

## Assessment of clinical and hematological changes in sheep pneumonia following vitamin supplement therapy

A. Masoudi<sup>1</sup>, Gh. Jalilzadeh-Amin<sup>2\*</sup>, B. Dalir- Naghadeh<sup>3</sup>, S. Asri-Rezaei<sup>4</sup>

Received: April 26, 2024

Accepted: February 10, 2025

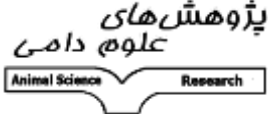

DVSc Student, Department of Large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran

Associate Professor, Department of large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran

Professor, Department of large Animal Internal Medicine, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran

Professo, Department r of Clinical Pathology, Faculty of Veterinary medicine, University of Urmia, Urmia, Iran

\*Corresponding author: [g.jalilzadeh@gmail.com](mailto:g.jalilzadeh@gmail.com)

	Journal of Animal Science Research / vol.34 No.4/ 2024/pp 41-60 <a href="https://animalscience.tabrizu.ac.ir">https://animalscience.tabrizu.ac.ir</a>	
© 2009 Copyright by Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz, Iran This is an open access article under the CC BY NC license ( <a href="https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/">https://creativecommons.org/licenses/by-nc/2.0/</a> ) DOI: <a href="https://doi.org/10.22034/as.2024.61378.1740">10.22034/as.2024.61378.1740</a>		

**Introduction:** Pneumonia is a significant health concern in sheep, particularly lambs, characterized by inflammation in the lungs in response to infectious agents affecting bronchioles and alveoli. It is a prevalent condition in sheep populations worldwide (Goodwin et al 2004). Vitamin C, an essential physiological antioxidant in the immune system, plays a crucial role in protecting host cells from oxidative stress induced by infections. Its high concentration in phagocytes and lymphocytes compared to plasma levels suggests its importance in immune cell function. Vitamin C has been shown to enhance phagocyte activity, T lymphocyte proliferation, interferon production, and decrease viral replication in various experimental settings (Hamila 2006). Animal studies have demonstrated that vitamin C supplementation can increase resistance to viral and bacterial infections. Furthermore, many infections, including pneumonia, are associated with reduced levels of vitamin C in plasma, leukocytes, and urine (Hamila 2006). Thiamine is another essential component involved in cellular metabolism, participating in mitochondrial oxidative decarboxylation and glycolytic pathways (Nazir et al 2019). Patients with septic shock often exhibit thiamine deficiency, which can be attributed to either deficiency or increased loss due to overdose (Donino et al 2010). This study aimed to investigate the efficacy of administering ascorbic acid and thiamine alongside oxytetracycline and tylosin in the treatment of sheep pneumonia as a safe and beneficial approach. The analysis focuses on examining alterations in clinical symptoms and blood parameters to monitor pneumonia improvement.

**Materials and Methods:** Twenty 8–12-month-old male sheep with respiratory disease were selected for this study and randomly assigned to four treatment groups: A, B, C, and D. Additionally, five healthy sheep were designated as the control group and received normal saline solution. Group A was

administered an antibiotic regimen consisting of oxytetracycline (Oxyvet 10%; hops, Karaj, Alborz, Iran) at a dosage of 11 mg/kg body weight and tylosin (Tylosin 20%; hops, Karaj, Alborz, Iran) intramuscularly at a dose of 18 mg/kg body weight over five days. Group B, in addition to the antibiotics received by Group A, was given thiamine hydrochloride or vitamin B1 (B-ject®; Nasr, Fariman, Khorasan Razavi, Iran) intravenously for five days at a dose of 20 mg/kg body weight (Constable et al 2016). Group C received ascorbic acid or vitamin C (Vitamin C®; Darou Pakhsh, Tehran, Iran) intravenously for five days at 2.5 g per sheep (Black and Hirdoglu 1996). Group D received a combination of antibiotics, thiamine, and ascorbic acid concurrently. Blood samples were collected from the sheep on the first, third, sixth, and fourteenth days of clinical evaluation for analysis of the blood panel. The effects of the interventions were compared using repeated measures analysis of variance (ANOVA). In cases where the overall ANOVA indicated significant statistical differences, paired comparisons were conducted using the Bonferroni post hoc test. A significance level of  $P < 0.05$  was considered for all statistical analyses.

**Results and Discussion:** Throughout the treatment period, all groups of animals exhibited clinical improvement characterized by a reduction in respiratory rate, heart rate, body temperature, and other pneumonia-related symptoms. Groups C and D demonstrated a more rapid resolution of shortness of breath and cessation of nasal discharge compared to the other groups. This accelerated response in groups C and D could be attributed to the anti-inflammatory properties of thiamine and vitamin C, which are known to inhibit prooxidative and cytokine activities with anti-inflammatory effects (Mohammadi and Rezaei 2019; Chen and Wissen 2020). Additionally, vitamin C has been shown to enhance the clearance of alveolar fluid by preventing active neutrophil accumulation in the alveolar spaces (Fischer et al 2011). This control of inflammatory processes by thiamine and vitamin C likely contributed to the improvement in clinical symptoms observed in animals with pneumonia, ultimately leading to the resolution of symptoms and reversal of appetite loss.

Following treatment, a significant decrease in the total number of white blood cells, lymphocytes, and neutrophils was observed across all treatment groups ( $P < 0.05$ ), with the D group exhibiting the most pronounced reduction. This study demonstrated that the concurrent administration of vitamin C, thiamine, and antibiotics expedited the healing process in the treated animals, resulting in a faster reduction in blood neutrophil counts. Sheep receiving thiamine supplementation showed more effective neutrophil responses in eliminating infectious agents compared to those without thiamine supplementation (Mohammadi and Rezaee 2019). Vitamin C, in addition to enhancing the chemotaxis, supported lymphocyte function, facilitated phagocytosis, and aided in the intracellular destruction of bacteria (Wilson 2013). In terms of hematological parameters, a significant decrease ( $P < 0.05$ ) was observed in the total erythrocyte count, hemoglobin, hematocrit, mean corpuscular volume (MCV), mean corpuscular conclusion (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) values, while the platelet count increased to a normal level in the herd. The initial reduction in erythrocytes, hemoglobin, and hematocrit levels in animals with pneumonia on the first day of the study may be attributed to dehydration, which is common in infected lambs due to decreased appetite, sweating from fever, and fluid loss resulting from lung inflammation (Pesanita et al 2020). Following treatment, as appetite and hydration were restored in the animals, a decrease in RBC count and subsequent reductions in hemoglobin and hematocrit levels were observed across all treatment groups. In cases of chronic pneumonia, the secretion of inflammatory cytokines such as IL-1 $\beta$ , IL-3, and TNF- $\alpha$  can disrupt the iron cycle, reducing erythrocyte and hemoglobin production by retaining iron in bone marrow macrophages (Trawl et al 2012). However, in pneumonia-induced hypoxia, increased erythropoietin secretion may contribute to heightened erythrocyte production (Trawl et al 2012).

**Conclusion:** The results of this study indicate that the combination of ascorbic acid and thiamine, along with antibiotics, proved to be more effective in treating respiratory diseases in sheep, accelerating the healing process. This combination therapy demonstrated significant reductions in white blood cell counts, lymphocytes, and neutrophils, with the D group showing the most substantial decrease. The administration of ascorbic acid and thiamine in conjunction with antibiotics resulted in a faster resolution of clinical symptoms, particularly in alleviating shortness of breath and nasal discharge. These vitamins' anti-inflammatory properties likely played a crucial role in controlling inflammatory processes and enhancing immune cell function, leading to the improvement in clinical symptoms. Additionally, hematological parameters such as total erythrocyte count, hemoglobin, hematocrit, and red blood cell indices were significantly altered following treatment, reflecting the impact of the therapy on various physiological functions. This study highlights the potential of utilizing ascorbic acid and thiamine in combination with antibiotics as a cost-effective and safe treatment approach for respiratory diseases in sheep.

