



## اثرات تجویز فلورفینیکل خوراکی روی برخی شاخص‌های خون‌شناختی قزل‌آلای رنگین‌کمان (*Oncorhynchus mykiss*) تحت چالش با عوامل استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس

نیما شیرینی<sup>۱</sup>، سیاوش سلطانیان<sup>۱</sup>، طه‌ورا شمالی<sup>۲</sup>، رضا سلیقه زاده<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup> گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

<sup>۲</sup> گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

doi 10.22059/jvr.2019.273876.2890

تاریخ دریافت: ۲۰ اسفند ماه ۱۳۹۸، تاریخ پذیرش: ۳۰ اردیبهشت ماه ۱۳۹۹

### چکیده

**زمینه مطالعه:** آنتی‌بیوتیک‌ها می‌توانند وضعیت فیزیولوژیک و سیستم ایمنی میزبان را دستخوش تغییر نمایند و بکارگیری شاخص‌های خونی نشانگر مناسبی برای پایش آن‌هاست.

**هدف:** مطالعه تغییرات شاخص‌های خون‌شناختی ماهی قزل‌آلای رنگین‌کمان تحت چالش با عوامل استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس در پی مصرف فلورفینیکل خوراکی. **روش کار:** بدین منظور، تعدادی ماهی (۷/۵ ± ۵۵ گرم) در یک بلوک کاملاً تصادفی در ۶ تیمار و ۳ تکرار شامل گروه‌های بدون / با چالش عفونی هر پاتوژن به طور جداگانه و بدون / با دارودرمانی در دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۰ روز متوالی، مورد آزمایش قرار گرفتند. دوزهای باکتری‌های *Streptococcus iniae* (۲/۸۷×۱۰<sup>۷</sup>) و *Lactococcus garvieae* (۶/۸×۱۰<sup>۵</sup>) واحد تشکیل پرگنه بر میلی‌لیتر) به مقدار ۳۰ درصد LD50 در آزمایش اصلی بکار گرفته شدند. در پایان دوره آزمایشی، از سیاهرگ ساقه دمی ماهی‌ها خونگیری انجام شد. اندازه‌گیری هماتوکریت و هموگلوبین با استفاده از روش‌های استاندارد و شمارش یاخته‌های خونی پس از تهیه گسترش و با بکارگیری هماتوسایتمتر صورت گرفت.

**نتایج:** یافته‌ها نشان داد که درصد هماتوکریت، میزان هموگلوبین و تعداد گویچه‌های سرخ خون ماهیان در گروه‌های دریافت‌کننده دارو نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0/05$ ). مصرف روزانه فلورفینیکل به مدت ۱۰ روز متوالی در دوز اشاره شده، توانسته سبب کاهش معنی‌دار تعداد لنفوسیت‌های خون شود ( $P < 0/05$ ). از سوی دیگر به نظر می‌رسد که تعداد مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سایر یاخته‌های خونی در پی دریافت دوز ۱۰ دارویی به طور معنی‌داری افزایش یافتند ( $P < 0/05$ ). **نتیجه‌گیری نهایی:** به نظر می‌رسد که مصرف خوراکی فلورفینیکل توانسته است سبب بهبود ایمنی ذاتی از طریق افزایش یاخته‌های خونی شود. گرچه با توجه به کاهش فراوانی لنفوسیت‌های خون و اینکه مسئله ایجاد آنتی‌بیوتیک در ماهی به دنبال مصرف فلورفینیکل کماکان وجود دارد، توصیه می‌شود در صورت کاهش تلفات و بهبود علائم درمانگاهی از سطوح پائین‌تر دامنه مجاز مصرفی آنتی‌بیوتیک از نظر FDA برای درمان استفاده شود.

**کلمات کلیدی:** خون‌شناسی، قزل‌آلای رنگین‌کمان، فلورفینیکل، *Streptococcus iniae*، *Lactococcus garvieae*.

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: سیاوش سلطانیان، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

پست الکترونیکی: siyavashsoltanian@gmail.com

### مقدمه

از گسترش عوارض بیماری‌های ناشی از *Vibrio anguillarum*، *Photobacterium damsela piscicida* و *Edwardsiella tarda* استفاده شد و مشخص گردید که کارایی بهتری نسبت به کلرامفنیکل دارد (۱۰). همچنین در درمان فرونکولوزیس در آزاد ماهی اقیانوس

فلورفینیکل یکی از ترکیبات ضد باکتری کاربردی در زمینه دامپزشکی است که دارای طیف اثر گسترده بوده و در درمان بیماری تنفسی گاو، خوک و همچنین عفونت‌های مزمن تنفسی و گوارشی در طیور کاربرد دارد (۲۸). برای نخستین بار در آبی‌پروری، برای درمان و جلوگیری

با اینکه دلایل زیادی برای مصرف کلینیکی فلورفینیکل وجود دارد، تاکنون اثرات سرکوب‌گر/القایی آن بر یاخته‌های سلولی در خون پستانداران (۱۲،۲۱)، طیور (۱۳،۱۵) و ماهیان (۲۲،۲۶) گزارش شده است. برای نمونه درصد تیموسیت‌های  $CD4^+$  و  $CD8^+$  و تعداد مطلق  $CD4^+$  و  $CD8^+$  خون موش در پی مصرف فلورفینیکل طی ۷ روز مصرف خوراکی این آنتی بیوتیک افزایش و همچنین درصد لنفوسیت‌های B کاهش یافتند (۲۱). به نظر می‌رسد سطح سرکوب‌شدگی فراسنجه‌های ایمنی سلولی در موش‌های آزمایشگاهی وابسته به دوز مصرفی این آنتی بیوتیک باشد (۱۲). علی‌رغم اینکه فلورفینیکل اثرات مثبتی بر پاسخ‌های سلولی ایمنی طیور از خود نشان داده است (۱۵). در خصوص مدیریت بهداشتی بیماری‌های عفونی در آبری پروری، آنتی بیوتیک‌های مصرفی می‌توانند سبب نوتروپنی و حذف آلبومین در خون ماهیان شوند (۲۲). در تیلاپپای تحت درمان با فلورفینیکل نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌دار مقدار هموگلوبین، درصد هماتوکریت، تعداد گلبول‌های قرمز و همچنین لوکوسیتوز (نوتروفیلی) به وجود آمده است (۴). سطوح کاهش یافته فعالیت فاگوسیتوزی در این گونه ماهی تحت درمان با همین آنتی بیوتیک مشاهده شد، که البته معنی‌دار نبوده است (۲۶). با توجه به اطلاعات ناقص و ناسازگار تحقیقات پیشین، بر آن شدیم تا اطلاعات کامل‌تری را در مورد درصد هماتوکریت، هموگلوبین، فراوانی یاخته‌های خونی به همراه شمارش افتراقی گویچه‌های سفید ماهیان قزل‌آلای رنگین کمان تحت چالش عفونی با باکتری‌های *Streptococcus iniae* و *Lactococcus garvieae* تحت دوره درمانی ۱۰ روزه با دوز ۱۵ میلی‌گرم فلورفینیکل خوراکی بر کیلوگرم (وزن بدن) ارائه دهیم.

