University of Tehran Press

Journal of Veterinary Research

Homepage: jvr.ut.ac.ir

Online ISSN: 2251-6190

Research Article

Correlation and Agreement Between Human and Bovine Calprotectin ELISA Kits in Fecal Measurement of Diarrheic Calves

Saber Rouhi[1]✉, Aliasghar Chalmeh[2]✉, Mehrdad Pourjafar[2]✉, Fatemeh Khalili[3]✉, Armin Amirian[1]✉

[1] *Graduated from the School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran*
[2] *Department of Clinical Sciences, School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran*
[3] *School of Veterinary Medicine, Shiraz University, Shiraz, Iran*

***Received:** 8 Jul 2026, **Reciver in revised from:** 5 Sep 2026, **Accepted:** 12 Sep 2026, **Available online**: 21 Dec 2026*

10.22059/jvr.2026.413544.3567

J Vet Res, Volume 81, Number 4, 2026, 285-296

Abstract

BACKGROUND: Calf diarrhea is one of the most important inflammatory intestinal diseases in cattle farms. Fecal calprotectin is widely used as a non-invasive marker of intestinal inflammation in medicine, yet information on its use in calves remains limited.

OBJECTIVES: This study aimed to evaluate fecal calprotectin as an indicator of intestinal inflammation in diarrheic calves and to assess the feasibility of replacing bovine-specific kits with human kits by assessing their correlation and agreement.

METHODS: Fecal and blood samples were collected from 20 clinically healthy calves and 70 diarrheic calves (under one month of age). Sampling was repeated 72 hours after treatment. Fecal calprotectin concentrations were measured using a bovine ELISA kit (Bioassay Technology Laboratory, China) and a human ELISA kit (Pishtaz Teb Co., Iran). Serum parameters including total protein, albumin, globulin, alkaline phosphatase, gamma-glutamyl transferase, iron, and total iron-binding capacity were also evaluated. Correlation between the two kits was determined using Pearson's correlation test.

RESULTS: Calprotectin measured by the bovine kit was significantly higher in the diarrheic group than in healthy controls pre-treatment (183.32±4.22 vs. 150.03±3.41 µg/g; $P<0.05$), and this elevation persisted 72 hours post-treatment. No significant differences between groups were observed with the human kit. Pearson's correlation coefficients between the two kits were weak and non-significant in all groups (r= -0.208 to 0.156; P= 0.200–0.482). Other serum parameters showed no significant differences between the groups.

CONCLUSIONS: Fecal calprotectin, as a non-invasive marker in diarrheic calves, can effectively reflect intestinal inflammation. However, the human and bovine ELISA kits showed no acceptable correlation or agreement, and we cannot recommend using the human kit as a substitute for the bovine-specific kit.

Keywords: Calf diarrhea, Correlation and agreement, ELISA kit, Fecal calprotectin, Intestinal inflammation

Copyright © The Author(s). Publisher: University of Tehran Press Conflict of interest: The authors declared no conflict of interest.

Corresponding author: Aliasghar Chalmeh, Tel/Fax: +9871-36138810 / +9871-32286940

How to cite this article:

…

Figure Legends and Table Captions

Table 1. Values of bovine calprotectin, human calprotectin, and serum biochemical parameters in the two groups at 0 and 72 hours post-treatment. Values are presented as mean ± standard error of the mean (SEM). The asterisk (*) indicates a statistically significant difference ($P<0.05$). A paired t-test was used for within-group comparisons between two time points and the independent t-test for between-group comparisons at each time point.
Table 2. Pearson's correlation coefficients between human and bovine calprotectin kits in the two groups before and after treatment.

مجله تحقیقات دامپزشکی
Homepage: jvr.ut.ac.ir
شاپا الکترونیکی: ۶۱۹۰-۲۲۵۱
انتشارات دانشگاه تهران
مقاله پژوهشی

مقایسه عملکرد کیت‌های الایزای کالپروتکتین انسانی و گاوی در سنجش مدفوع گوساله‌های اسهالی: ارزیابی همبستگی و توافق بین دو کیت

صابر روحی[۱]، علی‌اصغر چالمه[۲]، مهرداد پورجعفر[۲]، فاطمه خلیلی[۳]، آرمین امیریان[۱]

[۱] دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[۲] گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران
[۳] دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

تاریخ دریافت: ۱۷ تیر ۱۴۰۵، **تاریخ بازنگری:** ۱۴ شهریور ۱۴۰۵، **تاریخ پذیرش:** ۲۱ شهریور ۱۴۰۵، **تاریخ انتشار:** ۳۰ آذر ۱۴۰۵

دوره ۸۱، شماره ۴، ۱۴۰۵، ۲۹۶-۲۸۵

10.22059/jvr.2026.413544.3567

چکیده

زمینه مطالعه: اسهال گوساله‌ها یکی از مهم‌ترین بیماری‌های التهابی روده در گاوداری‌ها می‌باشد. کالپروتکتین مدفوع به‌عنوان یک نشانگر غیرتهاجمی التهاب روده در پزشکی کاربرد گسترده‌ای دارد، اما اطلاعات درمورد آن در گوساله‌ها محدود است.

هدف: مطالعه حاضر با هدف ارزیابی کالپروتکتین مدفوع به‌عنوان شاخص ارزیابی التهاب روده در گوساله‌های اسهالی و بررسی امکان جایگزینی کیت انسانی با کیت گاوی ازطریق بررسی همبستگی بین این دو کیت انجام شد.

روش‌کار: از ۲۰ رأس گوساله سالم و ۷۰ رأس گوساله اسهالی (سن کمتر از ۱ ماه) نمونه مدفوع و خون گرفته شد. نمونه‌گیری ۷۲ ساعت پس از درمان مجدداً تکرار گردید. غلظت کالپروتکتین مدفوع با کیت الایزای گاوی (Bioassay Technology Laboratory, China) و کیت الایزای انسانی (پیشتاز طب، ایران) اندازه‌گیری شد. شاخص‌های سرمی، شامل پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، آلکالین فسفاتاز، گاماگلوتامیل ترانسفراز، آهن و ظرفیت تام اتصال آهن نیز ارزیابی گردیدند. همبستگی بین دو کیت با ضریب همبستگی پیرسون تعیین شد.

نتایج: کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت گاوی در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری بالاتر از کنترل بود (قبل از درمان: ۴/۲۲±۱۸۳/۳۲ در مقابل ۳/۴۱±۱۵۰/۰۳ میکروگرم بر گرم؛ $P<0/05$) و این افزایش ۷۲ ساعت پس از درمان نیز باقی ماند. با کیت انسانی، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌ها مشاهده نشد. ضرایب همبستگی پیرسون بین دو کیت در تمام گروه‌ها ضعیف و غیرمعنی‌دار بود. سایر شاخص‌های سرمی تفاوت معنی‌داری بین دو گروه نشان ندادند.

نتیجه‌گیری نهایی: کالپروتکتین مدفوع می‌تواند به‌عنوان یک نشانگر غیرتهاجمی، التهاب روده را در گوساله‌های اسهالی به‌خوبی منعکس کند. بااین‌حال همبستگی معنی‌داری بین کیت انسانی و گاوی وجود ندارد و استفاده از کیت انسانی به‌جای کیت اختصاصی گاوی توصیه نمی‌شود.

کلمات کلیدی: اسهال گوساله، التهاب روده، کالپروتکتین مدفوع، کیت تشخیصی، همبستگی بین کیت‌های انسانی و گاوی

کپی‌رایت © نویسندگان. ناشر: مؤسسه انتشارات دانشگاه تهران.

نویسنده مسئول: علی اصغر چالمه، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

مقدمه

اسهال گوساله‌ها یکی از مهم‌ترین چالش‌های صنعت گاوداری در سراسر جهان است که خسارات اقتصادی قابل‌توجهی را بر پرورش‌دهندگان گاو تحمیل می‌کند(۱). گزارش‌ها نشان می‌دهند ۵۷ درصد از تلفات گوساله‌های شیرخوار در ایالات متحده آمریکا ناشی از اسهال بوده و اغلب موارد در گوساله‌های کمتر از ۱ ماه رخ می‌دهد(۲). این بیماری ماهیت چندعاملی داشته و عوامل عفونی متعددی، ازجمله ویروس‌ها، باکتری‌ها و تک‌یاخته‌ها در بروز آن نقش دارند(۳). اسهال در گوساله‌ها به‌عنوان یک شرایط التهابی روده قلمداد می‌شود و فرایندهای التهابی ناشی از آن می‌توانند به آسیب بافت پوششی روده، سوءجذب و اختلالات الکترولیتی منجر شوند.