**Keywords:** Lamb, Clinical Improvement, Respiratory Disease, Blood Parameter, Therapeutic Regimen

## ارزیابی تغییرات بالینی و خونشناسی طی درمان پنومونی گوسفندان با مکمل‌های ویتامینی

امیرمسعودی<sup>۱</sup>، قادر جلیل‌زاده‌امین<sup>۲\*</sup>، بهرام دلیرنقده<sup>۳</sup>، سیامک عصری‌رضائی<sup>۴</sup>

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۲/۷

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۱۱/۲۲

<sup>۱</sup> دانشجوی دکترای تخصصی بیماری‌های داخلی دام بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۲</sup> دانشیار بیماری‌های داخلی دام بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۳</sup> استاد بیماری‌های داخلی دام بزرگ، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

<sup>۴</sup> استاد کلینیکال پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه

\*مسئول مکاتبه: [g.jalilzadeh@urmia.ac.ir](mailto:g.jalilzadeh@urmia.ac.ir)

### چکیده

زمینه مطالعاتی وهدف: در این پژوهش اثربخشی تجویز اسید اسکوربیک و تیامین همراه با اکسی تتراسایکلین، تایلوزین در درمان پنومونی گوسفند به عنوان یک روش ایمن و مفید، با استفاده از بررسی تغییرات در نشانه‌های درمانگاهی و تابلوی خونی در نظارت بر بهبود پنومونی مطالعه گردیده است. روش کار: در این مطالعه، ۲۰ راس گوسفند نر ۸ تا ۱۲ ماهه مبتلا به بیماری تنفسی شناسایی و به طور تصادفی به چهار گروه درمانی A، B، C و D تقسیم شدند. پنج راس گوسفند سالم، به عنوان گروه کنترل انتخاب شد. گروه A با اکسی تتراسایکلین و تایلوزین، گروه B با اکسی تتراسایکلین، تایلوزین و تیامین، گروه C با اکسی تتراسایکلین، تایلوزین و اسید آسکوربیک و گروه D با اکسی تتراسایکلین، تایلوزین، اسید آسکوربیک و تیامین به مدت ۵ روز تحت درمان قرار گرفتند. در روزهای اول، سوم، ششم و چهاردهم ضمن ارزیابی بالینی، نمونه خون گوسفندان جمع‌آوری و تابلوی خونی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج: طی دوره درمانی، حیوانات تحت مطالعه در همه گروه‌ها بهبود بالینی را با کاهش تعداد تنفس، ضربان قلب، دمای بدن و برطرف شدن سایر نشانه‌های پنومونی نشان دادند، اما در گروه‌های C و D رفع تنگی نفس و قطع کامل ترشحات بینی نسبت به سایر گروه‌ها سریع‌تر مشاهده گردید. در اثر درمان، تعداد تام‌گلوبول‌های سفید، لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها در همه گروه‌ها کاهش یافت ( $P < 0.05$ ) و گروه D بیشترین کاهش را نشان داد. تعداد تام‌گلوبول‌های قرمز، هموگلوبین، هماتوکریت و مقادیر MCV، MCH و MCHC در همه گروه‌ها کاهش ( $P < 0.05$ ) و تعداد پلاکت‌ها تا سطح نرمال گله افزایش یافت. نتیجه‌گیری نهایی: بر اساس نتایج مطالعه حاضر اسید اسکوربیک و تیامین در همراهی با آنتی‌بیوتیک‌ها در مقایسه با زمانی‌که دو آنتی‌بیوتیک به تنهایی مورد استفاده قرار می‌گیرند در درمان مؤثرتر بوده و روند بهبودی را تسریع می‌بخشند و می‌توانند به عنوان رژیم‌های درمانی موثر، ارزان و ایمن در بیماری‌های مختلف تنفسی گوسفندان مورد استفاده قرار گیرند.

کلمات کلیدی: بره، بهبودی بالینی، بیماری تنفسی، پارامتر خونی، رژیم درمانی

## مقدمه

پنومونی از مهم ترین موارد بیماری است که می تواند سلامت گوسفندان مخصوصاً بره ها را تحت تاثیر قرار دهد. این بیماری تنفسی که در ریه ها از پاسخ التهابی برونشیل ها و آلوئول ها، به عوامل عفونی ناشی می شود و یک بیماری شایع در گوسفندان در همه کشورهای پرورش دهنده گوسفند می باشد (گودوین و همکاران ۲۰۰۴). عوامل عفونی مسبب پنومونی، انواعی از باکتری ها، کلامیدیا، مایکوپلازما یا ویروس ها می باشند ( مکسیمویچ و ریفاتبگویچ ۲۰۱۳). بیماری های تنفسی به واسطه مرگ و میر بره ها، کاهش تولید پشم، افزایش معدوم سازی در کشتارگاه ها و هزینه های درمانی سبب ضررهای اقتصادی زیادی در صنعت پرورش گوسفند می شوند ( مک رآء و همکاران ۲۰۱۶). میزان مرگ و میر ناشی از پنومونی بالینی حاد در سال ۲۰۰۲ به میزان ۸-۲ درصد برآورد شده است (آلی ۲۰۰۲) بطوری که در نیوزیلند در سال ۲۰۱۶ بروز پنومونی در ۱۱۴۷۱ راس بره متولد شده بین سال های ۲۰۱۴-۲۰۰۸ به میزان ۲۸ درصد ( مک رآء و همکاران ۲۰۱۶) گزارش گردیده و میانگین هزینه پنومونی و پلورزی در صنعت پرورش گوسفند به دلیل کاهش رشد و کاهش ارزش لاشه های بره ها بین ۳۲/۴ تا ۷۸/۹ میلیون دلار یا معادل ۲/۳۳ دلار برای هر بره تخمین زده شده است ( گودوین- ری و همکاران ۲۰۰۸). گرچه در کشور ما مطالعه ای در این زمینه انجام نگرفته است ولی شاید ارقامی نزدیک به آمار اشاره شده، درباره صنعت پرورش گوسفند در ایران نیز صادق باشد که اهمیت پرداختن به مدیریت درمانی موارد مشابه را محرزتر می سازد.

در سیستم ایمنی، ویتامین C به عنوان یک آنتی اکسیدان فیزیولوژیکی از سلول های میزبان در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از عفونت ها محافظت می کند. بالا بودن غلظت ویتامین C در فاگوسیت ها و لنفوسیت ها در مقایسه

با سطح پلازما به احتمال زیاد ناشی از نقش عملکردی آن در سلول های سیستم ایمنی می باشد. در محیط های آزمایشی مختلف، ویتامین C سبب افزایش عملکرد فاگوسیت ها، تکثیر سلول های لنفوسیت T و تولید اینترفرون و کاهش تکثیر ویروس ها می گردد (همیلا ۲۰۰۶). قابل توجه آنکه بر اساس مطالعات حیوانی، ویتامین C باعث افزایش مقاومت در برابر عفونت های مختلف ویروسی و باکتریایی می شود. علاوه بر این، بسیاری از عفونت ها، از جمله پنومونی، منجر به کاهش سطح ویتامین C در پلازما، لکوسیت ها و ادرار می شود ( همیلا ۲۰۰۶). تیامین نیز یک جزء ضروری در متابولیسم سلولی است و در دکربوکسیلاسیون اکسیداتیو میتوکندری و مسیر گلیکولیتیک شرکت می کند ( نظیر و همکاران ۲۰۱۹). بیماران دچار شوک سپتیک معمولاً از کمبود تیامین رنج می برند که ممکن است در اثر کمبود به دلیل مصرف بیش از حد و یا افزایش از دست دادن آن ایجاد شده باشد ( دونینو و همکاران ۲۰۱۰).

با توجه به اثر اثبات شده ی ویتامین C و تیامین در درمان سپسیس (کیم و همکاران ۲۰۱۸)، و با توجه به اینکه پنومونی به عنوان یکی از شایع ترین بیماری های عفونی گوسفند می باشد، که سبب التهاب گسترده و وقوع سپسیس می شود، لذا در این مطالعه، پتانسیل درمانی ویتامین C و تیامین در روند درمانی پنومونی گوسفند مورد بررسی قرار گرفت. هدف این بررسی، ارزیابی اثربخشی تجویز ویتامین C و تیامین، همزمان با آنتی بیوتیک درمانی استاندارد (اکسی تتراسایکلین و تایلوزین)، به عنوان درمان های کمکی برای پنومونی در گوسفندان بود که با مقایسه میزان بهبود علائم بالینی و تغییرات تابلوی خونی بین گروه های مختلف انجام گرفت.

## مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه، ۲۵ راس گوسفند نر از یک گله پرواری محلی ۱۲۰ راسی با میانگین سنی ۸ تا ۱۲ ماه، که طبق روش‌های معمول مدیریتی تغذیه، واکسیناسیون نگهداری می‌شدند، انتخاب و به پنج گروه آزمایشی به شرح زیر تقسیم شدند:

۲۰ راس گوسفند با علائم بالینی پنومونی (درگیری تنفسی) که هیچ درمانی دریافت نکرده بودند به عنوان گوسفندان مبتلا انتخاب و بطور تصادفی در چهار گروه A، B، C و D دسته بندی شدند.

