گروه‌ها دیده نمی‌شود. در گروه درمانگاهی دریافت‌کننده درمان شده افزایش مقدار پروتئین سرم در برخی روزها دیده می‌شود که در گروه درمانی با گامیترومایسین بارزتر است. در جدول ۱ نیز تغییرات مقدار آلبومین سرم در دام‌های تحت مطالعه نشان داده شده است. در این مورد نیز مقدار آلبومین سرم گروه درمانگاهی با جنتامایسین به‌غیر از روز ۲۸ در بقیه موارد به طور معنی‌داری از گروه تحت درمانگاهی درمان شده با این دارو بالاتر است

بر اساس این نتایج در روز نخست سطح سرمی این ویتامین در موارد درمانگاهی کمتر از موارد تحت درمانگاهی بوده و به دنبال درمان با جنتامایسین به شکل معنی‌داری افزایش پیدا کرده است ($P < 0.05$).

تحلیل Mixed Model (جدول ۲) نشان داد که داروی مورد استفاده بر غلظت ویتامین B12 اثر معنی‌دار داشت ($P < 0.05$)؛ به‌طوری که گروه‌های دریافت‌کننده گامیترومایسین نسبت به جنتامایسین غلظت B12 بالاتری داشتند. وضعیت بالینی تأثیر معنی‌داری بر B12 نداشت. اثر زمان بر غلظت ویتامین B12 معنادار بود. تعامل‌های معنادار دارو $\times$ زمان و وضعیت بالینی $\times$ زمان نشان دادند که الگوهای زمانی غلظت B12 در گروه‌های مختلف متفاوت بود. سطح سرمی ویتامین D (جدول ۱) در موارد درمانگاهی توبرکولوز در تمام دوره درمانی ۸ هفته، بالاتر از موارد تحت درمانگاهی بود ($P < 0.05$) و تجویز آنتی‌بیوتیک‌های جنتامایسین و گامیترومایسین تغییری معنی‌دار در آن ایجاد نکرد.

تحلیل Mixed Model نشان داد که داروی مورد استفاده تأثیر معنی‌دار بر غلظت ویتامین D نداشت. باین‌حال، وضعیت بالینی تأثیر معنادار معکوس بر ویتامین D داشت. به‌طوری که حیوانات بیمار غلظت کمتری نسبت به حیوانات سالم داشتند. زمان نیز بر غلظت ویتامین D تأثیر معنادار داشت. تعامل‌های معنادار دارو $\times$ زمان و وضعیت بالینی $\times$ زمان نشان دادند که تغییرات زمانی ویتامین D در گروه‌های بیمار با گروه‌های سالم و بین داروها متفاوت بود.

نتایج اندازه‌گیری تیترا الایزای MAP گاوهای دچار شکل تحت درمانگاهی و درمانگاهی پاراتوبرکولوز دریافت‌کننده جنتامایسین و گامیترومایسین در جدول ۳ نشان داده شده است. میزان این تیترا در گروه درمانگاهی پاراتوبرکولوز درمان شده با جنتامایسین روند کاهشی نشان داده و این کاهش در روزهای ۱۴ و ۵۶ معنی‌دار بود ($P < 0.05$). تحلیل Mixed Model نشان داد (جدول ۲) که داروی مورد استفاده تأثیر معنادار بر تیترا آنتی‌بادی ندارد.





($P < 0.05$)، اما با گذشت زمان تغییرات قابل توجهی در آن دیده نمی‌شود.

تحلیل Mixed Model نشان داد که اثر داروی مورد استفاده بر پروتئین بسیار چشمگیر بود، به طوری که پروتئین تام گروه جنتامایسین غلظت‌های بالاتری نسبت به گامیترومایسین داشت. وضعیت بالینی تأثیر معنی‌دار نداشت. اثر زمان معنی‌دار بود. تعامل دارو × زمان نیز کاملاً معنی‌دار بود. در مورد آلبومین تحلیل Mixed Model نشان داد که داروی مورد استفاده بر آلبومین اثر معنی‌داری دارد. وضعیت درمانگاهی تأثیر معنی‌دار نداشت اگرچه تمایلی به

غلظت‌های کمتری در گروه‌های بیمار دیده شد. اثر زمان معنی‌دار بود. مهم‌تر از آن، تعامل دارو × زمان بسیار معنی‌دار بود که نشان‌دهنده الگوهای متفاوت و معنادار در تغییرات آلبومین بین گروه‌های درمانی است.