تشخیص به‌موقع و ارزیابی شدت التهاب روده در گوساله‌های مبتلا به اسهال، نقشی کلیدی در انتخاب راهبرد درمانی مناسب و ارائه پیش‌آگهی دارد. تاکنون شاخص‌های متعددی برای ارزیابی التهاب روده در گوساله‌ها مورد بررسی قرار گرفته است که از آن جمله می‌توان به نشانه‌های بالینی، ارزیابی الکترولیت‌های خون، لاکتات سرم و شمارش کامل سلول‌های خونی اشاره کرد(۴، ۵). بااین‌حال بسیاری از این روش‌ها تهاجمی می‌باشند و ممکن است اطلاعات مستقیمی از وضعیت التهابی موضعی روده ارائه ندهند؛ ازاین‌رو توسعه شاخص‌های غیرتهاجمی که بتوانند به‌طور اختصاصی‌تری التهاب روده را منعکس کنند، همواره مورد توجه محققین و دامپزشکان بوده است.

کالپروتکتین یک پروتئین متصل‌شونده به کلسیم و روی از خانواده پروتئین‌های S100 است که عمدتاً توسط نوتروفیل‌ها ترشح می‌شود و حدود ۶۰ درصد پروتئین سیتوزولی این سلول‌ها را تشکیل می‌دهد(۶، ۷).

این پروتئین در مونوسیت‌ها و ماکروفاژها نیز به میزان کمتری بیان می‌شود. کالپروتکتین نقش مهمی در فرایندهای التهابی ایفا می‌کند و به‌عنوان یک پروتئین فاز حاد مثبت در نظر گرفته می‌شود که باعث کموتاکسی، چسبندگی و فاگوسیتوز نوتروفیل‌ها می‌شود(۸، ۹). در شرایط التهاب روده، نوتروفیل‌های فراوانی به مخاط دستگاه گوارش مهاجرت کرده و کالپروتکتین را در مدفوع آزاد می‌کنند(۱۰). این پروتئین در برابر تخریب توسط پروتئازهای روده‌ای و باکتری‌ها مقاوم است و توزیع یکنواخت آن در مدفوع و پایداری تا یک هفته در دمای اتاق، آن را به یک نشانگر زیستی ایده آل برای تشخیص التهاب روده تبدیل کرده است(۱۱).

در پزشکی، سنجش کالپروتکتین مدفوع به‌عنوان یک روش غیرتهاجمی و ابزاری ارزشمند در غربالگری و کمک به افتراق بیماری‌های التهابی روده از اختلالات عملکردی، مانند سندرم روده تحریک‌پذیر محسوب می‌شود. هرچند استاندارد طلایی تشخیصی همچنان براساس یافته‌های آندوسکوپی و هیستوپاتولوژیک استوار است(۱۲). مطالعات متعددی نشان داده‌اند غلظت کالپروتکتین مدفوع با شدت التهاب مخاط روده ارتباط مستقیم دارد و می‌توان از آن برای پایش فعالیت بیماری و ارزیابی پاسخ به درمان استفاده کرد(۱۳). همچنین مشخص شده است کالپروتکتین مدفوع به‌دلیل تماس مستقیم مدفوع با مخاط روده، نسبت به نشانگرهای التهابی سرمی، مانند پروتئین واکنش‌گر C (CRP) از دقت بالاتری در ارزیابی التهاب موضعی روده برخوردار است(۱۲).

با وجود کاربرد گسترده کالپروتکتین مدفوع در پزشکی، مطالعات درزمینه تشخیص کالپروتکتین در گوساله‌ها بسیار محدود است. Karakus و همکاران در سال ۲۰۲۳، برای اولین‌بار در دامپزشکی، سطوح کالپروتکتین سرم و مدفوع را در گوساله‌های نوزاد مبتلا به اسهال عفونی بررسی کردند و نشان دادند مقادیر کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌های اسهالی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل است و این شاخص می‌تواند در تشخیص اسهال عفونی گوساله‌ها مفید باشد(۱۴). در مطالعه Aydoğdu و همکاران در سال ۲۰۲۴ نیز افزایش معنی‌دار کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌های اسهالی دوره نوزادی گزارش شد(۱۵). همچنین Pato و همکاران در سال ۲۰۲۳، اعتبارسنجی روش ایمونوتوربیدیمتریک fCAL® turbo را برای سنجش کالپروتکتین در نمونه‌های مدفوع گاوی انجام و نشان دادند این روش برای تشخیص التهاب روده در گوساله‌ها مناسب است(۱۶). در مطالعه‌ای جدیدتر، Saco و همکاران در سال ۲۰۲۵ به مقایسه دو بیومارکر مدفوعی کالپروتکتین و لاکتوفرین در گوساله‌ها پرداخته و همبستگی متوسطی را بین این دو شاخص گزارش کردند(۱۷). این در حالی است که کیت‌های تجاری اختصاصی گونه برای سنجش کالپروتکتین گاوی در دسترس می‌باشند، اما قیمت بالای این کیت‌ها می‌تواند مانعی برای استفاده گسترده از این شاخص در طب بالینی دام‌های بزرگ باشد. ازسوی‌دیگر، کیت‌های کالپروتکتین انسانی با قیمت بسیار مناسب‌تری در بازار موجود می‌باشند. درصورتی‌که همبستگی و توافق قابل‌قبولی میان کیت‌های انسانی و گاوی وجود داشته باشد، می‌توان از کیت‌های انسانی به‌عنوان جایگزینی مقرون‌به‌صرفه برای سنجش کالپروتکتین در گوساله‌ها استفاده کرد. باوجوداین، تاکنون مطالعه‌ای همبستگی و توافق بین کیت‌های کالپروتکتین انسانی و گاوی را بررسی نکرده است.

علی‌رغم مزایای ذکرشده، کاربرد کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌ها با محدودیت‌های قابل‌توجهی همراه است. مهم‌ترین این محدودیت‌ها، فقدان مقادیر مرجع استاندارد و نقاط برش تشخیصی اختصاصی است، زیرا این مقادیر به‌شدت وابسته به روش سنجش، کیت مورداستفاده، سن گوساله، نوع تغذیه و شرایط مدیریتی بوده و قابل‌تعمیم به جمعیت‌های دیگر نمی‌باشند (۱۴). تأثیر سن و مرحله رشد بر سطوح پایه کالپروتکتین نیز از دیگر محدودیت‌ها می‌باشد، زیرا سیستم ایمنی مخاط روده در گوساله‌های نوزاد در حال تکامل بوده و مقادیر مرجع تعیین‌شده برای یک گروه سنی ممکن است برای سنین دیگر معتبر نباشد(۱۷). همچنین تفاوت‌های گونه‌ای در

ساختار پروتئین کالپروتکتین، ضرورت اعتبارسنجی اختصاصی هر کیت تشخیصی پیش از استفاده بین‌گونه‌ای را گوشزد می‌کند(۱۶). ازسوی‌دیگر کالپروتکتین یک بیومارکر غیراختصاصی التهاب است و قادر به تعیین عامل اتیولوژیک اسهال نمی‌باشد(۱۵). تداخلات ناشی از ماتریکس مدفوع، هزینه بالای کیت‌های اختصاصی گاوی و عدم توانایی در تعیین محل دقیق التهاب در دستگاه گوارش از دیگر محدودیت‌هایی می‌باشند که دانش کنونی درمورد آن‌ها در گاو بسیار اندک است و به مطالعات گسترده‌تری نیاز دارد.