گروه A رژیم آنتی بیوتیکی اکسی تتراسایکلین (Oxyvet 10%)؛ رازک، کرج، البرز، ایران) با دوز ۱۱ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن و تایلوزین (Tylosin 20%)؛ رازک، کرج، البرز، ایران) با دوز ۱۸ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن، بصورت داخل عضلانی به مدت پنج روز دریافت کردند. گروه B علاوه بر دریافت آنتی بیوتیک همانند گروه A، به مدت پنج روز تیمین هیدروکلراید یا ویتامین B1-B2 (ject، نصر، فریمان، خراسان رضوی، ایران) با دوز ۲۰ میلی گرم برای هر کیلوگرم وزن بدن بصورت داخل وریدی دریافت کردند (کانستبل و همکاران ۲۰۱۶). گروه C علاوه بر دریافت آنتی بیوتیک همانند گروه A، به مدت پنج روز اسید اسکوریک یا ویتامین C (ویتامین C، دارو پخش، تهران، ایران) به مقدار ۲/۵ گرم برای هر راس گوسفند بصورت داخل وریدی دریافت کردند (بلک و هیردوگلو ۱۹۹۶). در گروه D علاوه بر آنتی بیوتیک همانند گروه A، همانند گروه B، تیمین و همانند گروه C، اسید اسکوریک بطور همزمان تجویز شد.

علاوه بر این، پنج راس گوسفند سالم که از نظر بالینی فاقد هر گونه علائم بالینی درگیری مجاری تنفسی بودند، به عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این گروه در فواصل و

حجم‌های گروه‌های مداخله فقط سرم نرمال سالین دریافت کردند.

در روز اول و سپس در روزهای سوم، ششم و چهاردهم، تمامی گوسفندان در فاصله زمانی ساعت ۶ تا ۸ صبح مورد معاینه بالینی کامل قرار گرفته و بعد از خون‌گیری از ورید وداج، داروهای اشاره شده در بالا برابر گروه بندی ذکر شده، به گوسفندان تزریق شدند. معاینه بالینی شامل اندازه‌گیری دمای بدن، تعداد ضربان قلب، تعداد تنفس، ارزیابی تنگی نفس، سرفه، ترشحات بینی، رنگ غشای مخاطی و صداهای ریوی بود. تمامی یافته‌های حاصل از معاینه بالینی در پرسشنامه ثبت شدند. برهه‌هایی که حداقل سه مورد از چهار یافته‌ی؛ تاکی پنه، سرفه، ترشحات موکوسی فراوان بینی یا صداهای غیرطبیعی ریه را به طور همزمان در اولین معاینه نشان دادند، به عنوان مبتلا به پنومونی طبقه بندی شدند. نمونه خون از ورید وداج در لوله‌های ضد انعقاد سیترات سدیم جمع‌آوری و سپس گسترش خونی بر روی لام تهیه و بعد از ثبوت با رنگ گیمسا رنگ آمیزی و توسط میکروسکوپ نوری مورد بررسی قرار گرفتند. پارامترهای هماتولوژیک، از جمله تعداد تعداد گلبول‌های سفید، تعداد لنفوسیت، تعداد نوتروفیل، تعداد گلبول‌های قرمز، غلظت هموگلوبین (Hb)، هماتوکریت (PCV)، MCV، MCH، MCHC با استفاده از آنالایزر هماتولوژی Celltaca (NIHON KOHDEN CORPORATION, Tokyo, Japan) تجزیه و تحلیل شدند.

## تحلیل آماری

تمام اطلاعات جمع‌آوری شده وارد نرم افزار SPSS نسخه ۲۰ برای ویندوز (شیکاگو، IL، ایالات متحده آمریکا) شد و بعد از بررسی صحت ورود، داده‌ها مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. داده‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۴ تیمار و چهار تکرار بود. مقایسه ویژگی‌های کیفی در گروه‌های تیمارها در تکرارهای مختلف مطالعه از آزمون دقیق فیشر و مقایسه تفاوت بین تکرارهای مختلف برای ویژگی‌های

گوسفندان در تمامی گروه‌ها، مخاطات در روز ۶ یا نهایتاً روز ۱۴ به شرایط نرمال بازگشتند. ترشحات بینی در روز اول مطالعه در همه بره‌های مبتلا به پنومونی از نوع ترشحات مخاطی چرکی بینی بودند. در روز سوم، ترشحات بینی به ترشحات موکوسی تبدیل شد. همچنین در روز ۶ عملیات، گوسفندان ترشحات سروزی داشتند، در نهایت در روز ۱۴ و فقط در گروه C و D وضعیت بدون ترشحات بینی مشاهده شد (جدول ۱).

تعداد تنفس: همه بره‌های مبتلا در روز اول مطالعه، در معاینه بالینی تاکی پنه را نشان دادند. در تمام چهارده روز ارزیابی شده، گروه کنترل تغییرات معنی‌داری را نشان نداد. در طول دوره مطالعه و تا روز چهاردهم میانگین تعداد تنفس در گوسفندان در هر چهار گروه به تدریج کاهش یافته و به کمترین حد خود رسید. گوسفندان گروه C و D میانگین تعداد تنفس کمتری را در مقایسه با گروه‌های A و B نشان دادند. قابل توجه اینکه شرایط نرمال تعداد تنفس در روز ۱۴ در گروه D مشاهده شد (جدول ۲).

ضربان قلب: در روز اول مطالعه در گروه‌های درگیر پنومونی، تعداد ضربان قلب مشابه بود ( $P > 0.05$ ). در ادامه روند درمانی، میانگین تعداد ضربان قلب در هر چهار گروه مبتلا به تدریج کاهش یافت. در روز ۳ مطالعه، میانگین ضربان قلب بین گروه‌های تحت درمان معنی‌دار نبود ( $P > 0.05$ )، اما تفاوت آماری معنی‌داری در مقایسه‌های دیگر مشاهده شد ( $P < 0.05$ ). کمترین میانگین تعداد ضربان قلب در روز ۱۴ در گوسفندان گروه D مشاهده گردید (جدول ۳).  
دمای بدن: تمامی بره‌های مبتلا به پنومونی در گروه‌های مداخله دمای بالاتر از حد طبیعی (تب) را نشان دادند. در گروه‌های درگیر پنومونی، روز ششم مطالعه، گروه‌های A و C دماهای بالاتری را نسبت به گروه‌های B و D نشان دادند ( $P < 0.05$ ). نکته قابل توجه اینکه، دمای بدن در گروه B از گروه D بیشتر بود ( $P < 0.05$ ). تا پایان دوره درمانی،

کیفی در هر گروه تیمار با استفاده از آزمون مک نمار انجام شد. برای تحلیل ویژگی‌های کمی ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها و همگنی بین واریانس‌ها ارزیابی شد. سپس از رویه MIXED و داده‌های تکرار شونده برای تحلیل ویژگی‌های کمی در بین گروه‌های تیمار و روزهای مطالعه استفاده شد. مقایسه میانگین تیمارها برای هر ویژگی با آزمون بون فرونی و در سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ انجام شد و مدل آماری مورد استفاده به صورت زیر بود:

$$Y_{ijkl} = \mu + T_i + D_j + TD_{ij} + P_k + e_{ijkl}$$

که در این مدل  $Y_{ijkl}$  مقدار هر مشاهده،  $\mu$  میانگین کل،  $T_i$  اثر تیمار  $i$  ام ( $i = 1, 2, 3, 4$ )،  $D_j$  اثر زمان اندازه‌گیری،  $TD_{ij}$  اثر متقابل  $i$  امین تیمار در  $j$  امین زمان،  $P_k$  اثر تصادفی حیوان و  $e_{ijkl}$  اثر باقیمانده بود.

## نتایج

### ۱- یافته‌های بالینی

یافته‌های بالینی بره‌های مبتلا به پنومونی در هر چهار گروه مداخله حاکی از بهبود دام‌ها پس از پایان دوره مطالعه بود. در روز اول مطالعه، در گوش دادن به ریه تمامی دام‌های تحت بررسی، صداهای غیر طبیعی (کراکل و ویز) شنیده می‌شد و با رسیدن به انتهای دوره مطالعه، تغییرات کاهشی در صداهای غیرنرمال تنفسی وجود داشت. در آغاز مطالعه در معاینه بالینی، تمامی گوسفندان گروه مداخله درگیر تنگی نفس بودند، با ادامه روند درمانی از روز سوم مطالعه، تنگی نفس کاهش یافت، بطوریکه در دو گروه C و D از روز ششم تنگی نفس بطور کامل بر طرف و تا پایان مطالعه، تنفس طبیعی ادامه داشت. همه بره‌های گروه‌های تحت مداخله در روز اول نشانه سرفه را داشتند، ولی از روز سوم مطالعه، کاهش معنی‌داری در تعداد و شدت سرفه گوسفندان درگیر مشاهده شد، بطوریکه در تعدادی از گوسفندان بطور کلی سرفه قطع گردید. در شروع مطالعه در همه گوسفندان مبتلا به پنومونی مخاطات، پرخون ارزیابی شدند، که در همه

دادند بطوریکه، گوسفندان گروه D سریعترین کاهش تب و برگشت به دمای طبیعی را در بین گروه‌ها نشان دادند (جدول ۴).