جدول ۳ همبستگی فراسنجه‌های سرمی اندازه‌گیری شده را نشان می‌دهد. در این مورد ویتامین B12 و ویتامین D با سطح آنتی‌بادی MAP همبستگی منفی نشان می‌دهند. همچنین سطح پروتئین سرم و ویتامین B12 همبستگی منفی دارد و مقدار آلبومین سرم نیز با سطح ویتامین D و کراتینین همبستگی مثبت نشان می‌دهد.

جدول ۲- مقادیر p Value در آنالیز Mixed models

فراسنجه	درمان	علائم درمانگاهی	زمان	درمان × علائم درمانگاهی	درمان × زمان	علائم درمانگاهی × علائم درمانگاهی	علائم درمانگاهی × زمان
تیترا آنتی‌بادی	۰/۳۱۵	۰/۳۳۹	۰/۰۱۳*	۰/۲۷	۰/۰۲۴*	۰/۳۳۷	۰/۱۶۲
ویتامین B12	۰/۰۱	۰/۸۳۷	<۰/۰۰۱	۰/۷۰۹	۰/۰۰۷	۰/۰۰۴	۰/۰۰۳
ویتامین D	۰/۲۰۴	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۶۵	۰/۰۰۴	۰/۰۱۴	۰/۳۶۳
پروتئین تام	۰/۰۰۱	۰/۶۰۴	<۰/۰۰۱	۰/۹۶۴	<۰/۰۰۱	۰/۳۵۲	۰/۳۸۹
آلبومین	۰/۰۰۴	۰/۱۱۳	۰/۰۱	۰/۲۱۲	۰/۰۰۱	۰/۲۲۵	۰/۲۳۸
BUN	۰/۱۸۵	۰/۴۱۵	۰/۴۵۵	۰/۲۸۶	۰/۶۵۵	۰/۱۶۷	۰/۴۵۱
کراتینین	۰/۲۲۵	۰/۷۵۶	۰/۰۳	۰/۹۵۸	۰/۰۱۱	۰/۸۵۸	۰/۲۶۸

مقادیر $P < 0.05$ بیانگر اثر معنی‌دار است.

جدول ۳- ماتریس همبستگی فراسنجه‌های سرمی

فراسنجه	ویتامین B12	ویتامین D	تیترا آنتی‌بادی	کراتینین	BUN	پروتئین تام	آلبومین
ویتامین B12	—	۰/۰۲۸	۰/۲۱۳*	۰/۰۷۴	۰/۰۲۴	۰/۳۰۰***	۰/۱۶۶*
ویتامین D	۰/۰۲۳	—	۰/۲۲۷**	۰/۰۳۱	۰/۰۱	۰/۱۵۲	۰/۲۸۱***
تیترا آنتی‌بادی	۰/۲۳۹**	۰/۲۶۰**	—	۰/۱۲۹	۰/۱۳۱	۰/۰۰۸	۰/۱۹۶*
کراتینین	۰/۰۹۷	۰/۰۱	۰/۰۵۳	—	۰/۵۳۷***	۰/۳۴۸***	۰/۴۳۶***
BUN	۰/۰۰۹	۰/۰۴۷	۰/۱۵۷	۰/۵۸۰***	—	۰/۰۶۱	۰/۰۸۴
پروتئین تام	۰/۲۶۹**	۰/۱۳۷	۰/۰۸۲	۰/۳۵۴***	۰/۰۶۲	—	۰/۷۴۹***
آلبومین	۰/۱۴۷	۰/۲۷۲***	۰/۱۱۹	۰/۴۲۱***	۰/۰۸۵	۰/۷۵۳***	—

* ($P < 0.05$)؛ ** ($P < 0.01$)؛ *** ($P < 0.001$).