## مواد و روش کار

**ماهیان و شرایط سازگاری:** تعداد ۳۰۰ قطعه قزل‌آلای رنگین کمان با میانگین وزن  $55 \pm 7/5$  گرم از مزارع پرورشی در استان فارس (شهرستان سپیدان) خریداری شده و در تانک‌های ونیرو ۵۰۰ لیتری موجود در بخش بهداشت و بیماری‌های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز برای ۲ هفته دوره سازگاری نگهداری شدند. تعویض آب روزانه در طی این دوره به مقدار ۲۰ درصد حجم هر تانک صورت می‌گرفت و هوا دهی از طریق یک هواده مرکزی انجام می‌شد. خوراک‌دهی با پلت‌های تجاری شرکتی بایومار (دانمارک) دو بار در روز و به مقدار ۲ درصد وزن بدن آن‌ها بوده است. منبع آب یک حلقه چاه با دبی ۱-۳ لیتر در ثانیه بوده که سختی کل آن معادل ۳۴۴/۵۵ میلی‌گرم کربنات کلسیم در لیتر سنجیده شد. به علاوه، دمای آب و

اطلس به صورت خوراکی بکار گرفته شده و تجویز مقدار ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم در روز و درمان به مدت ۱۰ روز سبب کاهش تلفات و بهبود علائم درمانگاهی گردید (۱۴). این دارو سبب کنترل تلفات ناشی از سندرم بچه‌ماهی نارس قزل‌آلای رنگین کمان (RTFS) و بیماری باکتریایی آب‌های سرد شده است (۶،۲۳). حتی برخی پاتوژن‌های درون سلولی نظیر *Piscirickettsia salmonis* که قادر به ایجاد بیماری و عفونت در آزاد ماهیان هستند نیز، در آزمایشگاه و در مزرعه به فلورفینیکل پاسخ می‌دهند (۳۹). هم‌اکنون، فلورفینیکل خوراکی با برند تجاری *Aquaflor*® و در دامنه دوزاژ مصرفی تشریح شده در دستورالعمل سازمان غذا و داروی آمریکا (FDA) برای درمان بیماری‌های باکتریایی در ماهیان گرمابی نظیر سپتی سمی ادواریلایی و کولومناریس و همچنین کنترل مرگ و میر ناشی از فرونکولوزیس و بیماری باکتریایی کلیه در ماهیان سردابی پرورشی مورد تأیید این سازمان است (۸،۲۸).

این آنتی بیوتیک دارای خاصیت باکتریواستات وابسته به دوز بوده و با پیوستن به زیر واحد  $50S$  ریبوزوم‌های باکتری‌های حساس موجب مهار آنزیم پپتیدیل ترانسفراز گشته، در نتیجه باعث توقف انتقال اسید آمینه به زنجیره‌های پپتیدی در حال شکل‌گیری می‌گردد. بنابراین جزء گروه آنتی بیوتیک‌های مهارکننده سنتز پروتئین به شمار می‌رود (۳۱). با توجه به اینکه، اثرات دارو به طور مستقیم به غلظت آن در محل ایجاد عفونت بستگی دارد و با توجه به نفوذ قابل قبول این آنتی بیوتیک به بافت‌های هدف و در نتیجه رسیدن به دوز اثر گذار این دارو در محل آسیب به‌وسیله گردش خون، عملکرد بسیار مناسبی دارد (۳۸). ماهیت شیمیایی دارو به صورت محلول در چربی و دارای pH اسیدی است. زیست‌فراهمی آن نظیر کلرامفنیکل بسیار بالا و معادل ۹۶/۵ درصد تعیین شده است. بنابراین برای رسیدن به اهداف بالینی، انتشار دارو رضایت بخش بوده و با توجه به حجم انتشار قابل توجه، مقدار بافتی آن با مقدار پلاسمایی‌اش برابر است. نیمه عمر حذفی برابر با ۱۲/۲ ساعت حاکی از این است که نیاز به تجویز روزانه دارد (۷،۳۶). با توجه به اینکه فلورفینیکل و تیمافنیکل در مقایسه با آنالوگ بنیادین خود به نام کلرامفنیکل، در ساختمان ملکولی به جای نیترو ( $NO_2$ ) دارای متیل سولفانات ( $SO_2-CH_3$ ) هستند، این برتری را دارند که خطراتی مانند نارسایی مغز استخوان (Myelosuppression) و آنمی آپلاستیک در انسان ناشی از باقیمانده دارویی را ایجاد نکنند. مورد اخیر به عنوان جدی‌ترین عارضه مصرف کلرامفنیکل مطرح بوده و ضمن نادر بودن رخداد آن، با توقف مصرف دارو کاملاً برگشت پذیر است (۷،۱۸). گفته شده که این آنتی بیوتیک دارای اثر ضد میکروبی نیرومندی بوده و فاقد مهارکنندگی تولید یاخته‌های خونی برخلاف همتایان خود است (۳۸).

۱۰۷×۸۷/۲ واحد تشکیل پرگنه بر میلی لیتر در نظر گرفته شدند. همچنین زمان آغاز دوره درمانی، در پی مشاهده علائم بالینی و همچنین تشخیص باکتری از کلیه ماهیان چالش داده شده، در پایان روز سوم برای تیمارهای C+/T+ مقرر گردید.

**نمونه برداری:** پس از پایان دوره آزمایش، ماهیان با استفاده از دوز ۱۰۰ قسمت در میلیون از ماده MS-222 بیهوش شده و خون گیری با استفاده از سرنگ های ۲ میلی لیتر از سیاهرگ ساقه دمی آنها انجام شد. بخشی از نمونه خونی توسط لوله های مویینه برداشت شده که با استفاده از خمیر هماتوکریت (Labteron) ته لوله ها بسته شد و بلافاصله برای اندازه گیری هماتوکریت بکار رفتند. بخش عمده نمونه خونی در تیوب های محتوی EDTA ریخته شده و برای اندازه گیری سایر شاخص های خونی مورد استفاده قرار گرفت.