وضعیت گروه A با بالاترین درجه حرارت ادامه یافته و به طور معنی‌داری ( $P < 0.05$ ) بیشتر از گروه‌های B، C و D بود. همه گروه‌های درگیر پنومونی نسبت به روز اول، در طول مطالعه کاهش معنی‌داری را در درجه دمای بدن نشان

**Table 1: Frequency of clinical signs in sheep of the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Clinical sign	Group	Control		A		B		C		D	
		1	14	1	14	1	14	1	14	1	14
Normal	Day	4	5	0	2	0	4	0	5	0	5
		1	0	3	3	4	1	5	0	5	0
Respiratory sounds	Crackle	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0
	Wheeze	0	0	5	2	5	1	5	0	5	0
Dyspnea	Yes	5	5	2	3	0	5	0	5	0	5
	No	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0
Cough	Yes	0	0	2	2	2	0	2	0	2	0
	No	0	0	1	0	3	0	3	0	3	0
Mucosal membrane	With stimulation	5	5	0	5	0	5	0	5	0	5
	Normal	0	0	5	0	5	0	5	0	5	0
Nasal discharge	Congestion	5	5	0	3	0	4	0	5	0	5
	No	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0
Nasal discharge	Serous	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mucus	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	Mucopurulent	0	0	5	0	5	0	5	0	5	0



**Table 2: The mean of respiration rate (breath per minute) of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	Day			
	1	3	6	14
Control	23.60 (1.14) <sup>a</sup>	23.80 (0.84) <sup>a</sup>	23.60 (0.89) <sup>a</sup>	23.60 (0.55) <sup>a</sup>
A	39.60 (0.55) <sup>b</sup>	36.80 (1.48) <sup>b</sup>	32.20 (0.84) <sup>b</sup>	29.00 (0.71) <sup>b</sup>
B	39.40 (1.14) <sup>b</sup>	36.20 (1.48) <sup>b</sup>	28.60 (0.55) <sup>c</sup>	27.40 (0.89) <sup>c</sup>
C	38.40 (1.14) <sup>b</sup>	36.40 (1.14) <sup>b</sup>	26.40 (1.14) <sup>d</sup>	25.60 (0.55) <sup>d</sup>
D	38.80 (1.48) <sup>b</sup>	34.80 (1.30) <sup>b</sup>	23.20 (0.84) <sup>ae</sup>	23.20 (0.84) <sup>ae</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

**Table 3: The mean of heart rate (beats per minute) of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	Day			
	1	3	6	14
Control	72.60 (1.67) <sup>a</sup>	73.60 (1.67) <sup>a</sup>	74.00 (0.71) <sup>a</sup>	73.60 (1.14) <sup>ac</sup>
A	102.20 (3.56) <sup>b</sup>	96.60 (1.95) <sup>b</sup>	85.00 (2.00) <sup>b</sup>	82.40 (2.07) <sup>b</sup>
B	102.60 (5.60) <sup>b</sup>	90.60 (1.95) <sup>c</sup>	80.20 (1.92) <sup>c</sup>	76.00 (1.00) <sup>ac</sup>
C	102.20 (3.11) <sup>b</sup>	89.00 (1.58) <sup>ce</sup>	76.20 (1.64) <sup>ae</sup>	73.40 (1.82) <sup>c</sup>
D	98.00 (3.16) <sup>b</sup>	86.40 (1.67) <sup>de</sup>	71.60 (1.67) <sup>ad</sup>	67.20 (1.79) <sup>d</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

**Table 4: The mean of body temperature (°C) of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	Day			
	1	3	6	14
Control	38.70 (0.16) <sup>a</sup>	38.72 (0.13) <sup>a</sup>	38.68 (0.13) <sup>a</sup>	38.62 (0.08) <sup>ae</sup>
A	40.02 (0.08) <sup>b</sup>	39.76 (0.15) <sup>b</sup>	39.54 (0.05) <sup>b</sup>	39.46 (0.05) <sup>bc</sup>
B	40.02 (0.08) <sup>b</sup>	39.72 (0.08) <sup>b</sup>	39.22 (0.04) <sup>c</sup>	39.14 (0.11) <sup>b</sup>
C	40.06 (0.09) <sup>b</sup>	39.80 (0.12) <sup>b</sup>	39.48 (0.08) <sup>b</sup>	39.34 (0.05) <sup>c</sup>
D	40.08 (0.08) <sup>b</sup>	39.68 (0.08) <sup>b</sup>	39.06 (0.05) <sup>d</sup>	38.68 (0.08) <sup>de</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

بود. بین روز اول تا سوم تغییر قابل ملاحظه‌ای در سطح پلاکت مشاهده نشد، اما در روز ششم و چهاردهم سطح پلاکت خون در همه گروه‌ها افزایش معنی داری داشت و بیشترین سطح پلاکت در روز چهاردهم مشاهده شد به گونه‌ای که، در این روز بالاترین سطح پلاکت در گروه D مشاهده گردید.

## ۲- یافته‌های آزمایشگاهی

گلبول‌های سفید: میانگین تعداد گلبول‌های سفید خون در بین گروه‌های مختلف مطالعه برابر جدول (۵) در روز اول و سوم با هم هیچ تفاوت معنی‌داری نداشتند ( $p > 0.05$ ). در روز ششم و چهاردهم تفاوت معنی‌داری بین سطح گلبول‌های سفید خون گروه A با B، D با B، D با C و D با وجود داشت ( $p < 0.05$ ). در طی روزهای مطالعه، میانگین تعداد نوتروفیل‌های خون در گوسفندان هر چهار گروه به تدریج کاهش یافته و در بین روزهای نمونه برداری، کمترین میانگین تعداد نوتروفیل‌ها برای گوسفندان درگیر با پنومونی در روز چهاردهم مشاهده شد و در همین روز، کمترین میانگین تعداد نوتروفیل‌های خون در گوسفندان گروه D که رژیم درمانی کامل را دریافت کرده بودند مشاهده گردید. میانگین تعداد لنفوسیت‌های خون در چهار گروه مداخله مورد بررسی، در روز اول مشابه بوده و تا روز سوم و ششم سطح آنها در هر چهار گروه افزایش غیر معنی داری داشت. بعد از آن، در هر چهار گروه سطح لنفوسیت‌های خون تا روز چهاردهم کاهش یافته و بیشترین کاهش در گروه چهارم مشاهده گردید.

پلاکتها: میانگین پلاکت خون گوسفندان در روز اول مطالعه بر اساس جدول (۶) در هر چهار گروه درمانی مشابه هم

**Table 5: The mean of white blood cells, neutrophils, and lymphocytes (/μL) of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	With blood cells (/μL)				Neutrophils (/μL)				Lymphocytes (/μL)			
	1st day	3rd day	6th day	14th day	1st day	3rd day	6th day	14th day	1st day	3rd day	6th day	14th day
<b>Control</b>	8420 (83.7) <sup>a</sup>	8380 (83.7) <sup>a</sup>	8380 (83.7) <sup>a</sup>	8380 (83.7) <sup>a</sup>	3960 (114.02) <sup>a</sup>	3960 (114.02) <sup>a</sup>	4060 (151.66) <sup>a</sup>	4040 (134.16) <sup>a</sup>	4340 (114.0) <sup>a</sup>	4300 (70.7) <sup>a</sup>	4280 (83.7) <sup>a</sup>	4280 (44.7) <sup>a</sup>
A	16260 (230.2) <sup>b</sup>	14680 (356.4) <sup>b</sup>	12840 (114.0) <sup>b</sup>	9040 (230.2) <sup>b</sup>	11160 (167.33) <sup>b</sup>	9360 (230.22) <sup>b</sup>	7140 (54.77) <sup>b</sup>	4540 (114.02) <sup>b</sup>	5000 (70.7) <sup>b</sup>	5240 (151.7) <sup>b</sup>	5600 (70.7) <sup>b</sup>	4400 (122.5) <sup>a</sup>
B	16260 (260.8) <sup>b</sup>	14280 (327.1) <sup>b</sup>	12800 (158.1) <sup>b</sup>	8840 (230.2) <sup>b</sup>	11180 (178.89) <sup>b</sup>	9080 (228.04) <sup>b</sup>	7120 (83.67) <sup>b</sup>	4460 (54.77) <sup>b</sup>	4980 (83.7) <sup>b</sup>	5100 (100.0) <sup>b</sup>	5580 (83.7) <sup>b</sup>	4280 (83.7) <sup>a</sup>
C	16200 (158.1) <sup>b</sup>	14640 (421.9) <sup>b</sup>	12880 (178.9) <sup>b</sup>	8800 (230.2) <sup>b</sup>	11140 (114.02) <sup>b</sup>	9320 (277.49) <sup>b</sup>	7180 (83.67) <sup>b</sup>	4420 (83.67) <sup>b</sup>	4960 (54.8) <sup>b</sup>	5220 (148.3) <sup>b</sup>	5600 (100.5) <sup>b</sup>	4280 (83.7) <sup>a</sup>
D	16180 (164.3) <sup>b</sup>	14400 (524.4) <sup>b</sup>	1160 (207.4) <sup>c</sup>	8280 (230.2) <sup>a</sup>	11140 (114.02) <sup>b</sup>	9140.40 (343.51) <sup>b</sup>	6780 (130.38) <sup>c</sup>	4160 (54.77) <sup>a</sup>	4940 (54.8) <sup>b</sup>	5160 (181.7) <sup>b</sup>	5300 (122.5) <sup>b</sup>	4020 (83.7) <sup>b</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation). Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