بحث

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سطح ویتامین B₁₂ تحت تأثیر معنی دار نوع دارو ($P < 0.017$) و زمان ($P < 0.005$) قرار دارد، اما وضعیت بالینی تأثیر معنی داری نداشت ($P < 0.422$). در این مورد مقدار سرمی این ویتامین با گذشت زمان در گروه درمانگاهی درمان شده با جنتامایسین افزایش قابل توجهی نشان داد که ممکن است نشان دهنده تأثیر درمانی بهتر این آنتی بیوتیک در مقایسه با گامیترومایسین باشد. کمبود ویتامین B₁₂ یکی از ویژگی های بیماری های التهابی روده، به ویژه در بیماری هایی که قسمت انتهایی ایلئوم را درگیر می کنند است. در پاراتوبرکولوز، ضایعات گرانولوماتوز نخست در انتهای ایلئوم شکل گرفته و سپس به روده های بزرگ گسترش پیدا می کند (۱۴). ویتامین B₁₂ بیشتر و به علت حضور فاکتور اختصاصی، از این قسمت جذب می شود. کمبود ویتامین B₁₂ در موارد بیماری کرونز به ویژه مواردی که MAP مثبت بوده اند و یا در موارد برداشت انتهای ایلئوم در انسان به علت انتروکولیت نکروزه، رخ می دهد. از طرف دیگر این ویتامین برای کارکرد درست دستگاه گوارش و مقاومت دیواره آن در برابر عفونت ها ضروری بوده و کمبود این ویتامین به گسترش آماسی روده ها کمک می کند (۱۹).

گاوهای تحت درمان با جنتامایسین سطوح آلبومین بالاتری نسبت به گاوهای تحت درمان با گامیترومایسین داشتند ($P < 0.001$). باین حال، گروه-Gamithromycin Clinical بیشترین بهبودی نسبی را نشان داد ۲۱/۵+ درصد نسبت به روز صفر که ممکن است نشان دهنده پاسخ کندتر اما پایدارتر به درمان با آنتی بیوتیک ماکرولید در گاوهای بالینی باشد.

هیپوآلبومینمی یکی از شایع ترین و ثابت ترین یافته های بیوشیمیایی در بیماری یون است (۱۶، ۱۷). در مطالعه حاضر، گاوهای آلوده به MAP با نشانه های درمانگاهی سطوح آلبومین سرم پایین تری نسبت به گاوهای تحت درمانگاهی داشتند ($P < 0.001$) که با مطالعات قبلی همخوانی دارد. McGregor و همکاران در سال ۲۰۱۵ نشان دادند که از

میان ۲۲ پارامتر بیوشیمیایی، تنها سطح آلبومین سرم به طور مداوم و معنی داری با پیشرفت بیماری یون همبستگی داشت (۷).

پاتوفیزیولوژی هیپوآلبومینمی در بیماری یون ناشی از اختلال در جذب مواد مغذی و از دست رفتن پروتئین از طریق دیواره روده ضخیم شدن است (۷). التهاب گرانولوماتوز مزمن ایجاد شده توسط MAP در ایلئوم و قسمت ایلئوسکال منجر به افزایش نفوذپذیری روده و خروج آلبومین به لومن روده می شود. علاوه بر این، مطالعات اخیر نشان داده اند که خود باکتری MAP توانایی پیوند به آلبومین است که ممکن است در پاتوژنز بیماری نقش داشته باشد (۱۱ و ۱۶).