**سنجش شاخص های خونی:** به منظور اندازه گیری میزان هماتوکریت (PVC) لوله های مویینه محتوی خون به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰ گرم (۳۰) با میکروهماتوکریت سانتریفیوژ شدند، سپس این شاخص با استفاده از صفحه مدرج اندازه گیری گردیده و به صورت درصد بیان گردید (۱۹). اندازه گیری هموگلوبین به روش Cyanmethemoglobin (۵) و با استفاده از یک کیت تجاری (پارس آزمون، ایران) انجام شد. به طور خلاصه، مقدار ۲۰ میکرولیتر خون دارای ضد انعقاد با ۵۰ میلی لیتر محلول درابکین مخلوط شده و به مدت ۱۰ دقیقه در شرایطی که از برخورد نور محافظت می شد، قرار داده شد. در نهایت مقادیر تراکم نوری (OD) در طول موج ۵۴۰ نانومتر با استفاده از یک دستگاه اسپکتروفتومتر UV/VIS (مدل ۷۰۴، شرکت Hitachi، ساخت ژاپن) خوانده شد. شمارش یاخته های خونی پس از تهیه گسترش خونی با بکارگیری روش هماتوسایتومتر نئوبار بر مبنای روش استاندارد آسیب شناسی درمانگاهی (۳۴) انجام شد. سایر شاخص های گویچه های سرخ نظیر هموگلوبین متوسط آنها (MCH)، حجم متوسط گلبولی (MCV) و غلظت متوسط هموگلوبین (MCHC) نیز بر اساس معادلات ارائه شده توسط Grant در سال ۲۰۱۵ بدست آمدند (۱۱):

$$\text{MCH (pg)} = [\text{Hb/RBC (per million)}] \times 10 \quad (\text{معادله ۱})$$

$$\text{MCV (fl)} = [\text{PVC/RBC (per million)}] \times 10 \quad (\text{معادله ۲})$$

$$\text{MCHC (\%)} = (\text{MCH/MCV}) \times 100 \quad (\text{معادله ۳})$$

**آنالیز آماری داده ها:** جهت آنالیز آماری نتایج بدست آمده از سنجش پارامترهای هماتولوژیک ماهی قزل آلا رنگین کمان در پی عفونت تجربی و دارودرمانی، از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۰) بهره گرفته

اکسیژن محلول در طول دوره آزمایش به ترتیب بر روی مقادیر  $16/5(0 \pm 5)$  درجه سانتی گراد و  $5/57$  میلی گرم بر لیتر تنظیم شدند.

**طرح آزمایشی:** آزمایش در یک بلوک کاملاً تصادفی طراحی شده و دارای ۶ تیمار (با ۳ تکرار) به شرح: (۱) بدون چالش عفونی/ بدون دارودرمانی (C-/T-)، (۲) بدون چالش عفونی/ تحت دارودرمانی (C-/T+)، (۳) چالش داده شده با *L. garvieae*/ بدون دارودرمانی (L. g C+/T-)، (۴) چالش داده شده با *S. iniae*/ بدون دارودرمانی (S. i C+/T-)، (۵) چالش داده شده با *L. garvieae*/ تحت دارودرمانی (L. g C+/T+)، (۶) چالش داده شده با *S. iniae*/ تحت دارودرمانی (S. i C+/T+) بودند. چالش عفونی از طریق تزریق صفاقی (IP) نسبتی از دوزهای LD50 پاتوژن ها به صورت جداگانه که پیش تر توسط یک پایلوت مشخص شده بود، صورت گرفت. دوره درمانی در گروه های چالش داده شده، با استفاده از خوراک آغشته به فلورفنیکل (به مقدار ۲/۵ درصد وزن بدن و یک بار در روز) با نام تجاری آکوافلور (Aquaflo<sup>®</sup> 50%, Rooyan Darou, Iran) صورت گرفت. دوز مصرفی ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن برای ۱۰ روز متوالی تعیین شد که در دامنه مجاز FDA قرار دارد (۹).

**پاتوژن ها و تعیین LD50:** دوزهای مورد استفاده در چالش عفونی از طریق تعیین میانه دوز کشنده (LD50) باکتری ها بدست آمدند. بدین منظور، از منبع باکتری های *S. iniae* و *L. garvieae* که پیش تر از ماهیان پرورشی بیمار ارسال شده به بخش بهداشت و بیماری های آبزیان دانشکده دامپزشکی دانشگاه شیراز جداسازی و شناسایی شده بودند (۲، ۲۹) برداشت شده و در محیط BHA به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد کشت داده شدند و سپس باکتری های رقیق شده در محلول PBS استریل، از طریق لام نئوبار (هموسایتومتر) زیر میکروسکوپ نوری (×۴۰) شمرده شدند و رقت های متوالی از  $10^2$  الی  $10^9$  واحد تشکیل پرگنه بر میلی لیتر تهیه گردید (۲). تلقیح ماهیان از طریق تزریق صفاقی به حجم ۲۰۰ میکرولیتر از رقت های مختلف باکتری ها و ۲۰۰ میکرولیتر PBS استریل (گروه شاهد) و بعد از اعمال بیهوشی به روش غوطه وری، با استفاده از غلظت ۳۰ قسمت در میلیون تریکائین متان سولفونات (MS-222) انجام شد. در طی دوره آزمایش پایلوت میزان تلفات ماهیان در ۴ روز متوالی ثبت شدند و محاسبه LD50 هر یک از پاتوژن ها از طریق رگرسیون پروبیت انجام شد. بر اساس نتایج این پایلوت، دوزهای تزریقی مناسب پاتوژن ها در آزمایش اصلی برای گروه های چالش داده شده با باکتری های لاکتوکوکوس گارویه (*L. g C+*) و استرپتوکوکوس اینیایی (*S. i C+*) معادل ۳۰ درصد میزان LD50 ۹۶ ساعته به ترتیب  $6/8 \times 10^5$  و

( $P < 0.05$ ). در مورد شاخص MCHC هیچ تفاوت آماری بین گروه‌های مختلف آزمایشی مشاهده نگردید ( $P > 0.05$ ) (جدول ۱).