**Table 6: The mean of platelets ( $\mu\text{L}$ ) of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	Day			
	1	3	6	14
Control	909.60 (4.93) <sup>a</sup>	909.60 (4.94) <sup>a</sup>	909.20 (4.71) <sup>a</sup>	909.40 (5.46) <sup>a</sup>
A	681.80 (3.35) <sup>b</sup>	681.82 (2.77) <sup>b</sup>	774.60 (3.21) <sup>b</sup>	865.60 (3.21) <sup>b</sup>
B	682.80 (1.92) <sup>b</sup>	689.40 (6.73) <sup>b</sup>	777.20 (9.36) <sup>b</sup>	870.80 (0.84) <sup>bd</sup>
C	681.60 (3.65) <sup>b</sup>	700.00 (1.58) <sup>c</sup>	798.60 (1.52) <sup>cd</sup>	874.60 (3.91) <sup>cd</sup>
D	681.40 (2.30) <sup>b</sup>	705.60 (4.72) <sup>c</sup>	788.40 (14.84) <sup>bd</sup>	877.20 (3.19) <sup>cd</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

گلبول های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت: میانگین تعداد گلبول های قرمز خون گوسفندان در روز اول مطالعه در چهار گروه درمانی A، B، C و D تقریباً مشابه هم بود. در طی روزهای مطالعه، میانگین تعداد گلبول های قرمز خون در گوسفندان هر چهار گروه در روزهای سوم و ششم کاهش غیر معنی داری داشت اما در روز چهاردهم کاهش معنی داری نسبت به روز سوم و ششم در هر چهار گروه مشاهده شد. نتایج برای هموگلوبین و هماتوکریت و اندیس های اریتروسیت ها یعنی مقادیر MCV، MCH و MCHC بطور دقیق از الگوی مربوط به تعداد گلبول های قرمز پیروی می کردند که در جدول (۷) ارایه گردیده است.

**Table 7: The mean of red blood cells, hemoglobin, and hematocrit of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	Red blood cells ( $\times 106/\mu\text{L}$ )				Hemoglobin (g/dL)				Hematocrit (%)			
	1st day	3rd day	6th day	14th day	1st day	3rd day	6th day	14th day	1st day	3rd day	6th day	14th day
Control	12.10 (0.13) <sup>a</sup>	12.10 (0.16) <sup>a</sup>	12.10 (0.16) <sup>a</sup>	12.10 (0.16) <sup>a</sup>	9.48 (0.19) <sup>a</sup>	9.48 (0.19) <sup>a</sup>	9.48 (0.19) <sup>a</sup>	9.50 (0.21) <sup>a</sup>	28.14 (0.17) <sup>a</sup>	28.12 (0.18) <sup>a</sup>	28.14 (0.17) <sup>a</sup>	28.12 (0.17) <sup>a</sup>
A	10.80 (0.16) <sup>b</sup>	8.40 (0.23) <sup>b</sup>	8.34 (0.21) <sup>b</sup>	8.28 (0.26) <sup>b</sup>	10.98 (0.15) <sup>b</sup>	10.96 (0.15) <sup>b</sup>	10.42 (0.15) <sup>b</sup>	9.58 (0.19) <sup>ac</sup>	32.34 (0.09) <sup>b</sup>	31.48 (0.26) <sup>b</sup>	30.26 (0.18) <sup>b</sup>	28.12 (0.13) <sup>a</sup>
B	10.94 (0.11) <sup>b</sup>	8.38 (0.24) <sup>b</sup>	8.28 (0.24) <sup>b</sup>	8.24 (0.16) <sup>b</sup>	11.02 (0.13) <sup>b</sup>	10.96 (0.13) <sup>b</sup>	10.64 (0.05) <sup>b</sup>	9.84 (0.09) <sup>bc</sup>	32.28 (0.23) <sup>b</sup>	31.56 (0.23) <sup>b</sup>	30.26 (0.11) <sup>b</sup>	28.22 (0.23) <sup>a</sup>
C	11.72 (1.28) <sup>ab</sup>	8.34 (0.17) <sup>b</sup>	8.20 (0.21) <sup>b</sup>	8.16 (0.23) <sup>b</sup>	11.02 (0.13) <sup>b</sup>	11.04 (0.15) <sup>b</sup>	10.62 (0.13) <sup>b</sup>	9.86 (0.11) <sup>bc</sup>	32.36 (0.11) <sup>b</sup>	31.56 (0.27) <sup>b</sup>	29.66 (0.21) <sup>b</sup>	28.10 (0.10) <sup>a</sup>
D	11.12 (0.13) <sup>ab</sup>	8.26 (0.11) <sup>b</sup>	8.14 (0.13) <sup>b</sup>	8.08 (0.19) <sup>b</sup>	11.00 (0.16) <sup>b</sup>	10.92 (0.08) <sup>b</sup>	10.50 (0.07) <sup>b</sup>	9.70 (0.16) <sup>ac</sup>	32.42 (0.13) <sup>b</sup>	31.74 (0.45) <sup>b</sup>	30.84 (0.70) <sup>b</sup>	28.22 (0.13) <sup>a</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels ( $P < 0.05$ ) compared to different levels of treatments.

**Table 8: The mean of MCV, MCH, and MCHC of sheep in the intervention groups and in clinically healthy controls according to the study day**

Group	MCV (fL)				MCH (pg)				MCHC (g/dL)			
	1st day	3th day	6th day	14th day	1st day	3th day	6th day	14th day	1st day	3th day	6th day	14th day
Control	24.20 (0.16) <sup>a</sup>	24.24 (0.11) <sup>a</sup>	24.22 (0.13) <sup>a</sup>	24.18 (0.11) <sup>a</sup>	9.28 (0.13) <sup>a</sup>	9.24 (0.13) <sup>a</sup>	9.28 (0.13) <sup>ab</sup>	9.28 (0.13) <sup>ac</sup>	31.22 (0.18) <sup>a</sup>	31.22 (0.13) <sup>a</sup>	31.20 (0.10) <sup>a</sup>	31.18 (0.11) <sup>a</sup>
A	38.26 (0.19) <sup>b</sup>	37.60 (0.29) <sup>b</sup>	27.32 (0.18) <sup>b</sup>	24.98 (0.24) <sup>b</sup>	10.12 (0.13) <sup>b</sup>	9.38 (0.28) <sup>a</sup>	8.98 (0.08) <sup>a</sup>	8.32 (0.18) <sup>bc</sup>	37.86 (0.13) <sup>b</sup>	37.52 (0.24) <sup>b</sup>	35.82 (0.51) <sup>bc</sup>	31.34 (0.31) <sup>a</sup>
B	38.04 (0.23) <sup>b</sup>	37.30 (0.30) <sup>b</sup>	26.76 (0.18) <sup>c</sup>	24.88 (0.13) <sup>bd</sup>	10.02 (0.15) <sup>b</sup>	9.48 (0.31) <sup>a</sup>	9.02 (0.08) <sup>a</sup>	8.36 (0.11) <sup>bc</sup>	37.90 (0.07) <sup>b</sup>	37.24 (0.18) <sup>b</sup>	35.26 (0.15) <sup>c</sup>	31.40 (0.19) <sup>a</sup>
C	38.00 (0.16) <sup>b</sup>	37.36 (0.48) <sup>b</sup>	26.46 (0.11) <sup>cd</sup>	24.62 (0.08) <sup>cd</sup>	10.02 (0.29) <sup>b</sup>	9.58 (0.19) <sup>a</sup>	9.36 (0.24) <sup>ab</sup>	8.22 (0.08) <sup>bc</sup>	37.78 (0.16) <sup>b</sup>	37.10 (0.16) <sup>bc</sup>	35.60 (0.23) <sup>bc</sup>	31.22 (0.15) <sup>a</sup>
D	38.12 (0.26) <sup>b</sup>	37.48 (0.44) <sup>b</sup>	26.28 (0.198) <sup>d</sup>	24.24 (0.18) <sup>a</sup>	10.00 (0.16) <sup>b</sup>	9.44 (0.36) <sup>a</sup>	9.16 (0.19) <sup>ab</sup>	8.06 (0.05) <sup>b</sup>	37.76 (0.11) <sup>b</sup>	37.12 (0.13) <sup>bc</sup>	35.08 (0.19) <sup>c</sup>	31.18 (0.13) <sup>a</sup>

Data are presented as Mean (standard deviation).