براین‌اساس، هدف اصلی مطالعه حاضر، ارزیابی همبستگی و توافق بین کیت‌های کالپروتکتین انسانی و گاوی برای سنجش کالپروتکتین مدفوع گوساله‌های سالم و اسهالی در دوره نوزادی بود. دراین‌راستا، نخستین هدف اختصاصی مطالعه، اندازه‌گیری غلظت کالپروتکتین مدفوع گوساله‌های سالم و مبتلا به اسهال با استفاده از کیت اختصاصی گاوی به‌منظور اندازه‌گیری غلظت کالپروتکتین مدفوع در گروه سالم جهت مقایسه با گروه بیمار و ارائه یک برآورد مقدماتی از سطح پایه این شاخص در اسهال گوساله‌ها تعیین شد. هدف اختصاصی دوم، سنجش هم‌زمان کالپروتکتین مدفوع با کیت انسانی در نمونه‌های مشابه و مقایسه نتایج حاصل با کیت گاوی برای ارزیابی میزان همبستگی و توافق بین دو کیت بود. بدین‌ترتیب، مطالعه حاضر به دنبال بررسی امکان جایگزینی کیت‌های ارزان‌قیمت انسانی با کیت‌های گران‌قیمت اختصاصی گاوی برای سنجش کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌ها بود.

مواد و روش کار

حیوانات موردمطالعه و طراحی آزمایش: مطالعه حاضر در یکی از گاوداری‌های صنعتی استان فارس انجام شد. تعداد ۲۰ رأس گوساله شیرخوار به‌ظاهر سالم با سن کمتر از ۱ ماه به‌عنوان گروه کنترل انتخاب شدند. این گوساله‌ها در جایگاه‌های انفرادی نگهداری شده و دسترسی آزاد به آب، استارتر و یونجه داشتند و روزانه شیری معادل ۱۰ درصد وزن بدو تولد دریافت می‌کردند. براساس نشانه‌های بالینی، تعداد ۷۰ رأس گوساله مبتلا به اسهال با شرایط عدم توان برخاستن (recumbency) نیز به‌عنوان گروه بیمار وارد مطالعه شدند.

معیار ورود به گروه اسهالی شامل وجود مدفوع کاملاً آبکی و فاقد هرگونه ذرات جامد به‌مدت حداقل ۲۴ ساعت، همراه با بی‌حالی، کاهش مصرف شیر و عدم توانایی در برخاستن یا فقدان تمایل به ایستادن بود؛ گوساله‌هایی با مدفوع خمیری یا نیمه‌آبکی در مطالعه وارد نشدند.

معیارهای خروج از مطالعه شامل سابقه بیماری قبلی و یا دریافت داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی (NSAIDs) در هر دو گروه بود. تمام گوساله‌های موردمطالعه از نژاد هلشتاین فرزیان (Holstein-Friesian) بوده و در محدوده سنی ۱۴ تا ۲۱ روز قرار داشتند. همچنین در هر دو گروه، گوساله‌های نر و ماده به نسبت تقریبی وجود داشت (در گروه کنترل ۸ نر و ۱۲ ماده، در گروه اسهالی ۳۳ نر و ۳۷ ماده) و تفاوت جنسی معنی‌داری بین گروه‌ها وجود نداشت. وزن بدن گوساله‌ها در بدو ورود به مطالعه ثبت شد و میانگین وزن گوساله‌ها در زمان تولد حدود ۴۰ کیلوگرم بود. گوساله‌های اسهالی بلافاصله پس از نمونه‌گیری اولیه، براساس پروتکل درمانی رایج گاوداری (شامل مایع‌درمانی وریدی و خوراکی و آنتی‌میکروبیال تراپی) تحت درمان قرار گرفتند.

در مطالعه حاضر، تمام گوساله‌های گروه اسهالی تحت یک پروتکل درمانی استاندارد و یکسان قرار گرفتند که به‌صورت روزانه و به‌مدت ۷۲ ساعت (دوره پیگیری مطالعه) ادامه یافت. این پروتکل شامل این موارد بود: مایع‌درمانی وریدی با محلول رینگر لاکتات به میزان ۴۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن در ساعت اول و سپس ۱۰ میلی‌لیتر به‌ازای هر کیلوگرم در ساعت به‌مدت ۴ ساعت، همراه با تجویز خوراکی محلول الکترولیت استاندارد (پودر ORS) به میزان ۲ لیتر در روز، تقسیم در دو نوبت. آنتی‌میکروب مورداستفاده، سولفادیمیدین با دُز ۱۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن، به‌صورت داخل وریدی، ۱ بار در روز بود. به‌منظور جلوگیری از تغییرات کاذب در مقادیر کالپروتکتین، هیچ داروی ضدالتهاب غیراستروئیدی تجویز نشد.

از تمام ۹۰ رأس گوساله، ۷۲ ساعت پس از نخستین نمونه‌گیری (و درمان در گروه بیمار)، نمونه‌گیری دوم انجام شد. حجم نمونه براساس نمونه‌گیری دردسترس و باتوجه‌به تعداد گوساله‌های اسهالی واجد شرایط در دوره مطالعه تعیین گردید و هیچ محاسبه توان آماری پیشینی صورت نپذیرفت.

نمونه‌گیری از مدفوع و خون: از تمام گوساله‌ها در دو نوبت (قبل و ۷۲ ساعت پس از درمان / نمونه‌گیری اولیه) حدود ۱۰۰ گرم مدفوع تازه مستقیماً از رکتوم اخذ شد. نمونه‌های مدفوع بلافاصله در ظروف استریل درب‌دار ریخته و تا زمان آنالیز در فریزر با دمای ۲۲-

درجه سلسیوس نگهداری شدند. همچنین از ورید وداج تمام گوساله‌ها ۱۰ میلی‌لیتر خون گرفته شد. پس از لخته شدن کامل خون در دمای اتاق، سرم‌ها به‌وسیله سانتریفیوژ (۳۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه) جداسازی و در دمای ۲۲- درجه سلسیوس تا زمان انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی ذخیره گردیدند. تمام نمونه‌های مدفوع و سرم حداکثر به‌مدت ۱ ماه تا زمان انجام آزمون‌ها در همین دما نگهداری شدند.

ارزیابی‌های بالینی: پیش از نمونه‌گیری در هر دو مقطع زمانی (ساعت صفر و ۷۲ ساعت پس از درمان)، وضعیت بالینی گوساله‌ها شامل ثبت درجه حرارت بدن (با استفاده از دماسنج دیجیتال مقعدی)، تعداد ضربان قلب (ازطریق شنود با گوشی پزشکی در ناحیه سینه چپ پشت آرنج) و تعداد تنفس (با مشاهده حرکات قفسه سینه در حالت استراحت به‌مدت ۱ دقیقه) ارزیابی و ثبت گردید.

سنجش کالپروتکتین مدفوع با کیت گاوی: غلظت کالپروتکتین مدفوع با استفاده از کیت الایزای اختصاصی گاوی (Bovine Calprotectin ELISA Kit, BioassayTechnology Laboratory CO., China) اندازه‌گیری شد. برای استخراج کالپروتکتین از مدفوع، براساس دستورالعمل شرکت سازنده، ۱ گرم از نمونه مدفوع هموژنیزه با ۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سالین (PBS با pH=7.4) ترکیب گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و مایع رویی جمع‌آوری‌شده برای انجام آزمون الایزا مورد استفاده قرار گرفت. اساس آزمایش الایزای کیت گاوی از نوع ساندویچ بود که در آن چاهک‌ها با آنتی‌بادی منوکلونال اختصاصی ضدکالپروتکتین گاوی پوشش داده شده بودند. پس از افزودن نمونه‌ها و استانداردها، انکوباسیون و شست‌وشو، آنتی‌بادی ثانویه کونژوگه باHRP اضافه شد و پس از واکنش رنگ‌سنجی، جذب نوری در طول موج ۴۵۰ نانومتر با دستگاه الایزا ریدر قرائت شد.