یافته‌های مربوط به شمارش کلی و افتراقی گویچه‌های سفید نشانگر این بود که تعداد کل این گویچه‌ها به ازای یک میلی‌لیتر خون جانوران آزمایشی تحت چالش عفونی افزایش یافته است ( $P < 0.05$ ). اثر سرکوبی آنتی بیوتیک در تولید یاخته‌های ایمنی در مقایسه آماری گروه‌های بیمار شده تجربی که دارودرمانی شدند با آن‌هایی که فلورفنیکل دریافت نکردند، قابل مشاهده است ( $P < 0.05$ )، ولی در تیمارهای ماهیان سالم تفاوتی بین دریافت‌کنندگان دارو با شاهد وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). از منظر شمارش افتراقی این یاخته‌ها، این نکته قابل دریافت است که مصرف روزانه فلورفنیکل به مدت ۱۰ روز متوالی در دوز اشاره شده، توانسته سبب کاهش معنی‌دار تعداد لنفوسیت‌های خون شود ( $P < 0.05$ ). بررسی یاخته‌های نارس آن‌ها (لنفوبلاست‌ها) سبب تأیید این فرضیه شده است. از سوی دیگر به نظر می‌رسد که تعداد مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سایر یاخته‌های مربوط به ایمنی ذاتی در پی دریافت دوزاژ دارویی به طور معنی‌داری افزایش یافتند ( $P < 0.05$ ) (جدول ۲).

شد. برای پی بردن به وجود اختلاف آماری بین گروه‌های آزمایشی از تجزیه واریانس استفاده شده و برای یافتن تفاوت‌های موجود بین میانگین‌های هر یک از پارامترهای خونی در تیمارها، تست تعقیبی دانکن بکار گرفته شد.

## نتایج

نتایج بدست آمده از این مطالعه نشان داد که درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین خون ماهیان در گروه‌های دریافت‌کننده دارو نسبت به گروه شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافته است ( $P < 0.05$ ). از سوی دیگر، هیچ تفاوت آماری بین گروه‌های چالش‌داده شده با پاتوژن‌های مختلف وجود نداشت ( $P > 0.05$ ). از نظر تعداد گویچه‌های سرخ مشاهده شده، مصرف خوراکی فلورفنیکل سبب شده تا میزان این شاخص نسبت به کنترل به طور معنی‌داری کمتر باشد. عفونت ناشی از عوامل استرپتوکوکوسی و لاکتوکوکوسی نیز سبب کاهش معنی‌دار تعداد این گویچه‌ها شده و یک اثر هم‌افزایی نیز در اثر مصرف دارو در ماهیان تحت چالش عفونی دیده شد ( $P < 0.05$ ). این در حالی است که نتایج مربوط به نسبت‌های مبتنی بر گویچه‌های سرخ حاکی از این بودند که شاخص‌های MCH و MCV در گروه‌های مصرف‌کننده آنتی بیوتیک به طور معنی‌داری نسبت به سایر گروه‌ها افزایش یافته است.

جدول ۱. مقادیر شاخص‌های خونی مبتنی بر گویچه‌های سرخ در قزل‌آلای رنگین کمان تحت درمان خوراکی فلورفنیکل.

تیمار	هماتوکریت (درصد)	هموگلوبین (گرم در دسی‌لیتر)	گویچه سرخ (۱۰ <sup>۶</sup> در میلی‌لیتر)	MCH (پیکوگرم)	MCV (فمتولیت)	MCHC (درصد)
C-/T-	۳۲/۳۳±۲/۰۸ <sup>a</sup>	۵/۹۴±۰/۵۳ <sup>a</sup>	۱/۷۰±۰/۰۶ <sup>a</sup>	۳۴/۹۹±۲/۰۸ <sup>c</sup>	۱۹۰/۶۱±۱/۸۳ <sup>d</sup>	۱۸/۵±۲/۷ <sup>a</sup>
C-/T+	۲۷/۳۳±۱/۱۵ <sup>b</sup>	۴/۷۳±۰/۴۷ <sup>b</sup>	۰/۸۹±۰/۱۱ <sup>c</sup>	۵۳/۱۳±۱/۵۰ <sup>a</sup>	۳۰۸/۳۵±۸/۵۶ <sup>a</sup>	۱۷/۳±۱/۲ <sup>a</sup>
L, g C+/T-	۲۳/۳۳±۱/۵۲ <sup>c</sup>	۴/۸۳±۰/۸۵ <sup>b</sup>	۱/۱۰±۰/۰۶ <sup>b</sup>	۴۳/۴۹±۵/۱۲ <sup>b</sup>	۲۱۱/۸۰±۲/۵۸ <sup>cd</sup>	۲۰/۸±۴/۸ <sup>a</sup>
S, i C+/T-	۲۵/۰۰±۱/۷۳ <sup>bc</sup>	۴/۸۰±۰/۲۱ <sup>b</sup>	۰/۹۹±۰/۰۹ <sup>bc</sup>	۴۸/۷۵±۵/۷۳ <sup>ab</sup>	۲۵۳/۸۶±۳/۷۸ <sup>bc</sup>	۱۹/۳±۱/۷ <sup>a</sup>
L, g C+/T+	۲۳/۳۳±۱/۱۵ <sup>c</sup>	۳/۹۱±۰/۳۰ <sup>b</sup>	۰/۷۳±۰/۰۶ <sup>d</sup>	۵۳/۵۷±۵/۲۴ <sup>a</sup>	۳۱۹/۰۸±۱۴/۷۹ <sup>a</sup>	۱۶/۸±۱/۵ <sup>a</sup>
S, i C+/T+	۲۵/۰۰±۱/۰۰ <sup>bc</sup>	۴/۰۶±۰/۱۳ <sup>b</sup>	۰/۸۶±۰/۰۶ <sup>cd</sup>	۴۶/۹۸±۳/۱۲ <sup>ab</sup>	۲۸۹/۹±۱۰/۳۱ <sup>ab</sup>	۱۶/۳±۰/۶ <sup>a</sup>

\*حروف مختلف (a, b, c و ...) در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ).

جدول ۲. تعداد کل و افتراقی گویچه‌های سفید در قزل‌آلای رنگین کمان تحت درمان خوراکی فلورفنیکل.