این یافته ممکن است نشان دهنده آن باشد که آسیب به ایلئوم در مراحل تحت بالینی بیماری نیز رخ می دهد و لزوماً با علائم بالینی همراه نیست. مطالعات قبلی نیز نشان داده اند که حتی گاوهای در مرحله تحت بالینی دچار اختلالات متابولیکی قابل توجهی هستند (۱۸). در این مطالعه، تأثیر معنی دار وضعیت بالینی ($P < 0.001$) و اثر متقابل سه گانه $Time \times Medication \times clinical_status$ ($P < 0.005$) بر سطوح ویتامین D مشاهده شد. این یافته با مطالعات اخیر که نقش محوری ویتامین D در ایمنی ذاتی علیه مایکوباکتریوم ها را نشان داده اند، همخوانی دارد (۲۱ و ۲۲). مطالعات نشان داده اند که در گاوهای با پاراتوبرکولوز درمانگاهی، بیان (CYP27B1) آنزیم تبدیل کننده ۲۵ (OH)D₃ به شکل فعال ۱,۲۵ (OH)₂D₃ در ماکروفاژها به طور معنی داری کاهش یافته است. این کاهش می تواند به افزایش بار باکتریایی داخل سلولی MAP کمک کند، زیرا ۱,۲۵ (OH)₂D₃ نقش مهمی در فعال سازی پاسخ های Th1 و کنترل رشد مایکوباکتریوم ها دارد (۲۱ و ۲۲).

در مطالعه Wherry و همکاران در سال ۲۰۲۲، تجویز ویتامین D₃ پاسخ های ایمنی ضد آماسی و پیش آماسی را در ماکروفاژهای آلوده به MAP تعدیل کرد و باعث کاهش بقای باکتری درون ماکروفاژ شد (۲۱). این یافته ها نشان می دهند



- clinical paratuberculosis. Inter. J. Appl. Res. Vet. Med. 2004; 2: 130-4.
- Campbell, R.E.; Chen, C.H. and Edelstein, C.L. Overview of antibiotic-induced nephrotoxicity. Kidney Intern. Rep., 2023; 11: 2211-2225.
 - Ha, S.; Kang, S.; Jung, M.; Kim, S.B.; Lee, H.G.; Park, H.T.; Lee, J.H.; Choi, K.Ch.; Park, J.; Kim, U.H. and Yoo, H.S. Comparison of blood parameters according to fecal detection of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis in subclinically infected Holstein cattle. J. Vet. Sci; 2023; 24(5):e70.
 - Kalthoff, J.; Garry, F.; Heuston, M.; Anderson, N. and Heuston, R. Is serum total protein a useful increased cardiovascular risk: Results from the International Polycap Study (TIPS)-3 randomized predictor of clinical Johne's disease in dairy cows that are ELISA-positive for *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis? Bovine Pract; 2020; 44 (2): 89-94.
 - Mallikarjunappa, S.; Adnane, M.; Cormican, P.; Karrow, N.A. and Meade, K.G. Characterization of the bovine salivary gland transcriptome associated with *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis experimental challenge. BMC genomics; 2019; 20 (1): 1-13.
 - McGregor, H.; Dhand, N.K.; Dhungyel, O.P. and Whittington, R.J. Effects of *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis infection on serum biochemistry in cattle. Prevent. Vet. Med; 2015; 121(3-4):213-22.
 - Naser, S.A.; Ghobrial, G.; Romero, C. and Valentine, J.F. Culture of *Mycobacterium avium* subspecies

که تجویز ویتامین D می‌تواند به عنوان یک درمان کمکی در بیماری یون مفید باشد.