سنجش کالپروتکتین مدفوع با کیت انسانی: به‌منظور بررسی همبستگی و توافق بین دو کیت، تمام نمونه‌های مدفوع به‌طور هم‌زمان با کیت الایزای کالپروتکتین انسانی (کیت اندازه‌گیری کالپروتکتین به روش الایزا، تولید شرکت دانش‌بنیان پیشتاز طب، ایران) نیز سنجش شدند. استخراج کالپروتکتین از نمونه مدفوع با این کیت به روش وزنی انجام گرفت. بدین‌ترتیب که ابتدا یک تیوب خالی درب‌دار همراه با لوپ یک‌بارمصرف روی ترازوی دیجیتال تار (صفر) شد. سپس ۲۰ تا ۳۰ میلی‌گرم از نمونه مدفوع هموژنیزه (بدون مواد غذایی هضم‌نشده و ذرات سخت) توسط لوپ برداشته و به تیوب منتقل گردید. پس از توزین دقیق نمونه، بافر استخراج اختصاصی کیت به نسبت ۱:۵۰ (حجم / وزن) به نمونه اضافه شد. درب تیوب بسته و محتویات آن به‌مدت ۳۰ ثانیه با ورتکس به‌شدت مخلوط گردید. سپس تیوب‌ها بر روی شیکر با سرعت ۵۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفتند تا عصاره‌گیری کامل انجام شود. در پایان، تیوب‌ها به‌مدت ۳ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و مایع رویی شفاف به تیوب جدید منتقل و بلافاصله برای انجام آزمون الایزا استفاده گردید. آزمون الایزا با این کیت نیز برپایه روش ساندویچ الایزا با آنتی‌بادی‌های منوکلونال اختصاصی علیه کالپروتکتین انسانی طراحی شده بود و جذب نوری نهایی در ۴۵۰ نانومتر خوانده شد.

اندازه‌گیری شاخص‌های سرمی: غلظت سرمی پروتئین تام، آلبومین، آلکالین فسفاتاز (ALP)، گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)، آهن و ظرفیت تام اتصال آهن (TIBC) با استفاده از کیت‌های تجاری بیوشیمیایی (شرکت پارس آزمون، تهران، ایران) و براساس دستورالعمل‌های شرکت سازنده اندازه‌گیری شد. غلظت گلوبولین نیز از تفاضل مقادیر پروتئین تام و آلبومین محاسبه شد(۱۸).

آنالیز آماری: داده‌های حاصل از اندازه‌گیری شاخص‌ها به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد (Mean ± SE) ارائه شدند. ابتدا نرمال بودن توزیع داده‌ها با استفاده از آزمون کولموگروف ـ اسمیرنوف (Kolmogorov-Smirnov test) مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج این آزمون نشان داد داده‌های مطالعه حاضر از توزیع نرمال پیروی می‌کنند؛ بنابراین داده‌ها پارامتریک بودند. مقایسه میانگین هریک از شاخص‌های موردبررسی بین دو گروه سالم و اسهالی (قبل و بعد از درمان) با استفاده از آزمون تی مستقل دو نمونه‌ای (Independent Samples t-test) انجام گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها در هر گروه بین ساعت صفر و ۷۲ با استفاده از آزمون تی جفتی (Paired Samples t-test) انجام شد. به‌منظور ارزیابی همبستگی و توافق بین دو کیت کالپروتکتین انسانی و گاوی، ضریب همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficient) بین مقادیر به‌دست‌آمده از هر دو کیت در گروه‌های مختلف محاسبه گردید. تمام تحلیل‌های آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۲۲، IBM، ایالات متحده) انجام و سطح معنی‌داری در تمام آزمون‌ها $P<۰/۰۵$ در نظر گرفته شد.

جدول ۱. مقادیر کالپروتکتین گاوی، کالپروتکتین انسانی و شاخص‌های بیوشیمیایی سرم در گروه کنترل (۲۰ رأس) و گروه اسهالی (۷۰ رأس) در ساعت صفر و ۷۲ ساعت پس از درمان، همراه با مقایسه درون‌گروهی (آزمون تی زوجی) و بین‌گروهی (آزمون تی مستقل).

شاخص‌ها	گروه‌ها				P			
	کنترل		اسهالی		درون‌گروهی		بین‌گروهی	
	ساعت صفر	ساعت ۷۲	ساعت صفر	ساعت ۷۲	کنترل	اسهالی	ساعت صفر	ساعت ۷۲
کالپروتکتین گاوی (میکروگرم/گرم)	۱۵۰/۰۳±۳/۴۱	۱۵۷/۴۴±۵/۱۹	۱۸۳/۳۲±۴/۲۲	۱۷۴/۱۹±۳/۵۹	۰/۱	۰/۰۱*	<۰/۰۰۱*	۰/۰۲*
کالپروتکتین انسانی (میکروگرم/گرم)	۳۱/۲۸±۷/۹۵	۳۶/۲۴±۱۰/۷۲	۳۷/۵۲±۴/۱۴	۳۸/۷۸±۴/۰۴	۰/۸۵۲	۰/۷۲۸	۰/۳۱۸	۰/۰۴*
پروتئین تام (گرم/دسی لیتر)	۵/۷۵±۰/۱۸	۵/۸۵±۰/۱۷	۶/۱۶±۰/۱۱	۵/۸۷±۰/۱۱	۰/۵۳۲	۰/۰۰۳*	۰/۰۷۹	۰/۹۴۵
آلبومین (گرم/دسی‌لیتر)	۳/۰۷±۰/۱	۳/۰۵±۰/۱۲	۳/۳۰±۰/۰۵	۳/۲۷±۰/۰۵	۰/۷۰۱	۰/۵۳۷	۰/۰۵۹	۰/۰۸۵
گلوبولین (گرم/دسی‌لیتر)	۲/۶۷±۰/۱۷	۲/۸۰±۰/۱۵	۲/۸۶±۰/۱۱	۲/۶۷±۰/۰۹	۰/۸۴۲	۰/۵۱۲	۰/۷۴۵	۰/۶۷۹
فسفاتاز قلیایی (واحد/لیتر)	۵۶۷/۱۰±۴۳/۱۳	۵۱۲±۳۸/۷۱	۵۳۰/۳۶±۱۸/۵۱	۴۳۷/۳۱±۱۵/۵۲	۰/۰۱*	<۰/۰۰۱*	۰/۳۷۸	۰/۰۳۸*
گاماگلوتامیل ترانسفراز (واحد/لیتر)	۹۱/۳۸±۱۸/۳۷	۸۵/۲۷±۲۱/۳۲	۱۰۲/۳۰±۹/۰۳	۸۱/۱۶±۷/۰۵	۰/۳۳۸	<۰/۰۰۱*	۰/۵۷۶	۰/۸۱۳
آهن (میکروگرم/دسی‌لیتر)	۱۳۸/۶۰±۲۲/۳۲	۱۳۶/۴۲±۲۰/۱۷	۱۳۲/۰۹±۱۰/۳۸	۱۳۴/۹۱±۱۰/۲۷	۰/۹۱	۰/۸۰۶	۰/۷۷۵	۰/۹۴۵
ظرفیت تام اتصال آهن (میکروگرم/دسی‌لیتر)	۳۴۶/۸۰±۸/۴۸	۳۳۵/۷۵±۱۱/۰۱	۳۵۸/۲۷±۵/۲۳	۳۴۵/۷۵±۵/۴۲	۰/۴۱۵	۰/۵۵۳	۰/۲۸۸	۰/۱۰۸
ضربان قلب (ضربه/دقیقه)	۱۲۵/۲۰±۳/۹۲	۱۱۹/۹۵±۲/۷۳	۱۱۴/۴۰±۲/۲۷	۱۱۰/۵۹±۲/۳۷	۰/۰۷۸	۰/۰۸۳	۰/۰۲۵*	۰/۰۱۳*
تنفس (تعداد/دقیقه)	۳۰/۲۵±۱/۵۲	۳۱/۴۰±۱/۴۶	۳۵/۳۳±۱/۴۹	۳۳/۷۲±۱/۲۱	۰/۲۶۵	۰/۰۴۷*	۰/۰۲*	۰/۳۳۳
دمای بدن (درجه سلسیوس)	۳۸/۸۱±۰/۰۷	۳۸/۸۱±۰/۰۷	۳۸/۴۸±۰/۰۹	۳۸/۶۶±۰/۰۵	۰/۹۰۸	۰/۰۱*	۰/۰۱۳*	۰/۱۷۷

مقادیر به‌صورت میانگین ± خطای استاندارد از میانگین (SE) گزارش شده‌اند. (*) نشان‌دهنده وجود تفاوت آماری معنی‌دار (در حد ۰/۰۵) در مقایسه مربوطه می‌باشد. در بخش مقایسه درون‌گروهی، آزمون تی جفتی برای بررسی تغییرات در هر گروه بین ساعت صفر و ۷۲ ساعت استفاده شد. در بخش مقایسه بین‌گروهی، آزمون تی مستقل برای مقایسه گروه کنترل و اسهالی در هر مقطع زمانی به کار رفت.