تیمار	گویچه سفید (۱۰ <sup>۳</sup> در میلی‌لیتر)	لنفوسیت / لنفوبلاست (درصد)	نوتروفیل (درصد)	مونوسیت (درصد)	سایر (درصد)
C-/T-	۲/۸۱±۰/۵ <sup>c</sup>	۷۱/۸۸±۰/۶۶ <sup>a</sup>	۲۵/۱±۵/۴۵ <sup>c</sup>	۲/۳۵±۰/۰۷ <sup>c</sup>	۰/۶۱۶±۰/۱۳ <sup>b</sup>
C-/T+	۲/۸۵±۰/۴۵ <sup>c</sup>	۵۴/۸۴±۱/۲۵ <sup>c</sup>	۳۹/۷۷±۱۲/۳۴ <sup>a</sup>	۴/۳۷±۰/۸ <sup>a</sup>	۰/۹۴۲±۰/۰۶ <sup>a</sup>
L, g C+/T-	۶/۰۰±۳/۷۷ <sup>a</sup>	۷۱/۷۸±۱/۰۵ <sup>a</sup>	۲۴/۴۶±۷/۰۴ <sup>c</sup>	۳/۱۳±۰/۰۵ <sup>b</sup>	۰/۵۹۶±۰/۰۴ <sup>b</sup>
S, i C+/T-	۶/۳۰±۱/۵۲ <sup>a</sup>	۶۵/۴۷±۱/۶۰ <sup>b</sup>	۳۰/۴۳±۱۲/۱۳ <sup>b</sup>	۳/۵۵±۰/۵۸ <sup>b</sup>	۰/۵۰۳±۰/۰۲ <sup>b</sup>
L, g C+/T+	۴/۵۳±۲/۸۴ <sup>b</sup>	۵۸/۲۳±۱/۸۰ <sup>c</sup>	۳۵/۵۳±۱۰/۷۰ <sup>a</sup>	۵/۱۴±۱/۴۸ <sup>a</sup>	۱/۰۷۵±۰/۳۹ <sup>a</sup>
S, i C+/T+	۴/۱۱±۰/۸۸ <sup>b</sup>	۵۷/۳۵±۰/۷۰ <sup>c</sup>	۳۶/۸۵±۱۱/۳۵ <sup>a</sup>	۴/۹۱±۰/۹۶ <sup>a</sup>	۰/۸۴۵±۰/۲۵ <sup>ab</sup>

\*حروف مختلف (a, b, c و ...) در هر ستون نشان دهنده تفاوت آماری معنی‌دار در بین گروه‌های آزمایشی است ( $P < 0.05$ ).

## بحث

مختلفی از جمله افزایش نفوذپذیری مویرگی و افزایش نرخ فاگوسیتوز لوکوسیت‌ها روی گویچه‌های سرخ باشد. به علاوه، القای عفونت پاتوژن‌های مورد بررسی (*S. iniae* و *L. garvieae*) به ماهیان آزمایشی سبب شد تا گویچه‌های سفید نیز به شکل کلی و نیز افتراقی افزایش معنی‌داری داشته باشند، که تحقیقات زیادی می‌توانند این یافته‌ها را پشتیبانی کنند. به طوری که بازتولید گرانولوسیت‌ها در خون به افزایش نرخ فاگوسیتوزی و کموتاکسی در استرپتوکوکوزیس / لاکتوکوکوزیس شده است (۲۵، ۲۰، ۱).

بسیاری از آنتی بیوتیک‌ها بر فراوانی و عملکرد لوکوسیت‌ها اثرگذار هستند و برخی از این داروها مستقیماً سبب رفع التهاب تجربی در جانوران می‌شوند. تاکنون بیشترین تحقیقات بر روی ماکرولیدها، کینولون‌ها و سایکلین‌ها انجام شده است (۲۴). یافته‌های تحقیق حاضر نشان داد که مصرف روزانه فلورفنیکل (۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به مدت ۱۰ روز متوالی، منجر به کاهش لوکوسیت‌های خون (شمارش کلی)، لنفوسیت‌ها و لنفوبلاست‌های ماهی قزل‌آلای رنگین کمان می‌شود. تحقیقات نشان داده است که رفتار لنفوسیت‌ها بسته به منشأ آن‌ها می‌تواند در مواجهه با آنتی بیوتیک فلورفنیکل اثرپذیری متفاوتی داشته باشد. به طوری که لنفوسیت‌های T در خون موش‌ها دریافت‌کننده دارو افزایش یافته ولی لنفوسیت‌های تکوین یافته از سلول‌های بنیادین مغز استخوان روند کاهشی را با افزوده شدن به دوز مصرفی آنتی بیوتیک تجربه کردند (۲۱، ۱۲). به نظر می‌رسد که نویا یاخته-های (Progenitor cell) لنفوسیت‌ها در مغز استخوان پستانداران و یا راس کلیه (و طحال) ماهیان استخوانی به طور غیرمستقیم تحت تاثیر بتالاکتام‌ها، کلرامفنیکل و داپسون قرار می‌گیرند و تولید لنفوبلاست‌ها را محدود می‌کنند، که کاهش تولید یاخته‌های بالغ را در پی دارد (۲۷).

نتایج تحقیق حاضر نشان از افزایش فراوانی مونوسیت‌ها، نوتروفیل‌ها و سایر گرانولوسیت‌ها به دنبال مصرف فلورفنیکل با دوز اشاره شده داشت. در مورد نوتروفیل‌ها، کاهش تعداد این سلول‌ها در پی مصرف ۱۰ روزه دوز بالاتر (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) این آنتی بیوتیک را در قزل‌آلا (۲۲) و تیلپیا (۴) گزارش شده است که با نتایج تحقیق ما مغایرت دارد که شاید به دلیل تفاوت در دوز مصرفی باشد. در واقع مطالعات اشاره شده تلویحاً اثرات ضد التهابی فلورفنیکل را نشان می‌دهند به طوری که نوتروفیل‌ها در دفاع از بدن به ویژه علیه باکتری‌ها یک عنصر حیاتی