Non-similar Latin letters indicate significant levels (P<0.05) compared to different levels of treatments.

## بحث

پنومونی گوسفندان یکی از علل مهم مرگ و میر در سراسر جهان و شایع ترین مشکل مرتبط با دستگاه تنفسی تحتانی در این دسته از نشخوارکنندگان بشمار می آید که بررسی خون شناسی می تواند ماهیت و شدت عفونت ریوی را نشان دهد (کانستبل و همکاران ۲۰۱۶). بنا به اهمیت مدیریت درمانی موارد مشابه، با استفاده از رژیم درمانی توصیه شده در این مطالعه و بر اساس یافته های بالینی و خون-شناسی، در روز چهاردهم، بهبودی پنومونی در تمامی گوسفندان مشاهده گردید ولی آنچه که حائز اهمیت است، بهبودی سریع تر و کامل تر بیماری در گروه D بود که در رژیم درمانی، دو مکمل درمانی یعنی ویتامین C و تیامین را دریافت کرده بودند که می تواند به دلیل خواص ضدالتهابی تیامین و ویتامین C باشد بطوریکه این دو، در مهار فعالیت پرواکسیداتیو و سایتوکین های پیش التهابی و واکنش دهنده های فاز حاد مانند پروتئین واکنشی C و پروکلکسی تونین نقش دارند (محمدی و رضائی ۲۰۱۹؛ چن و ویسن ۲۰۲۰) حتی ویتامین C با جلوگیری از تجمع فعال نوتروفیل در فضاهای آلوئولی، پاکسازی مایع آلوئولی را افزایش می دهد (فیشر و همکاران ۲۰۱۱) در نتیجه دلیل بخشی از بهبودی نشانه های بالینی در حیوانات مبتلا به پنومونی، مربوط به کنترل روندهای التهابی توسط این دو ویتامین می باشد که به برطرف شدن نشانه های بالینی و برگشت اشتها منجر گردیده است.

مقادیر گلبول های سفید خون در گروه کنترل در طی ۱۴ روز دوره تحقیق تغییری نداشت که بیانگر ثابت بودن شرایط مدیریتی گله می باشد. تجویز آنتی بیوتیک ها به تنهایی سبب کاهش ۴۴/۴ درصدی و تجویز توامان ویتامین B1 و اسید اسکوربیک سبب کاهش ۸/۸ درصدی تعداد لکوسیت های خون در طی مطالعه گردید و نتایج بدست آمده از آزمون تکرار اندازه گیریها نشان داد که؛ هم زمان، و هم، نوع تجویز

داروها بر تعداد گلبول های سفید خون تاثیرات معنی داری می گذارند.

تجویز آنتی بیوتیک های تایلوزین و اکسی تتراسیکلین با یا بدون مکمل های ویتامینی در طی ۱۴ روز سبب کاهش تعداد نوتروفیل ها در خون گردید. ظهور نوتروفیل های توکسیک و باند سل ها در خون، مبین وجود انحراف به چپ و نشان از شدت بالای عفونت در گوسفندان مبتلا به پنومونی دارد. نوتروفیل ها در ریه ها با مجموعه ای از واکنش ها به التهاب حاد پاسخ می دهند که با تخریب پاتوژن خاتمه می یابد (سوت آوت و همکاران ۲۰۰۲). نفوذ و فعال شدن نوتروفیل ها در بافت ریه در پاسخ به عفونت، مکانیزم اولیه برای اختلال عملکرد ریوی و آسیب ناشی از سپسیس است (براون و همکاران ۲۰۰۶) چون نوتروفیل های فعال شده، رادیکال آزاد، آنزیم های پروتئولیتیک و سایر واسطه های پیش التهابی را آزاد می کنند که مستقیماً به بافت آسیب رسانده و روند التهابی را طولانی تر می سازد (پیچهاوس ۲۰۱۷) و در واقع نشانه های بالینی گزارش شده در این بررسی، همچون تنگی نفس، سرفه، افزایش تعداد تنفس و ضربان قلب و نیز بالا رفتن دمای بدن در اثر روندهای مذکور ایجاد می گردد که الگوهای در مانی نیز دقیقاً به منظور کنترل این آشفته گی ها تکامل پیدا می کنند. گزار شاتی وجود دارد که درمان گوسفندان با ویتامین C به مدت یک ماه در اواخر آبستنی موجب بیان ژن های تنظیم کننده دفاع آنتی اکسیدانی، بلوغ سورفاکتانت و بازسازی راه های هوایی در ریه جنین می شود (مک گیلیک و همکاران ۲۰۲۲) بنابراین شاید از این طریق نیز تجویز ویتامین C در روند بهبودی نشانه های بالینی گوسفندان مبتلا به پنومونی اثرات مفیدی را ایجاد کرده باشد. از طرفی چون سطوح اسید اسکوربیک در لکوسیت ها طی ۲۴ ساعت پس از ابتلا به عفونت دستگاه تنفسی فوقانی، به نصف کاهش می یابد، بنابراین تامین مقدار مورد نیاز اسید اسکوربیک نوتروفیل،

التهاب و عفونت اتفاق بیفتد (لمبرت و همکاران ۲۰۱۶). بطوریکه ارزیابی میزان توکسیسیتی سیتوپلاسم نوتروفیل‌ها می‌تواند به عنوان یک شاخص خوب در ارزیابی و پیش‌آگهی حالت‌های پاتولوژیک مورد استفاده قرار گیرد (رونالد و همکاران ۲۰۱۴) یافته‌های مطالعه حاضر درباره تعداد و تغییرات شکلی گلبول‌های سفید و نوتروفیل‌ها حاکی از وقوع یک روند عفونی بود که متعاقب درمان، اثرات بهبودی را می‌توان در لکوگرام گوسفندان مبتلا به پنومونی بطور آشکار مشاهده نمود.

کاهش تعداد ترومبوسیت‌ها به دلیل افزایش مصرف پلاکت در مواردی همچون از دست دادن خون، سندرم انعقاد داخل عروقی منتشر، و یا با کاهش تولید در مغز استخوان به دلیل هیپوپلازی مغز استخوان و همچنین آسیب توکسیک مغز استخوان به دلیل سموم، داروها، عفونت‌های باکتریایی، انگلی، ویروسی، سرطان‌ها و مصرف علوفه حاوی مایکوتوکسین اتفاق می‌افتد (رونالد و همکاران ۲۰۱۴) که در مطالعه حاضر کاهش پلاکت‌ها می‌تواند منشأ عفونی داشته باشد.

مقادیر طبیعی تعداد اریتروسیت‌ها ۱۵ - ۹ (میانگین ۱۲ میلیون در هر میکرولیتر)، هموگلوبین ۱۵ - ۹ (میانگین ۱۱/۵ گرم در دسی لیتر خون) و هماتوکریت ۴۵ - ۲۷ (میانگین ۳۵ درصد) در گوسفند گزارش شده است (ترال و همکاران ۲۰۱۲); کانسِتبل و همکاران (۲۰۱۶) که نتایج بره‌های سالم با دامنه طبیعی مطابقت داشت. کاهش مقادیر گلبول‌های قرمز، هموگلوبین و هماتوکریت در دام‌های مبتلا به پنومونی در روز اول مطالعه معنی‌دار نیست که می‌تواند ناشی از دهیدراتاسیون بره‌های مبتلا باشد چون هنگام ابتلا به پنومونی، کم‌آبی بدن، به دلیل کاهش اشتها و نیز در اثر تعریق ناشی از تب رخ می‌دهد، همچنین به دلیل التهاب ریه‌ها، بدن بیمار مایعات خود را از دست می‌دهد (پزانیته و همکاران ۲۰۲۰). متعاقب شروع درمان و برگشت

از طریق تجویز ویتامین C، عملکردهای حیاتی نوتروفیل را افزایش می‌دهد (چن و ویسن ۲۰۲۰). شاید به همین دلیل در این بررسی تجویز توامان ویتامین C، تیامین و آنتی‌بیوتیک‌ها سبب تسریع در روند بهبودی حیوانات تحت مطالعه گذشته بطوریکه کاهش تعداد نوتروفیل‌های خون روند سریع‌تری داشته است. البته ثابت شده است که در گوسفندان دریافت‌کننده تیامین، نوتروفیل‌ها در از بین بردن عامل عفونی در مقایسه با نوتروفیل‌های گوسفندانی که مکمل تیامین دریافت نکرده بودند مؤثرتر عمل می‌نمایند (محمدی و رضائی ۲۰۱۹).