جدول ۲. همبستگی بین کیت‌های کالپروتکتین انسانی و اختصاصی گونه گاوی در گروه‌های درمان (۷۰ رأس) و کنترل (۲۰ رأس) قبل و بعد از درمان (۷۲ ساعت بعد) در گوساله‌های شیرخوار موردمطالعه.

گروه‌های موردمطالعه		r	P
کنترل انسانی قبل از درمان	کنترل گاوی قبل از درمان	-۰/۱۶۷	۰/۴۸۲
کنترل انسانی بعد از درمان	کنترل گاوی بعد از درمان	-۰/۲۰۸	۰/۳۸۰
اسهالی انسانی قبل از درمان	اسهالی گاوی قبل از درمان	۰/۱۵۶	۰/۲۰۰
اسهالی انسانی بعد از درمان	اسهالی گاوی بعد از درمان	۰/۱۴۱	۰/۲۵۰

به‌منظور ارزیابی همبستگی و توافق بین دو کیت کالپروتکتین انسانی و گاوی، ضریب همبستگی پیرسون (Pearson correlation coefficient) بین مقادیر به‌دست‌آمده از هر دو کیت در گروه‌های مختلف محاسبه گردید.

نتایج

مقادیر میانگین ± خطای استاندارد شاخص‌های موردبررسی در گوساله‌های سالم (کنترل) و اسهالی، پیش و ۷۲ ساعت پس از درمان، در جدول ۱ ارائه شده است. همچنین نتایج حاصل از ارزیابی همبستگی بین مقادیر کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت انسانی و کیت گاوی در گروه‌های مختلف در جدول ۲ خلاصه شده است.

بر پایه داده‌های جدول ۱، غلظت کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت گاوی در گوساله‌های مبتلا به اسهال پیش از درمان (۱۸۳/۳۲±۴/۲۲ میکروگرم بر گرم) به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل (۱۵۰/۰۳±۳/۴۱ میکروگرم بر گرم) بود ($P<۰/۰۵$). همچنین در نمونه‌گیری دوم (۷۲ ساعت پس از درمان)، سطح کالپروتکتین گاوی در گروه اسهالی (۱۷۴/۱۹±۳/۵۹ میکروگرم بر گرم) همچنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل (۱۵۷/۴۴±۵/۱۹ میکروگرم بر گرم) باقی ماند ($P<۰/۰۵$). به‌عبارت‌دیگر با آنکه درمان به کاهش نسبی کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌های بیمار منجر شد، اما این کاهش به اندازه‌ای نبود که اختلاف معنی‌دار با گروه سالم از میان برود.

در مقابل، مقادیر کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت انسانی، الگوی متفاوتی نشان داد. پیش از درمان، میانگین کالپروتکتین انسانی در گروه اسهالی (۴/۱۴±۳۷/۵۲ میکروگرم بر گرم) اندکی بیش از گروه کنترل (۷/۹۵±۳۱/۲۸ میکروگرم بر گرم) بود، اما این تفاوت از نظر آماری معنی‌دار نبود. بااین‌حال پس از ۷۲ ساعت، سطح کالپروتکتین انسانی در گروه اسهالی (۴/۰۴±۳۸/۷۸ میکروگرم بر گرم) به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل (۱۰/۷۲±۴۶/۲۴ میکروگرم بر گرم) مشاهده شد ($P<۰/۰۵$).

نتایج مربوط به سایر نشانگرهای سرمی در جدول ۱ نشان می‌دهد هیچ‌یک از شاخص‌ها بین گروه‌های سالم و اسهالی، چه پیش و چه پس از درمان، تفاوت آماری معنی‌داری نداشتند ($P>۰/۰۵$). میزان پروتئین تام، آلبومین و گلوبولین در هر دو گروه و در هر دو نوبت نمونه‌گیری در دامنه‌های نسبتاً مشابهی قرار داشت. همچنین میانگین فعالیت آلکالین فسفاتاز (ALP) در گروه اسهالی در هر دو مقطع زمانی، اندکی کمتر از گروه کنترل بود، اما این روند به حد معنی‌داری نرسید. سطوح سرمی گاماگلوتامیل ترانسفراز (GGT)، آهن و ظرفیت تام اتصال آهن (TIBC) نیز روند مشخصی در اثر ابتلا به اسهال یا درمان نشان ندادند و اختلاف معنی‌داری میان گروه‌ها مشاهده نگردید.

نتایج حاصل از مقایسه‌های درون‌گروهی و بین‌گروهی در جدول ۱ خلاصه شده است. در گروه اسهالی، غلظت کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت گاوی ۷۲ ساعت پس از درمان در مقایسه با قبل از درمان کاهش معنی‌داری نشان داد. همچنین در هر دو مقطع زمانی (ساعت صفر و ۷۲ ساعت)، غلظت کالپروتکتین گاوی در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل بود. در مقابل، با کیت انسانی نه‌تنها کاهش معنی‌داری پس از درمان در گروه اسهالی مشاهده نشد، بلکه تفاوت معنی‌داری بین دو گروه در ساعت صفر وجود نداشت و تنها در ساعت ۷۲ بود که غلظت کالپروتکتین انسانی در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل قرار گرفت. در میان شاخص‌های سرمی، در گروه اسهالی کاهش معنی‌دار پروتئین تام، آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز ۷۲ ساعت پس از درمان نسبت به قبل از درمان مشاهده شد. همچنین در گروه کنترل، آلکالین فسفاتاز در ساعت ۷۲ نسبت به ساعت صفر کاهش معنی‌داری یافت. سایر شاخص‌های سرمی تغییرات معنی‌داری را در هیچ‌یک از گروه‌ها نشان ندادند.

نتایج مربوط به علائم حیاتی گوساله‌ها در جدول ۱ خلاصه شده است. تعداد ضربان قلب در گروه اسهالی در هر دو مقطع زمانی به‌طور معنی‌داری کمتر از گروه کنترل بود. تعداد تنفس در گروه اسهالی در ساعت صفر به‌طور معنی‌داری بیشتر از گروه کنترل بود و همچنین در گروه اسهالی، تعداد تنفس ۷۲ ساعت پس از درمان در مقایسه با ساعت صفر کاهش معنی‌داری نشان داد. دمای بدن در گروه اسهالی در ساعت صفر به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود و این دما ۷۲ ساعت پس از درمان در گروه اسهالی نسبت به ساعت صفر افزایش معنی‌داری یافت. در گروه کنترل، هیچ‌یک از پارامترهای بالینی تغییر معنی‌داری بین دو مقطع زمانی نشان ندادند.

براساس جدول ۲، همبستگی بین مقادیر کالپروتکتین حاصل از کیت گاوی و کیت انسانی در تمام زیرگروه‌ها ضعیف و غیرمعنی‌دار بود. ضریب همبستگی پیرسون در گروه کنترل پیش از درمان برابر با ۰/۱۶۷- ($P=۰/۴۸۲$)، در گروه کنترل پس از درمان برابر با ۰/۲۰۸- ($P= ۰/۳۸۰$)، در گروه اسهالی پیش از درمان ۰/۱۵۶ ($P= ۰/۲۰۰$) و در گروه اسهالی پس از درمان برابر با ۰/۱۴۱ ($P= ۰/۲۵۰$) بود. این یافته‌ها حاکی از عدم وجود همبستگی و توافق قابل‌قبول میان دو کیت بودند.

بحث

مطالعه حاضر با هدف ارزیابی همبستگی و توافق بین کیت‌های کالپروتکتین انسانی و گاوی برای نخستین‌بار انجام شد. یافته اصلی مطالعه حاضر نشان داد سنجش کالپروتکتین مدفوع با کیت اختصاصی گاوی به‌طور موفقیت‌آمیزی توانست افزایش معنی‌دار این بیومارکر را در گوساله‌های مبتلا به اسهال نسبت به گروه کنترل نشان دهد؛ درحالی‌که کیت انسانی قادر به تمایز معنی‌دار بین دو گروه نبود. این یافته‌ها از دو جهت قابل‌تأمل می‌باشند: نخست مقایسه غلظت کالپروتکتین مدفوع بین گروه سالم و اسهالی به‌منظور بررسی توانایی این شاخص در تفکیک ۲ گروه به‌عنوان یک شاخص غیرتهاجمی التهاب روده در گوساله‌ها و دوم اثبات عدم امکان جایگزینی کیت‌های ارزان‌قیمت انسانی با کیت‌های اختصاصی گاوی، به‌دلیل فقدان همبستگی و توافق قابل‌قبول.