یافته‌های تحقیق مبین کاهش معنی‌دار درصد هماتوکریت و میزان هموگلوبین و همچنین تعداد گویچه‌های سرخ خون ماهیان در گروه‌های دریافت‌کننده دارو نسبت به گروه شاهد بودند. این نتایج مطابقت زیادی با یافته‌های تحقیق Badr در سال ۲۰۱۲ دارد، به طوری که شاخص‌های وابسته به گویچه‌های سرخ تیلپایی نیل در پی مصرف فلورفنیکل کاهش یافتند (۴). اثبات شده است که مصرف کلرامفنیکل می‌تواند سبب بروز نارسایی مغز استخوان در انسان و مدل‌های جانوری گردد و خود منجر به سرکوب تولید همه یاخته‌های خونی از جمله گویچه‌های سرخ می‌شود (۳۶). همانطور که گفته شد تغییر در ساختار شیمیایی کلرامفنیکل، از این عارضه جلوگیری کرده و باعث شد مصرف فلورفنیکل در مدل‌های جانوری خطر کمتری برای آن‌ها و همچنین مصرف‌کننده به دنبال داشته باشد (۱۸). از سوی دیگر، با توجه به اینکه در ماهیان استخوانی جایگاه تولید یاخته‌های خونی همانند نوادگان فرگشتی خود همچون پستانداران، در مغز استخوان نبوده و عمدتاً در راس کلیه و طحال است (۳۳)، بر اساس نتایج تحقیق پیش رو، احتمالاً فلورفنیکل از طریق مکانیسم جداگانه‌ای نسبت به کلرامفنیکل سبب سرکوب تولید گویچه‌های سرخ و در نتیجه کاهش تعداد آن‌ها در خون شده است. متیل سولفانات اثر منفی بر روی رشد اریتروبلاست‌های هسته‌دار در پستانداران داشته و روند تکوینی آن‌ها را به تأخیر می‌اندازد (۳۲). اما واجد هسته بودن گویچه‌های سرخ بالغ ماهیان در خون محیطی سبب می‌شود تا تکوین اریتروبلاست ماهیان به نحوی دیگری باشد (۳۷). بنابراین ممکن است جایگزینی نیترو در ساختار شیمیایی این رده از آنتی بیوتیک‌ها (فنیکل‌ها) تغییری در اثرپذیری اریتروبلاست‌ها ایجاد نکند. همچنین به نظر می‌رسد که افزایش شاخص‌های MCV و MCH حاکی از یک مکانیسم جبرانی در جهت حفظ بقا در ماهیانی که دچار کم خونی ناشی از مصرف این آنتی بیوتیک شده‌اند، باشد.

کاهش معنی‌دار در میزان هماتوکریت و تعداد گویچه‌های سرخ خون در هنگام آلودگی با پاتوژن‌ها به ویژه در مورد لاکتوکوکوس گارویه مشاهده شد که در مطابقت با تحقیق Tavakoli و Akhlaghi در سال ۲۰۰۹ است، که پیش‌تر اثرات عفونت تجربی باکتری گرم منفی *Aeromonas hydrophila* روی شاخص‌های خونی ماهی قزل‌آلای رنگین کمان را بررسی کرده بود (۳۵). کاهش این شاخص‌ها در اثر عفونت می‌تواند ناشی از دلایل



به دنبال تجویز این دوزاژ از آنتی بیوتیک سرکوب می‌شود. بنابراین، یافتن و پیشنهاد یک دوزاژ بالینی که بتواند تمامی شاخص‌های ایمنی را در وضعیت بهینه نگهدارند، می‌تواند مفید و کاربردی باشد. به نظر می‌رسد که مسئله ایجاد آنتی در ماهی به دنبال مصرف فلورفنیکل کماکان وجود دارد. بنابراین توصیه می‌شود، مصرف این آنتی بیوتیک از نظر دوزاژ با دقت بیشتری انجام شده و در صورت کاهش تلفات و بهبود علائم درمانگاهی از سطوح پایین‌تر دامنه مجاز مصرفی از نظر FDA برای درمان استفاده شود. همچنین برای پیشگیری از تلفات ناشی از هیپوکسی و خفگی احتمالی تا پایان دوره درمان (۱۰ روزه)، هوادهی به طور ویژه برای تانک‌ها انجام شده و به جز زمان دارودرمانی از خوراک دهی به ماهیان در سایر زمان‌ها خودداری شود.

### سپاسگزاری

بدین وسیله از آقای محمد سعید فریدونی به پاس همکاری و همفکری ارزنده ایشان در این تحقیق قدردانی می‌شود.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

هستند و انتشار آن‌ها همراه با دیگر میانجی‌های التهاب سبب می‌شود تا تولید اکسیدانت‌ها نظیر هیدروژن پروکساید نیز افزایش یابد (۱۶). این در حالی است که تحقیقات نشان داده بتالاکتام‌ها و تتراسایکلین‌ها می‌توانند عوامل ایجادکننده انفجار تنفسی را در گرانولوسیت‌های چندهسته‌ای مهار کنند ولی فنیکل‌ها اینگونه نیستند. کلرامفنیکل و تیمافنیکل با افزایش فراوانی این یاخته‌های فاگوسیت‌کننده و تولید HOCl در آن‌ها به ارتقاء دفاع ذاتی کمک می‌کنند (۱۷). این بهبود عملکرد می‌تواند از طریق اُپسونیزاسیون بواسطه کمپلمان و یا ایمونوگلوبولین و سپس فاگوسیت شدن باکتری‌های اُپسونیزه شده منجر به تحریک انفجار تنفسی ناشی از تولید اکسیدانت‌ها شود (۱۷، ۲۴). این در حالی است که سایر رده‌های عوامل ضد باکتریایی نظیر ماکرولیدها و کینولون‌ها با استفاده از کاهش تولید گرانولوسیت‌ها رفع التهاب طولانی مدت را تسهیل می‌نمایند (۲۴، ۲۷).

به‌عنوان نتیجه‌گیری، با توجه به افزایش فراوانی یاخته‌هایی نظیر نوتروفیل و مونوسیت، مصرف خوراکی فلورفنیکل توانسته است سبب بهبود ایمنی ذاتی به ویژه از طریق افزایش فاگوسیتوز شود. گرچه ظاهراً ایمنی اختصاصی (حاصل از لنفوسیت‌های B) قزل‌آلا