ویتامین C ضمن بهبود کموتاکسی، از عملکرد لنفوسیت‌ها پشتیبانی نموده و به فاگوسیتوز و انهدام درون سلولی باکتری‌ها کمک می‌کند (ویلسون ۲۰۱۳) مقایسه نتایج نشان داد که علی‌رغم لنفوسیتوز در روزهای ابتدایی، با تجویز توامان ویتامین‌های تیامین و اسید اسکوربیک روند برگشت تعداد لنفوسیت‌ها به حد نرمال سریعتر از بقیه گروه‌های تحت درمان صورت می‌گیرد. لنفوسیتوز می‌تواند در اثر تحریک مزمن آنتی‌ژنی، عفونت باکتریایی، ویروسی، قارچی یا تک‌یاخته‌ای رخ دهد (ویزر و همکاران ۲۰۰۷). افزایش توامان نوتروفیل‌ها و لنفوسیت‌ها در پاسخ‌های هیجانی نیز گزارش شده است (ترال و همکاران ۲۰۱۲)، اما وجود نوتروفیل توکسیک همزمان با لنفوسیتوز در گوسفندان مبتلا به پنومونی در این مطالعه، بیانگر وجود پاسخ التهابی و عفونی می‌باشد.

تفسیر پارامترهای هماتولوژیکی یکی از عناصر اساسی در ارزیابی وضعیت سلامتی انسان و دام‌ها است (رونالد و همکاران ۲۰۱۴). تغییرات در پارامترهای خونی می‌تواند فیزیولوژیکی، مانند استرس محیطی باشد، یا همراه با بیماری‌های مختلف بصورت لکوسیتوز، نوتروفیلی، لنفوپنی و تغییرات مورفولوژیکی در گلبول‌های سفید، نوتروفیل‌های توکسیک و آزاد شدن سلول‌های باند در دام‌های مبتلا به



۲۰۰۰) که تا حدود زیادی با یافته‌های بررسی حاضر مطابقت دارد. در پژوهش آی تکین و همکاران (۲۰۱۱) بر روی بره‌های مبتلا به طاعون نشخوارکنندگان کوچک، گلبول‌های سفید، میانگین حجم سلولی (MCV)، میانگین هموگلوبین گلبول‌های قرمز (MCH) و میانگین غلظت هموگلوبین گلبولی (MCHC) به طور معنی‌داری افزایش یافته، اما مقادیر هموگلوبین، گلبول‌های قرمز، هماتوکریت و سطح پلاکتی در گروه بیمار کاهش یافته بود (آی تکین و همکاران ۲۰۲۱). این یافته‌ها در خصوص تغییرات گلبول‌های سفید، هموگلوبین و هماتوکریت با نتایج مطالعه حاضر همخوانی داشته ولی در مورد شاخص‌های مربوط به تعداد و اندیس‌های گلبول‌های قرمز مغایرت دارد که شاید مربوط به ماهیت متفاوت و درگیری بافت‌های بیشتر بدن در مورد بیماری طاعون نشخوارکنندگان کوچک مربوط بوده باشد.

اسیدآسکوربیک به عنوان یک آنتی‌اکسیدان، در برابر آسیب‌های سلولی ناشی از استرس اکسیداتیو محافظت نموده و امکان بهبودی را پس از یک دوره بیماری بحرانی افزایش می‌دهد (سوکاری و همکاران ۲۰۲۲) بر اساس مطالعات موجود، در پنومونی، آرتریت و آنتریت گوسفندان (دارویش ۲۰۲۰) و پاستورلوزیس گاو، کمبود در مقدار ال-آسکوربیک‌اسید، رخ می‌دهد و در اثر کاهش غلظت اسید آسکوربیک، توانایی نوتروفیلها در تجزیه سلولهای بیگانه به شدت کاهش می‌یابد (ژائو و همکاران ۲۰۲۱؛ چن و ویسن ۲۰۲۰). نتایج به دست آمده در مطالعه انجام شده بر روی بره‌های مبتلا به پنومونی پاستورلایی نشان داده است که در گروه دریا فت‌کننده ویتامین C، تولید سیتوکینهای پیش التهابی در سرم کاهش می‌یابد، در نتیجه ویتامین C به عنوان یک داروی ضدالتهاب بالقوه و عامل تعدیل‌کننده ایمنی، ایده آل محسوب گردیده (ریزک و همکاران ۲۰۲۱) و همچنین از مرگ سلولی آپوپتوز محافظت

اشتهای حیوانات و اصلاح و وضعیت آب بدن، روند کاهش تعداد گلبول‌های قرمز و به طبع آن کاهش در مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت در تمامی گروه‌های تحت درمان مشاهده گردید. در اشکال مزمن پنومونی، ترشح برخی از سایتوکین‌های التهابی نظیر IL-1 $\beta$ ، IL-3 و TNF- $\alpha$ ، با چرخه آهن تداخل ایجاد کرده و با احتباس آهن در ماکروفاژهای مغز استخوان، باعث کاهش تولید اریتروسیت‌ها و هموگلوبین می‌شود (ترال و همکاران ۲۰۱۲). هرچند در دام‌های مبتلا به پنومونی به دلیل القای هیپوکسی، افزایش ترشح اریتروپوئیتین می‌تواند در افزایش تولید اریتروسیت‌ها نقش داشته باشد (ترال و همکاران ۲۰۱۲).

مقادیر طبیعی گزارش شده برای MCV ۲۸-۴۰ (میانگین ۳۴ فمتولیترا)، MCH ۸-۱۲ (میانگین ۱۰ پیکوگرم) و MCHC ۳۴ - ۳۱ درصد (میانگین ۳۳/۳۳ درصد) می‌باشد (سیاکس و همکاران ۲۰۲۱؛ کانستبل و همکاران ۲۰۱۶). بررسی نتایج اندیس‌های اریتروسیت‌ها در این پژوهش نشان داد که مقادیر در دامنه طبیعی قرار دارند و آشفتگی‌های مشاهده شده در روزهای ابتدایی مطالعه، بتدریج به حد نرمال گله نزدیک شده‌اند. البته نتایج مطالعات عبدالرحمان و ابراهیم نشان داده که اسیدآسکوربیک با محافظت از غشای گلبولهای قرمز خون در برابر فرآیندهای اکسیداسیون مقابله می‌کند (عابد الرحمن و ابراهیم ۲۰۱۳) لذا، این مکانیزم نیز ممکن است در برگشت گلبولهای قرمز خون به وضعیت طبیعی موثر بوده باشد.

در یک مطالعه مشابه در بره‌های مبتلا به پنومونی، آنمی میکروسیتیک هیپوکرومیک همراه با کاهش قابل توجه تعداد اریتروسیت‌ها، کاهش مقادیر هموگلوبین و هماتوکریت، کاهش تعداد لنفوسیت‌ها و پلاکت‌ها همراه با افزایش تعداد کل لکوسیت‌ها بصورت نوتروفیلی، ائوزینوفیلی و مونوسیتوزیس گزارش گردیده است (حسین و همکاران

گوسفندان مبتلا به پنومونی در کنار درمان آنتی بیوتیکی، بشرح ذیل نشان می‌دهد:

۱. تسریع رفع علائم بالینی و بهبودی بیماری، یک پیامد درمانگاهی مثبت ناشی از استفاده مکمل ویتامینی بوده است.

۲. تغییرات هماتولوژیکی در بره‌های مبتلا به پنومونی نشان دهنده حضور یک پاسخ التهابی فعال است. درمان با ترکیبی از تیامین و ویتامین C منجر به برگشت سریع آشفتگی‌های خونی به وضعیت طبیعی در مقایسه با سایر گروه‌ها می‌گردد، که نشان دهنده اثر ضد التهابی قوی این مکمل‌های درمانی است.

۳. برجسته ترین اثرات درمانی، با استفاده ترکیبی از مکمل‌ها مشاهده شد و می‌تواند نشان دهنده اثر هم افزایی بین این ویتامین‌ها در تعدیل پاسخ التهابی باشد.

تشکر و قدردانی:

بدین وسیله از مشارکت سرکار خانم دکتر مسعودی، آقایان دکتر رحمتی، غلامعلی مصیب زاده و ابراهیم زاده و سایر کارکنان دامپزشکی و تکنسین‌های درگیر در جمع آوری و تجزیه و تحلیل نمونه قدردانی می‌گردد.

تعارض منافع:

مولفین مقاله اعلام می‌دارند که هیچ تضاد منافعی وجود ندارد.

می‌کند (چن و ویسن ۲۰۲۰) بنابراین همانطور که یافته‌های مطالعه حاضر نیز تایید می‌کند، در شرایط التهابی ریه‌ها، اسیدآسکوربیک نقش محافظتی در عملکرد ریه دارد و از این ماده می‌توان به عنوان یک عامل بالقوه برای پیشگیری از وقوع این بیماری استفاده کرد (ژائو و همکاران ۲۰۲۱).