در این مطالعه، سطوح BUN تحت تأثیر معنی‌دار زمان قرار گرفت ($P < 0.001$) اما کراتینین تغییرات معنی‌داری نشان نداد. این الگو نشان می‌دهد که افزایش BUN بیشتر به دلیل تغییرات متابولیک و پروتئینی است تا آسیب کلیوی. در مطالعات قبلی، نتایج متفاوتی گزارش شده است. Tata و همکاران در سال ۲۰۲۱ افزایش کراتینین در گاوهای آلوده به MAP گزارش کردند (۱۸)، در حالی که Ha و همکاران افزایش معنی‌داری در مقدار سرمی اوره و کراتینین را در گاوهای مبتلا به شکل تحت درمانگاهی پارانوبکولوز مشاهده نکرده‌اند (۴). این تفاوت‌ها ممکن است به مرحله بیماری، وضعیت تغذیه‌ای و متابولیسم پروتئین بستگی داشته باشد. نکته مهم این است که جنتامایسین مانند سایر آمینوگلیکوزیدها دارای سمیت کلیوی است و از این نظر بین این آنتی‌بیوتیک‌ها بعد از نفومایسین در ردیف دوم قرار دارد. تجویز مکرر و زیادی جنتامایسین می‌تواند نفروز و نارسایی کلیوی به دنبال داشته باشد (۳). با این حال، در این مطالعه سطوح کراتینین در گروه جنتامایسین تغییر معنی‌داری نداشت که نشان می‌دهد دز و مدت استفاده از جنتامایسین در این مطالعه نفروتوکسیسیته قابل توجهی ایجاد نکرده است.

منابع

- Arsenault, R.J.; Napper, S. and Griebel, P.J. *Mycobacterium avium* subsp. paratuberculosis inhibits interferon gamma-induced signaling in bovine monocytes: insights into the cellular mechanisms of Johne's disease. Infect. Immun., 2012; 80: 3039-48.
- Buergelt, C.D.; Donovan, G.A. and Williams, J.E. Identification of *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis by polymerase chain reaction in blood and semen of a bull with

15. St Jean, G. Treatment of clinical paratuberculosis in cattle. *Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract*; 1996; 12 (2): 417-30.
16. Sweeney, R. Pathogenesis of Paratuberculosis. *Vet. Clin. Food Anim. Pract*; 2011; 27:437-546.
17. Tabatabayi, A.H. and Firouzi, R. Diseases of Animals due to Bacteria. Tehran University Press, 2001; pp: 255–9.
18. Tata, A.; Pallente, I.; Massaro, A.; Miano, B.; Bottazzari, M.; Fiorini, P.; Dal Prà M; Paganini L; Stefani, A; De Buck, J.; Piro, R. and Pozzato N. Serum metabolomic profiles of paratuberculosis infected and infectious dairy cattle by ambient mass spectrometry. *Front. Vet. Sci*; 2021; 8: 625067.
19. Vaccaro, J.A.; Qasem, A. and Naser, S.A. Folate and Vitamin B12 deficiency exacerbate inflammation during mycobacterium avium paratuberculosis (MAP) infection. *Nutrients*; 2023; 15, 261.
20. Vorra, J.; Singh, S.V.; Singh, A.V.; Singh, P.K. and Sohal, J.S. Comparative distribution of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis in the target and non-target tissues of goats and sheep population in India. *Ind. J. Anim. Sci*; 2011; 78: 4-10.
21. Wherry, T.L.T.; Dassanayake, R.P.; Casas, E.; Mooyottu, Sh.; Bannantine, J.P. and Stabel, J.R. Exogenous vitamin D3 modulates response of bovine monocyte-derived macrophages to *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* infection. *Front. Cell. Infect. Microbiol*; 2022a; 11: 773938.
22. Wherry, T.L.T. and Stable, J.R. Bovine immunity and vitamin D3: an emerging paratuberculosis from the blood of patients with Crohn's disease. *The Lancet*; 2004; 364 (9439):1039-44.
9. Nielsen, S.S. and Toft, N. Age-specific characteristics of ELISA and fecal culture for purpose-specific testing for paratuberculosis. *J. Dairy Sci*; 2006; 89 (2): 569-79.
10. Patterson, S.; Bond, K.; Green, M.; Van Winden, S. and Guitian, J. *Mycobacterium avium paratuberculosis* infection of calves, the impact of dam infection status. *Prevent. Vet. Med*; 2020; 181: 104634-50.
11. Rathnaiaha, G.; Zininiel, D.K.; Bannantine, J.P.; Stable, J.R.; Gröhn, Y.T.; Collins, M.T. and Barletta, R.G. Pathogenesis, Molecular Genetics, and Genomics of Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis, the Etiologic Agent of Johne's Disease. *Front. Vet. Sci*; 2017; 6:4:187.
12. Seth, M.; Lamont, E.A.; Janagama, H.K.; Widdel, A.; Vulchanova, L.; Stabel, J.R.; et al. Metabolomic changes in naturally MAP-infected Holstein-Friesian heifers indicate immunologically related biochemical reprogramming. *Metabol.*; 2021; 11 (11): 726.
13. Singh, S.V.; Singh, A.V.; Kumar, A.; Singh, P.K.; Deb, R.; Verma, A.K.; Kumar, A.; Tiwari, R.; Chakraborty, A. and Dhama, K. Survival mechanisms of Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis within host species and in the environment—A review. *Nat. Sci.* 2013; 5: 710-723
14. Ssekitoleko, J.; Ojok, L.; Abd El Wahed, A.; Erume, J.; Amanzada, A.; Eltayeb, E.; Eltom, K.H. and Okuni, J.B. Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis Virulence: A Review. *Microorg*; 2021; 9: 2623.