## References

- Akbary, P., Mirvaghefi, A.R., Akhlagi, M., Fereidouni, M.S. (2015). Influence of Maternal and Larval Immunisation against *Lactococcus garviae* Infection in Rainbow Trout *Oncorhynchus mykiss* (Walaum) Lysozyme Activity and IgM Level. *Open J Anim Sci*, 5, 258-269. <http://dx.doi.org/10.4236/ojas.2015.53030>
- Akhlaghi, M., Mahjor, A.A. (2004). Some histopathological aspects of streptococcus cultured rainbow trout. *B Eur Assoc Fish Pathol*, 24, 132-136. <https://doi.org/10.1111/jfd.12775>
- Alishahi, M., Soltani, M., Zargar, A. (2009). Bacteriological study of Grass carp (*Ctenopharyngodon idella*) mortality in Khuzestan province. *Iran Vet J*, 5, 25-34. [In Persian]
- Badr, M.O.T., Hashem, M.A., Elmandrawi, S.A. (2012). Clinicopathological studies on some antibiotics used in Nile tilapia with *Streptococcus iniae*. *J Am Sci*, 8, 1057-1070.
- Blaxhall, P.C., Daisley, K.W. (1973). Routine haematological methods for use with fish blood, *J Fish Biol*, 5, 771-781.
- Branson, E.J. (1998). Rainbow trout fry syndrome: an update. *Fish Vet J*, 2, 63-66.
- De Ocenda, V.R., Almeida-Prieto, S., Luzardo-Álvarez, A., Barja, J.L., OteroEspinosa, F.J., Blanco-Méndez, J. (2016). Pharmacokinetic model of florfenicol in turbot (*Scophthalmus maximus*): establishment of optimal dosage and administration in medicated feed. *J Fish Dis*, 98, 12-20. <https://doi.org/10.1111/jfd.12525> PMID: 27502011
- Food & Drug Administration of the United States. (2011). *Judicious use of Florfenicol and Other Antibiotics*. (1<sup>st</sup> ed.) Aquaculture Drug Approval Coordination Workshop, New Hampshire, U.S.A.
- Food & Drug Administration of the United States. (2014). *FDA-Approved Drugs for Aquaculture in the USA*. (5<sup>th</sup> ed.) US.FDA, Kenilworth N.J., U.S.A.
- Fukui, H., Fujihara, Y., Kano, T. (1986). *In vitro* and *in vivo* antibacterial activities of florfenicol, a new fluorinated analog of thiamphenicol, against fish pathogens. *Fish Pathol*, 22, 201-207. <https://doi.org/10.3147/jsfp.22.201>
- Grant, K. R. (2015). Fish Hematology and associated disorders. *Vet Clin Exot Anim*, 18, 83-103.
- Guan, S., Lu, J., Shen, X., Qian, W., Liu, J., Deng, X. (2011). Florfenicol impairs the immune responses to vaccination against foot-and-mouth disease in mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 33, 609-613. <https://doi.org/10.3109/08820139.2010.551434>
- Hassanin, O., Abdallah, F., Awad, A. (2014). Effects of florfenicol on the immune responses and the interferon-inducible genes in broiler chickens under the impact of *E.coli* infection. *Vet Res Commun*, 38, 51-58. <https://doi.org/10.1007/s11259-013-9585-7>
- Inglis, V., Richards, R.H., Varma, K., Sutherland, I.H., Brokken, E.S. (1991). Florfenicol in Atlantic salmon, *Salmo salar* L, Parr: tolerance and assessment of efficacy against furunculosis. *J Fish Dis*, 14, 343-351. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2761.1991.tb00831.x>

15. Khalifeh, M.S., Amawi, M.W., Abu-Basha, E.A., Bani Yonis, I. (2009). Assessment of humoral and cellular-mediated immune response in chickens treated with tilmicosin, florfenicol, or enrofloxacin at the time of Newcastle disease vaccination. *Poult Sci*, 88, 2118-2124. <https://doi.org/10.3382/ps.2009-00215>
16. Kobayashi, S.D., Voyich, J.M., DeLeo, F.R. (2003). Regulation of the neutrophil-mediated inflammatory response to infection. *Microb Infect*, 5, 1337-44. PMID: [14613777](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14613777/)
17. Labro, M-T. (2005). Antimicrobial agents and oxidative burst. In: *Antibiotics as Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Agents*. Rubin, B.K., Tamaoki, J. (eds.). Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. p. 87-106.
18. Labro, M-T. (2012). Immunomodulatory effects of antimicrobial agents. Part I: antibacterial and antiviral agents. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 10, 319-340. <https://doi.org/10.1586/eri.12.11>
19. Larsen, H.N., Snieszko, S.F. (1961). Modification of the microhematocrit technique with trout blood. *Trans Am Fish Soc*, 90, 139-142.
20. Liaghat, M., Akhlaghi, M., Hosseini, A., Nematollahi, A., Hosseini, S.M. (2011). Humoral and non-specific immune responses in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) naturally exposed to and immunized with *Streptococcus iniae*. *Int J Vet Res*, 5, 218-224.
21. Lis, M., Szczycka, M., Suszko, A., Światała, M., Obmińska-Mrukowicz, B. (2011). The effects of florfenicol on lymphocyte subsets and humoral immune response in mice. *Polish J Vet Sci*, 14, 191-198. PMID: [21721401](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21721401/)
22. Maklakova, M.E., Kondratieva, I.A., Mikhailova, E.S., Stupin, R.V., Khapchaev, Sh., Kasumyan, A.O. (2011). Effect of antibiotics on immunophysiological status and their taste attractiveness for rainbow trout *Parasalmo* (= *Oncorhynchus mykiss* (Salmoniformes, Salmonidae)). *J Ichthyol*, 51, 11, 1133-1142. <https://doi.org/10.1134/S00329452111110063>
23. Meinertz, J.R. (2011). Depletion of florfenicol amine from the fillet tissue of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) maintained in a recirculating aquaculture system and treated with Aquaflor® medicated feed. *Online J Up Mid Environ Sci Centre*, 2, 13-18.
24. Parnham, M.J. (2005). Antibiotics, Inflammation and its resolution: An overview. In: *Antibiotics as Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Agents*. Rubin, B.K., Tamaoki, J. (eds.). Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. p. 27-48.
25. Pérez-Sánchez, T., Balcázar, J.L., Merrifield, D.L., Carnevali, O., Gioacchini, G., de Blas, I., Ruiz-Zarzuola, I. (2011). Expression of immune-related genes in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) induced by probiotic bacteria during *Lactococcus garvieae* infection. *Fish Shellfish Immunol*, 31, 196-201. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2011.05.005>
26. Reda, R.M., Ibrahim, R.E., Ahmed, E.N.G., El-bouhy, Z.M. (2013). Effect of oxytetracycline and florfenicol as growth promoters on the health status of cultured *Oreochromis niloticus*. *Egypt J Aquat Res*, 39, 241-248. <https://doi.org/10.1016/j.ejar.2013.12.001>
27. Rubin, B.K. Henke, M.O., Dalhoff, A. (2005). Anti-inflammatory properties of antibiotics other than macrolides. In: *Antibiotics as Anti-Inflammatory and Immunomodulatory Agents*. Rubin, B.K., Tamaoki, J. (eds.). Birkhäuser Verlag, Basel, Switzerland. p. 247-268.
28. Schering-Plough Animal Health Corp. (2005). Freedom of Information Summary, Original New Animal Drug Application, AQUAFLO® Type A Medicated Article (florfenicol), An Antibiotic, For the Control of Mortality in Catfish Due to Enteric Septicemia of Catfish Associated with *Edwardsiella ictaluri*. (3<sup>rd</sup> ed.) NADA 141-246. p. 5-16.
29. Sharifiyazdi, H., Akhlaghi, M., Tabatabaei, M., Mostafavi Zadeh, S.M. (2010). Isolation and Characterization of *Lactococcus garvieae* from diseased rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) cultured in Iran. *Iran J Vet Res*, 11, 342-350. <https://doi.org/10.22099/ijvr.2010.105>
30. Shiry, N., Khoshnoodifar, K., Mirvaghefi, A.R. (2014). Toxicity and impacts of Malathion on some blood indices in Caspian common carp (*Cyprinus carpio*). *J Fish Sci Technol*, 3, 1-11. [In Persian]
31. Shiry, N., Shomali, T., Soltanian, S., Akhlaghi, M. (2018). Comparative single-dose pharmacokinetics of orally administered florfenicol in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*, Walbaum, 1792) at health and experimental infection with *Streptococcus iniae* or *Lactococcus garvieae*. *J Vet Pharmacol Ther*, 41, 51-64. <https://doi.org/10.1111/jvp.12736>
32. Shu, X., Gao, Y., Linet, M., Gao, R.N., Gao, U.T., Brinton, L.A., Jin, F., FraumeniJR, J.F. (1987). Chloramphenicol use and childhood leukaemia in Shanghai. *Lancet*, 8565, 934-937.
33. Soltani, M. (2009). *Immunology of Fish and Crustaceans* (1<sup>st</sup> ed.). University of Tehran Press, Tehran, Iran. [In Persian]
34. Stopskopf, M. (1993). *Clinical Pathology*. In *Fish Medicine*. M Stopskopf, WB. (ed.). Saunders Company, Philadelphia, USA. p. 113-131.
35. Tavakoli, H., Akhlaghi, M. (2009). Study of lysozyme, immunoglobulin, blood cell and hematocrit changes following experimental infection with apathogenic *Aeromonas hydrophila* in rainbow trout. *J Vet Res*, 64, 157-162.
36. Treves-Brown, K.M. (2000). *Applied Fish Pharmacology*, Aquaculture Series (volume 3) (1<sup>st</sup> ed.). Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands.
37. Walsh, P.J., Wood, C.M., Moon, T.W. (1990). Red blood cell metabolism. In: *Fish Respiration*. Perry, S.F., Tufts, B. (eds.). Academic Press. San Diego, USA. p. 41-69.
38. Wang, L., Han, Y., Jin, S., Ma, Y., Wang, G., Zhao, Q., Chen, Y. (2015). Pharmacokinetic study of florfenicol in healthy and vibriosis-infected *Pseudosciaena crocea* after oral administration. *J Appl Biol Chem*, 58, 363-368. <https://doi.org/10.3839/jabc.2015.057>
39. Yanez, A.J., Valenzuela, K., Matzner, C., Olavarria, V., Figueroa, J., Avendaño-Herrera, R., Carcamo, J.G. (2013). Broth microdilution protocol for minimum inhibitory concentration (MIC) determinations of the intracellular salmonid pathogen *Piscirickettsia salmonis* to florfenicol and oxytetracycline. *J Fish Dis*, 12, 1-5. <https://doi.org/10.1111/jfd.12144>