نتایج مطالعه حاضر مبنی بر افزایش معنی‌دار کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌های اسهالی، هم‌راستا با معدود مطالعات اخیر در این زمینه است(۱۴). برای نخستین‌بار در مطالعات دامپزشکی نشان دادند سطوح کالپروتکتین مدفوع و سرم در گوساله‌های مبتلا به اسهال

عفونی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل است و این شاخص می‌تواند در ارزیابی اسهال عفونی مفید باشد(۱۴). در مطالعه دیگری، Aydoğdu و همکاران در سال ۲۰۲۴ نیز افزایش معنی‌دار کالپروتکتین مدفوع را در گوساله‌های اسهالی گزارش کردند و نتیجه گرفتند این شاخص می‌تواند به‌عنوان یک بیومارکر بالقوه برای انتریت در گوساله‌ها مطرح شود(۱۵). همچنین، Saco و همکاران در سال ۲۰۲۵، با اعتبارسنجی روش ایمونوتوربیدیمتریک fCAL® turbo برای سنجش کالپروتکتین در نمونه‌های مدفوع گاوی، تأیید کردند گوساله‌های مبتلا به اسهال غلظت‌های بالاتری از کالپروتکتین مدفوع را نشان می‌دهند و این روش برای ارزیابی التهاب روده در گوساله‌ها مناسب است(۱۷). نتایج مطالعه حاضر، علاوه‌بر تأیید این یافته‌ها، نشان داد حتی ۷۲ ساعت پس از درمان نیز سطوح کالپروتکتین گاوی در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل باقی می‌ماند که می‌تواند بیانگر تداوم فرایند التهابی در مخاط روده با وجود بهبود علائم بالینی باشد. این مشاهده با مفهوم پاتوفیزیولوژیک اسهال گوساله‌ها همخوانی دارد، زیرا آسیب بافتی و بازسازی اپیتلیوم روده فرایندی زمان‌بر است و حتی پس از حذف عامل اتیولوژیک، التهاب می‌تواند تا چند روز ادامه یابد(۲).

مکانیسم افزایش کالپروتکتین مدفوع در اسهال گوساله‌ها را می‌توان با استناد به پاتوفیزیولوژی التهاب روده تبیین کرد. کالپروتکتین حدود ۶۰ درصد پروتئین سیتوزولی نوتروفیل‌ها را تشکیل می‌دهد(۶). در شرایط التهاب روده، نوتروفیل‌ها به‌عنوان سلول‌های خط مقدم دفاع ایمنی ذاتی، به‌سرعت به مخاط روده مهاجرت کرده و متعاقباً با رهاسازی محتویات سیتوزولی خود، ازجمله کالپروتکتین، به مبارزه با پاتوژن‌ها می‌پردازند(۱۰). مقاومت بالای کالپروتکتین در برابر پروتئازهای روده‌ای و پایداری آن در مدفوع تا یک هفته در دمای اتاق، این پروتئین را به یک نشانگر ایده آل برای ارزیابی التهاب روده تبدیل کرده است(۱۱). نکته حائز اهمیت دیگر، توزیع یکنواخت کالپروتکتین در مدفوع است که امکان نمونه‌برداری تصادفی و بازپذیر را فراهم می‌کند(۱۳).

یکی از یافته‌های برجسته و بدیع مطالعه حاضر، اثبات عدم وجود همبستگی و توافق قابل‌قبول بین کیت‌های کالپروتکتین انسانی و گاوی بود. ضرایب همبستگی پیرسون بین مقادیر حاصل از دو کیت در تمام گروه‌ها، مقادیری بسیار ضعیف و نزدیک به صفر (از ۰/۲۰۸- تا ۰/۱۵۶ و مقادیر P از ۰/۲۰۰ تا ۰/۴۸۲) بود. این نتیجه نشان‌دهنده آن است که علی‌رغم وجود تشابهات ساختاری در توالی و عملکرد پروتئین کالپروتکتین در پستانداران، اپیتوپ‌های شناسایی‌شده توسط آنتی‌بادی‌های منوکلونال به‌کاررفته در این دو کیت تجاری، فاقد همپوشانی کافی برای ایجاد توافق قابل‌قبول می‌باشند. این یافته قابل‌تعمیم به سایر کیت‌های موجود در بازار نیست، اما احتیاط در استفاده از کیت‌های انسانی برای نمونه‌های گاوی را گوشزد می‌کند. البته Saco و همکاران در سال ۲۰۲۵، نشان دادند کیت ایمونوتوربیدیمتریک fCAL® turbo انسانی می‌تواند برای سنجش کالپروتکتین در نمونه‌های مدفوع گاوی مورد استفاده قرار گیرد که این امر بیانگر آن است که موفقیت یا عدم موفقیت یک کیت انسانی در سنجش نمونه‌های گاوی، احتمالاً بیش از آنکه به تفاوت‌های گونه‌ای پروتئین مرتبط باشد، به ماهیت آنتی‌بادی‌های به‌کاررفته و اپیتوپ‌های هدف هر کیت بستگی دارد؛ بنابراین اعتبارسنجی اختصاصی هر کیت پیش از استفاده بین‌گونه‌ای ضروری به نظر می‌رسد(۱۷).

نکته قابل‌تأمل در نتایج مطالعه حاضر آن است که پس از ۷۲ ساعت، سطح کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت انسانی در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود. این الگوی غیرمنتظره ممکن است حاصل تداخلات ناشی از اجزای مدفوع گوساله‌ها با کیت انسانی باشد. همچنین تغییر در ترکیب فلور میکروبی روده متعاقب درمان آنتی‌میکروبیال می‌تواند ماتریکس مدفوع را دستخوش تغییراتی کند که بر نتایج سنجش ایمونواسی تأثیر بگذارد. این فرضیه نیازمند مطالعات بیشتری است.

یکی دیگر از نتایج مطالعه حاضر، نبود تفاوت آماری معنی‌دار در شاخص‌های سرمی موردبررسی (شامل پروتئین تام، آلبومین، گلوبولین، ALP، GGT، آهن و TIBC) بین گوساله‌های سالم و اسهالی بود. این یافته در تطابق با ماهیت پاتوفیزیولوژیک اسهال نوزادی گوساله‌ها قابل‌تفسیر است. اسهال گوساله‌ها عمدتاً به‌صورت یک التهاب موضعی روده آغاز می‌شود و در بسیاری از موارد، به‌ویژه زمانی که درمان به‌موقع آغاز شود، پیشرفت سیستمیک پیدا نمی‌کند(۲). ازسوی‌دیگر، پروتئین‌های فاز حاد کلاسیک، مانند CRP و SAA نسبت به تحریکات التهابی موضعی محدود، حساسیت کمتری نسبت به بیومارکرهای موضعی، مانند کالپروتکتین مدفوع نشان می‌دهند. در پزشکی، مطالعات متعدد نشان داده‌اند کالپروتکتین مدفوع نسبت به CRP و ESR برای ارزیابی التهاب مخاط روده برتری دارد(۱۲). این یافته‌ها با نتایج مطالعه حاضر هم‌راستا است و نشان می‌دهد نشانگرهای مدفوعی به‌دلیل تماس مستقیم با مخاط روده، برای ارزیابی التهاب موضعی روده بر نشانگرهای سرمی ارجحیت دارند.

همچنین، Saco و همکاران در سال ۲۰۲۵، در مطالعه‌ای به مقایسه دو بیومارکر مدفوعی کالپروتکتین و لاکتوفرین در گوساله‌ها پرداختند و همبستگی متوسطی را بین این دو شاخص گزارش کردند. این یافته نشان می‌دهد کالپروتکتین و لاکتوفرین هر دو از گرانولوسیت‌ها آزاد می‌شوند، اما ممکن است مسیرهای التهابی متفاوتی را منعکس کنند(۱۷).