- association in Johne's disease. Microorg; 2022b; 10 (9): 1865.
23. Whitlock, R.H. Wells, S.J.; Sweeney, R.W. and Van Tiem, J. ELISA and fecal culture for paratuberculosis (Johne's disease): sensitivity and specificity of each method. Vet. Microbial. 2000; 77 (3-4): 387-98.
24. Windsor, P.A. and Whittington, R.J. Evidence for age susceptibility of cattle to Johne's disease. Vet. J; 2010; 184 (1): 37-44.
25. Woodbine, K.A.; Schukken, Y.H.; Green, L.E.; Ramirez-Villaescusa, A.; Mason, S.; Moore, S.J.; Bilbao, C.; Swann, N. and Medley, G.F. Seroprevalence and epidemiological characteristics of *Mycobacterium avium subsp. paratuberculosis* on 114 cattle farms in south west England. Prevent. Vet. Med; 2009; 89 (1-2): 102- 109.





The effect of gamithromycine and gentamicine on some vitamins and serum parameters in cases of clinical and sub-clinical paratuberculosis in dairy cattle

Amin Amini¹; Abdonnaser Mohebbi²; Mohammad Reza Aslani^{2*};
Afshin Jafari-Dehkordi²

1. DVM Graduate Student, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.
2. Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahrekord University, Shahrekord- Iran.

Received: 16 May 2026

Accepted: 24 July 2026

Summary

Paratuberculosis is a chronic and progressive enteritis in ruminants caused by *Mycobacterium avium* subspecies paratuberculosis (MAP), results to economic losses including reduce milk production, weight loss, culling and mortality. Currently, there is no definitive treatment for paratuberculosis in cattle, though several therapeutic agents have been used with limited and controversial results. In this study, 40 MAP antibody-positive dairy cattle were selected, comprising 20 clinical and 20 subclinical cases. The cattle were divided into four groups, with each group containing 10 animals. The groups were treated with either gentamicin or gamithromycin for a duration of 56 days. Blood samples were collected weekly and the serum was used for measurement of MAP antibody titre, vitamin B12, vitamin D, total protein, albumin, creatinine and BUN. A significant elevation of serum vitamin B12 and reduction of MAP antibody titre were observed in clinical and subclinical cases of paratuberculosis treated by gentamicine. Negative correlation was also observed between serum vitamin B12 and vitamin D with MAP antibody titre. No significant changes were observed in renal biomarker in both groups during study. The study suggests that gentamicin may provide some therapeutic benefit in treating paratuberculosis in dairy cattle by elevating vitamin B12 levels and reducing MAP antibody titres. The observed negative correlation between vitamin levels and MAP antibody titre could indicate a potential mechanism of action worth further exploration.

Keywords: Paratuberculosis, Dairy cattle, Gamithromycin, Gentamicine, Vitamin D

* Corresponding Author aslani@sku.ac.ir