## Effects of Oral Administration of Florfenicol on Some Hematological Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Challenged with Streptococcosis/Lactococcosis Agents

Nima Shiry<sup>1</sup>, Siyavash Soltanian<sup>1</sup>, Tahoor Shomali<sup>2</sup>, Reza Salighehzadeh<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

<sup>2</sup> Department of Basic Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran

doi 10.22059/jvr.2019.273876.2890

Received: 10 March 2020, Accepted: 19 May 2020

### Abstract

**BACKGROUND:** Antimicrobial agents can alter physiological status and immunity system of the host, and use of hematological indices are the appropriate marker for monitoring them.

**OBJECTIVES:** The present study intended assessment of changed hematological indices of rainbow trout challenged with streptococcosis/lactococcosis agents following oral administration of florfenicol.

**METHODS:** The purchased fish ( $55 \pm 7.5$  g) were examined through a randomized blocks design in the replicated 6 treatments consisting of without/with the infectious challenge of each pathogen separately and without/with medicated feeding in  $15 \text{ mg/kg}^{-1}$  BW for 10 consecutive days. Doses of *Streptococcus iniae* ( $2.87 \times 10^7$  CFU/ml) and *Lactococcus garvieae* ( $6.8 \times 10^5$  CFU/ml) equal to 30% of LD50 values were applied in the main experiment. At the end of trial, blood was sampled via caudal vein. Measurement of hematocrit and hemoglobin has been accomplished according to standard methods, and the number of blood cells was counted by hemacytometer.

**RESULTS:** Findings pointed out PVC%, Hb value and RBCs count of groups that received the drug were reduced significantly than control ( $P < 0.05$ ). 10-day administration of florfenicol in the mentioned dosage could cut down lymphocytes statistically ( $P < 0.05$ ). On the other hand, monocytes, neutrophils, and other blood cells were enhanced following administration of therapeutical dosage ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSIONS:** It seems that oral consumption of florfenicol could improve innate immunity, especially through enhancement of hematocytes. However, due to reduced frequency of blood lymphocytes, and as the problem of anemia in fish following drug consumption is still observed, it is recommended that in case of reduction of losses and improvement of clinical symptoms, the lowest FDA-suggested levels of the antibiotic for treatment should be used.

**Keywords:** Hematology, Rainbow trout, Florfenicol, *Streptococcus iniae*, *Lactococcus garvieae*

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: siyavashsoltanian@gmail.com Tel/Fax: 071-36138736 / 071-32286940

### How to cite this article:

Shiry, N., Soltanian, S., Shomali, T., Salighehzadeh, R. (2020). Effects of Oral Administration of Florfenicol on Some Hematological Indices of Rainbow Trout (*Oncorhynchus mykiss*) Challenged with Streptococcosis/Lactococcosis Agents. J Vet Res, 75(3), 320-327. <https://doi.org/10.22059/jvr.2019.273876.2890>

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** Hematological indices values based on red blood cells of rainbow trout following oral administration of florfenicol.

**Table 2.** Total and differential numbers of white blood cells in rainbow trout following oral administration of florfenicol.