مقادیر کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌های سالم (گروه کنترل) در مطالعه حاضر با کیت گاوی ۱۵۰/۰۳ میکروگرم بر گرم بود. این مقادیر نسبتاً بالاتر از مقادیر گزارش‌شده توسط Karakus و همکاران در سال ۲۰۲۳ است که میانگین ۸۷/۰۱ نانوگرم بر میلی‌لیتر را گزارش کردند(۱۴). این تفاوت می‌تواند ناشی از تفاوت در کیت‌های مورداستفاده، روش‌های استخراج، سن گوساله‌ها، نوع تغذیه و شرایط مدیریتی باشد. این موضوع ضرورت تعیین مقادیر مرجع اختصاصی برای هر جمعیت و روش سنجش را برجسته می‌کند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد کالپروتکتین مدفوع شاخص مناسب‌تری برای ارزیابی وضعیت التهابی روده در گوساله‌ها نسبت به شاخص‌های سرمی رایج است. این برتری را می‌توان به غیرتهاجمی بودن نمونه‌گیری، مقاومت پروتئین در برابر تخریب و به‌ویژه تماس مستقیم مدفوع با مخاط ملتهب روده نسبت داد. بااین‌حال کاربرد بالینی روتین این بیومارکر در گوساله‌ها با چالش‌هایی، ازجمله قیمت بالای کیت‌های اختصاصی گونه و عدم استانداردسازی cut-offهای تشخیصی مواجه است. مطالعه Karakus و همکاران در سال ۲۰۲۳، cut-offبرابر با ۹۱/۸۰۴ نانوگرم بر میلی‌لیتر را برای کالپروتکتین مدفوع در افتراق گوساله‌های اسهالی از سالم گزارش کرده است(۱۴). باوجوداین، انجام مطالعات گسترده‌تر برای تعیین مقادیر مرجع و نقاط برش استاندارد براساس روش‌های سنجش مختلف ضروری به نظر می‌رسد.

یافته‌های حاصل از مقایسه درون‌گروهی در مطالعه حاضر (جدول ۱) نشان داد غلظت کالپروتکتین اندازه‌گیری‌شده با کیت اختصاصی گاوی در گوساله‌های اسهالی، ۷۲ ساعت پس از درمان کاهش معنی‌داری یافت. این کاهش را می‌توان به پاسخ بالینی به درمان و کاهش روند التهابی مخاط روده نسبت داد. اگرچه سطح کالپروتکتین گاوی پس از درمان همچنان به‌طور معنی‌داری بالاتر از گروه کنترل باقی ماند، اما روند نزولی آن حاکی از کاربرد بالقوه این بیومارکر در پایش پاسخ به درمان است. این مشاهده با مطالعات پیشین در پزشکی که نشان داده‌اند کاهش سطوح کالپروتکتین مدفوع با بهبود بالینی و التیام مخاطی همبستگی دارد، همخوانی دارد(۱۲، ۱۳). درمقابل، کیت انسانی نه‌تنها کاهش معنی‌داری پس از درمان نشان نداد، بلکه در مقطع ۷۲ ساعت، غلظت اندازه‌گیری‌شده با این کیت در گروه اسهالی به‌طور معنی‌داری پایین‌تر از گروه کنترل بود. این الگوی غیرمنتظره، احتمالاً ناشی از عدم کارایی کیت انسانی در اندازه‌گیری دقیق کالپروتکتین گاوی و تداخلات ناشی از تغییرات ماتریکس مدفوع متعاقب درمان آنتی‌میکروبیال است(۱۶، ۱۷). ازسوی‌دیگر، کاهش معنی‌دار پروتئین تام، آلکالین فسفاتاز و گاماگلوتامیل ترانسفراز در گروه اسهالی پس از درمان، نشان‌دهنده بهبود وضعیت عمومی و کاهش آسیب کبدی‌صفراوی همراه با اسهال نوزادی می‌باشد(۱۲، ۱۳). کاهش آلکالین فسفاتاز در گروه کنترل نیز احتمالاً با افزایش سن و کاهش طبیعی فعالیت آنزیم در دوران پس از تولد مرتبط است(۱۹). درمجموع، نتایج حاصل از تحلیل درون‌گروهی، مزیت کیت اختصاصی گاوی را در پایش پاسخ به درمان برجسته و تأکید می‌کند کیت انسانی فاقد ارزش بالینی کافی برای دنبال کردن تغییرات زمانی کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌ها است.

یافته‌های بالینی ثبت‌شده در جدول ۱ نیز ماهیت التهابی اسهال را تأیید می‌کند. کاهش معنی‌دار ضربان قلب در گوساله‌های اسهالی نسبت به گروه کنترل در هر دو مقطع زمانی را می‌توان به اختلالات الکترولیتی ناشی از اسهال، به‌ویژه هیپرکالمی نسبت داد که با تأثیر بر رسانش قلبی، باعث برادی کاردی می‌گردد(۲۰). افزایش تعداد تنفس در گروه اسهالی در ساعت صفر (قبل از درمان) و سپس کاهش معنی‌دار آن پس از درمان، نشان‌دهنده حضور اسیدوز متابولیک ناشی از دفع بی‌کربنات، ازطریق مدفوع و پاسخ تنفسی جبرانی بدن است(۲۱). همچنین کاهش دمای بدن در گوساله‌های اسهالی پیش از درمان، متعاقب از دست رفتن مایعات و کاهش متابولیسم پایه بوده و روند افزایشی آن پس از درمان، مؤید بهبود وضعیت همودینامیک و کاهش بار التهابی است(۲۲). این تغییرات بالینی به‌موازات افزایش کالپروتکتین مدفوع در گروه اسهالی مشاهده شد که هم‌راستا با نقش کالپروتکتین به‌عنوان یک بیومارکر التهابی بوده و ارزش تشخیصی آن را در کنار علائم حیاتی برجسته می‌کند.

محدودیت‌های مطالعه: مطالعه حاضر دارای محدودیت‌هایی است که باید در تفسیر نتایج مد نظر قرار گیرند. حجم نمونه براساس نمونه‌گیری دردسترس و بدون محاسبه پیشینی توان آماری تعیین گردید. انجام مطالعه تنها در یک گاوداری در یک منطقه جغرافیایی

خاص، تعمیم‌پذیری نتایج را محدود می‌کند. عوامل اتیولوژیک اسهال شناسایی نشدند؛ بنابراین امکان بررسی تأثیر پاتوژن‌های مختلف بر سطوح کالپروتکتین وجود نداشت. دوره پیگیری کوتاه‌مدت (تنها ۷۲ ساعت) بود و وضعیت التهاب روده پس از دوره نقاهت کامل ارزیابی نشد. تنها از یک برند کیت انسانی و یک برند کیت گاوی استفاده گردید؛ بنابراین نتایج لزوماً قابل‌تعمیم به سایر کیت‌های موجود در بازار نیست. علی‌رغم عدم سابقه دریافت داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی براساس معیارهای ورود، کنترل دقیق‌تری بر این متغیر انجام نشد. همچنین شاخص‌های التهابی اختصاصی‌تر سرمی، مانند پروتئین واکنشگر C یا آمیلوئید A سرم اندازه‌گیری نشدند تا مقایسه بهتری با کالپروتکتین مدفوع انجام گیرد. ازآنجایی‌که مطالعه حاضر صرفاً براساس ضریب همبستگی پیرسون طراحی گردید و آنالیز توافق (مانند روش بلند ـ آلتمن) انجام نشد، ارزیابی توافق بین دو روش سنجش کامل نبوده و امکان نتیجه‌گیری قطعی درمورد وجود یا عدم وجود واکنش متقاطع ایمونولوژیک میان دو کیت وجود ندارد. اثبات این مهم نیازمند طراحی‌های مستقیم آزمایشگاهی نظیر اسپایک کردن نمونه‌ها با پروتئین نوترکیب یا استفاده از روش‌های ایمونوشیمیایی، مانند وسترن بلات است. با وجود این محدودیت‌ها، نتایج مطالعه حاضر می‌تواند مبنایی برای مطالعات آینده با حجم نمونه بالاتر، در گاوداری‌های متعدد با پیگیری طولانی‌مدت‌تر و استفاده از کیت‌های متنوع‌تر باشد.