در مطالعات گذشته نگر انسانی، تجویز داخل وریدی اسیدآسکوربیک و تیامین باعث بهبود نتایج بالینی در بیماران بد حال مبتلا به شوک سپتیک یا پنومونی گردیده (ماریک و همکاران ۲۰۱۷) و حتی نظر بر این است که اسیدآسکوربیک با استرس اکسیداتیو ناشی از اثرات باکتری‌کشی آنتی‌بیوتیک‌ها مقابله می‌کند (آلبسا و همکاران ۲۰۱۴). در مطالعات انجام شده توسط محققین نتیجه‌گیری شد که در موارد پنومونی، کاهش سطح اسید اسکوربیک و تیامین اتفاق می‌افتد (همیلا ۲۰۰۶; دونینو و همکاران ۲۰۱۰) بنابراین استفاده از اسیدآسکوربیک و تیامین اثرات مفید بیشتری برای محدود کردن اختلال عملکرد ریه ناشی از استرس اکسیداتیو و التهاب در بیماران ایجاد می‌کند (ماتسوکوآ و همکاران ۲۰۲۰; ماریک و همکاران ۲۰۱۷) که این مستندات می‌توانند برخی از اثرات مفید استفاده همزمان از آنتی بیوتیک‌ها، تیامین و اسیدآسکوربیک در این مطالعه را توجیه نمایند، گرچه تحقیقات بیشتری برای بررسی این اثر هم افزایی احتمالی داروهای مورد استفاده در هنگام تجویز همزمان مورد نیاز است که از محدودیت‌های مطالعه حاضر بشمار می‌آید. از دیگر محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به تعداد کم حیوانات تحت بررسی و دوره کوتاه پیگیری آزمایشات خونی اشاره کرد.

### نتیجه گیری

یافته‌های این مطالعه پتانسیل امیدوار کننده‌ای را برای استفاده از تیامین و ویتامین C به عنوان درمان کمکی برای

## منابع مورد استفاده

- Albesa I, Becerra M C, Battán PC and Páez PL, 2004. Oxidative stress involved in the antibacterial action of different antibiotics. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 317: 605-609.
- Alley MR, 2002. Pneumonia in sheep in New Zealand: an overview. *New Zealand Veterinary Journal*, 50: 99-101.
- Aytekin İ, Mamak N, Ulucan A, Kalınbacak A, 2011. Clinical, haematological, biochemical and pathological findings in lambs with peste des petits ruminants. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakultesi Dergisi* 17: 349-355.
- Black WD, Hidiroglou M. 1996. Pharmacokinetic study of ascorbic acid in sheep. *Canadian journal of veterinary research*, 60: 216.
- Brown KA, Brain SD, Pearson JD, Edgeworth JD, Lewis SM, Treacher DF, 2006. Neutrophils in development of multiple organ failure in sepsis. *The Lancet*, 368: 157-169.
- Chen Q, Vissers MC, 2020. *Vitamin C: New biochemical and functional insights* (Vol. 1). CRC Press.
- Constable PD, Hinchcliff KW, Done SH, Grünberg W, 2016. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, horses, sheep, pigs and goats*. Elsevier Health Sciences.
- Darwish AA, 2020. Monitoring of antioxidant vitamins concentrations in some ovine diseases. *Veterinary Sciences: Research and Reviews*, 6: 58-63.
- Donnino MW, Carney E, Cocchi MN, Barbash I, Chase M, Joyce N, Chou PP, Ngo L, 2010. Thiamine deficiency in critically ill patients with sepsis. *Journal of critical care*, 25: 576-581.
- Fisher BJ, Seropian IM, Kraskauskas D, Thakkar JN, Voelkel NF, Natarajan R, 2011. Ascorbic acid attenuates lipopolysaccharide-induced acute lung injury. *Critical care medicine*, 39: 1454-1460.
- Goodwin KA, Jackson R, Brown C, Davies PR, Morris RS, Perkins NR, 2004. Pneumonic lesions in lambs in New Zealand: patterns of prevalence and effects on production. *New Zealand Veterinary Journal*, 52: 175-179.
- Goodwin-Ray KA, Stevenson MA, Heuer C, Cogger N, 2008. Economic effect of pneumonia and pleurisy in lambs in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, 56: 107-114.
- Hemilä H, 2006. Do vitamins C and E affect respiratory infections? Doctoral thesis in Department of Public Health University of Helsinki Finland.
- Hussein EM, Alam T, Masoud S, 2000. Some studies on clinical, haematological, and biochemical changes in pneumonic lambs with trials of treatment. *Veterinary Medicine Journal*, 8: 81-98
- Kim WY, Jo EJ, Eom JS, Mok J, Kim MH, Kim KU, Park HK, Lee K, 2018. Combined vitamin C, hydrocortisone, and thiamine therapy for patients with severe pneumonia who were admitted to the intensive care unit: Propensity score-based analysis of a before-after cohort study. *Journal of critical care*, 47: 211-218.
- Lambert JL, Fernandez NJ, Roy MF, 2016. Association of presence of band cells and toxic neutrophils with systemic inflammatory response syndrome and outcome in horses with acute disease. *Journal of veterinary internal medicine*, 30: 1284-1292.
- Abd-El-Rahman H, Ibrahim M, 2013. Impact Of Ascorbic Acid And Probiotics For Improvement Of Conception Rate Of Ewes During Summer Season. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 59: 21-31.
- Mahmoudi M., Rezaei N, 2019. *Nutrition and immunity*. Springer.
- Maksimovic Z, FE CDL, Rifatbegovic M, 2013. Presence of mycoplasmas in the respiratory system of small ruminants managed under an extensive production system. *Turkish Journal of Veterinary & Animal Sciences*, 37: 352-354.
- Marik PE, Khangoora V, Rivera R, Hooper MH, Catravas, J, 2017. Hydrocortisone, vitamin C, and thiamine for the treatment of severe sepsis and septic shock: a retrospective before-after study. *Chest*, 151: 1229-1238.
- Matsuoka T, Shinozaki H, Ozawa S, Izawa Y, Koyanagi K, Lefor AK, Kobayashi K, 2020. Administration of corticosteroids, ascorbic acid, and thiamine improves oxygenation after thoracoscopic esophagectomy. *Annals of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, 26: 133-139.

- McGillick EV, Orgeig S, Allison BJ, Brain KL, Niu Y, Itani N, Giussani DA, 2022. Molecular regulation of lung maturation in near-term fetal sheep by maternal daily vitamin C treatment in late gestation. *Pediatric research*, 91: 828-838.
- McRae KM, Baird HJ, Dodds KG, Bixley MJ, Clarke SM, 2016. Incidence and heritability of ovine pneumonia, and the relationship with production traits in New Zealand sheep. *Small Ruminant Research*, 145: 136-141.
- Nazir M, Lone R, Charoo BA, 2019. Infantile thiamine deficiency: new insights into an old disease. *Indian pediatrics*, 56: 673-681.
- Pechous RD, 2017. With friends like these: the complex role of neutrophils in the progression of severe pneumonia. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7: 160.
- Pezzanite, L., Neary, M., Hutchens, T., Scharko, P. (2009). Common diseases and health problems in sheep and goats. *Kentucky: University of Kentucky*.
- Rizk MA, El-Sayed SAES, Salman D, Marghani BH, Gadalla HE, Sayed-Ahmed MZ, 2021. Immunomodulatory effect of vitamin C on proinflammatory cytokines production in Ossimi Lambs (*Ovis aries*) with Pneumonic Pasteurellosis. *Animals*, 11: 3374.
- Roland L, Drillich M, Iwersen M, 2014. Hematology as a diagnostic tool in bovine medicine. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 26: 592-598.
- Seixas L, Peripolli V, Façanha DAE, Fischer V, Poli CHEC, Melo CBD, Louvandini H, McManus CM, 2021. Physiological and hematological parameters of sheep reared in the tropics and subtropics. *Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia*, 73: 622-630.
- Soethout EC, Müller KE, Rutten, VP, 2002. Neutrophil migration in the lung, general and bovine-specific aspects. *Veterinary immunology and immunopathology*, 87: 277-285.
- Sokary S, Ouagueni A, Ganji V, 2022. Intravenous ascorbic acid and lung function in severely ill COVID-19 patients. *Metabolites*, 12: 865.
- Thrall MA, Weiser G, Allison RW, Campbell TW, 2012. *Veterinary hematology and clinical chemistry*. John Wiley & Sons.
- Toews GB, Hansen EJ, Strieter RM, 1990. Pulmonary host defenses and oropharyngeal pathogens. *The American journal of medicine*, 88: S20-S24.
- Weiser MG, Vap LM, Thrall, MA, 2007. Perspectives and advances in in-clinic laboratory diagnostic capabilities: hematology and clinical chemistry. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 37: 221-236.
- Wilson JX, 2013. Evaluation of vitamin C for adjuvant sepsis therapy. *Antioxidants & redox signaling*, 19: 2129-2140.
- Zhao G, Li P, Mu H, Li N, Peng Y, 2021. L-ascorbic acid shapes bovine *Pasteurella multocida* serogroup A infection. *Frontiers in Veterinary Science*, 8: 687922.