نتیجه‌گیری نهایی: مطالعه حاضر نشان داد غلظت کالپروتکتین مدفوع اندازه‌گیری‌شده با کیت اختصاصی گاوی در گوساله‌های مبتلا به اسهال به‌طور معنی‌داری بالاتر از گوساله‌های سالم است و این افزایش تا ۷۲ ساعت پس از درمان نیز باقی می‌ماند. این یافته تأیید می‌کند کالپروتکتین مدفوع می‌تواند به‌عنوان یک شاخص غیرتهاجمی، حساس و قابل‌اعتماد برای ارزیابی وضعیت التهابی روده در گوساله‌های نوزاد مورد استفاده قرار گیرد. درمقابل، ارزیابی همبستگی و توافق بین نتایج حاصل از کیت کالپروتکتین انسانی (شرکت پیشتاز طب، ایران) و کیت کالپروتکتین گاوی (Bioassay Technology Laboratory, China) ضریب همبستگی پیرسون ضعیف و غیرمعنی‌داری را در تمام گروه‌ها نشان داد که حاکی از عدم عملکرد مشابه و توافق قابل‌قبول بین دو کیت در شرایط مطالعه حاضر است. براین‌اساس، جایگزینی کیت انسانی با کیت اختصاصی گاوی برای سنجش کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌ها توصیه نمی‌شود. همچنین عدم وجود تفاوت معنی‌دار در شاخص‌های سرمی رایج نظیر پروتئین تام، آلبومین، آلکالین فسفاتاز و سایر پارامترها میان دو گروه سالم و اسهالی بر برتری کالپروتکتین مدفوع به‌عنوان یک بیومارکر موضعی نسبت به نشانگرهای سیستمیک در ارزیابی التهاب روده تأکید می‌کند. بااین‌حال تعیین مقادیر مرجع استاندارد و نقاط برش برای کالپروتکتین مدفوع در گوساله‌ها، مستلزم انجام مطالعات گسترده‌تر با حجم نمونه بالاتر، در گاوداری‌های متعدد و با پیگیری طولانی‌مدت‌تر است. همچنین اعتبارسنجی سایر کیت‌های انسانی و گاوی در آینده می‌تواند به توسعه روش‌های مقرون‌به‌صرفه برای ارزیابی التهاب روده در گوساله‌ها کمک کند. اثبات قطعی وجود یا عدم وجود واکنش متقاطع ایمونولوژیک میان آنتی‌بادی‌های این کیت‌ها نیازمند طراحی‌های مستقیم آزمایشگاهی مستقل از مطالعه حاضر می‌باشد.

ملاحظات اخلاقی

مطالعه حاضر با کد اخلاق (SEP/۱۴۰۵۳/۴۶/۷۵۶) توسط معاونت پژوهشی دانشگاه شیراز تأیید و تصویب شده است.

حامی مالی

مطالعه حاضر با حمایت مالی دانشگاه شیراز انجام شده است.

سپاس‌گزاری

نویسندگان از دانشگاه شیراز به‌دلیل حمایت مالی از مطالعه حاضر، از جناب آقای دکتر آرش خدری، مدیر محترم گاوداری صنعتی پگاه فارس که در انجام مطالعه حاضر در گاوداری مذکور با ما همکاری کردند و از آزمایشگاه تشخیص طبی پردیس شیراز نیز به‌دلیل آنالیز نمونه‌های آزمایشگاهی قدردانی می‌کنند.

تعارض منافع

هیچ گونه تعارض منافعی در ارتباط با این مطالعه وجود ندارد.

References

1. Ferchiou A, Giacomini A, Herman N, Lhermie G, Raboisson D. Economics of vaccination against diarrhoea and respiratory diseases in French cow calves' systems: a modelling approach. PLoS One. 2025;20(8):e0329325. doi: 10.1371/journal.pone.0329325 PMID: 40768480

2. Veshkini A, Kühn C, Dengler F, Bachmann L, Liermann W, Helm C, et al. *Cryptosporidium parvum* infection alters the intestinal mucosa transcriptome in neonatal calves: impacts on epithelial barriers and transcellular transport systems. Front Cell Infect Microbiol. 2024;14:1495309. doi: 10.3389/fcimb.2024.1495309 PMID: 39981138

3. Mahboubi M, Falsafi T, Torabi Goodarzi M. Antimicrobial activity of Zatacin against bacterial diarrheal pathogens. Iran J Vet Med. 2016;10(4):285-292.

4. Khormali M, Zahraei Salehi T, Nayeri Fasaei B, Nikbakht Brujeni G, Yahyaraeyat R, Lotfollah Zadeh S. Isolation and molecular identification of the enterotoxigenic pathotype of *Escherichia coli* from calf diarrhea in some part of Iran. Iran J Vet Med. 2026;20(2):243-250. doi: 10.32598/ijvm.20.2.1005630

5. Pirbornatan A, Mohammadi HR, Kafshdouzan K, Jebelli Javan A. Molecular detection of some virulence factors in *Escherichia coli* strains isolated from diarrheic calves and evaluation of the antimicrobial activity of *Origanum vulgare* L. essential oil. Iran J Vet Med. 2025. doi: 10.22059/ijvm.2025.388587.1005721

6. Sejersen K, Eriksson MB, Larsson AO. Calprotectin as a biomarker for infectious diseases: a comparative review with conventional inflammatory markers. Int J Mol Sci. 2025;26(13):6476. doi: 10.3390/ijms26136476 PMID: 40650251

7. Jain AV, Gopal S, Shetty AJ, Shenoy S, Tantry BV, Unnikrishnan B, et al. Predictive accuracy of fecal calprotectin in assessing clinical activity and disease severity in patients with ulcerative colitis and Crohn's disease. BMC Gastroenterol. 2025;25(1):429. doi: 10.1186/s12876-025-04035-2 PMID: 40468181

8. Bastos BL, Meyer R, Guimarães JE, Ayres MC, Guedes MT, Moura-Costa LF, et al. Haptoglobin and fibrinogen concentrations and leukocyte counts in the clinical investigation of caseous lymphadenitis in sheep. Vet Clin Pathol. 2011; 40(4):496–503. doi: 10.1111/j.1939-165X.2011.00355.x PMID: 22092668

9. Wang X, Zhang Y, Li J, Liu H, Chen S, Zhao R. The roles of S100A8/A9 and S100A12 in autoimmune diseases: mechanisms, biomarkers, and therapeutic potential. Autoimmun Rev. 2025;24(8):103920. doi: 10.1016/j.autrev.2025.103920

10. Wang W, Cao W, Zhang S, Chen D, Liu L. The role of calprotectin in the diagnosis and treatment of inflammatory bowel disease. Int J Mol Sci. 2025;26(5):1996. doi: 10.3390/ijms26051996 PMID: 40076610

11. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. Biomed Res Int. 2013;2013:542363. doi: 10.1155/2013/542363 PMID: 24175291

12. Aadland E, Fagerhol MK. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. Eur J Gastroenterol Hepatol. 2002;14(8):823-825. doi: 10.1097/00042737-200208000-00002 PMID: 12172400

13. Sutherland AD, Gearry RB, Frizelle FA. Review of fecal biomarkers in inflammatory bowel disease. Dis Colon Rectum. 2008;51(8):1283-91. doi: 10.1007/s10350-008-9310-8 PMID: 18543035

14. Karakus AO, Temizel EM, Udum D. Determination of the relationships between serum amyloid A, serum calprotectin and fecal calprotectin in healthy and infectious diarrheic calves and their diagnostic significances as inflammatory markers. Res Vet Sci. 2023;164:105041. doi: 10.1016/j.rvsc.2023.105041 PMID: 37832244

15. Aydoğdu U, Baydar E, Kaan Ünal B. Evaluation of fecal calprotectin levels in neonatal calves with diarrhea. Vet Arh. 2024;94(6):441-448. doi: 10.24099/vet.arhiv.2439

16. Pato R, Peña R, Pelegrí-Pineda A, Crusellas-Villorbina N, Pisoni L, Devant M, et al. Validation of the fCAL turbo immunoturbidimetric assay for measurement of calprotectin in porcine and bovine fecal samples. Res Vet Sci. 2023;164:105042. doi: 10.1016/j.rvsc.2023.105042 PMID: 37806097

17. Saco Y, Crusellas-Villorbina N, Peña R, Pato R, Marti S, Pisoni L, et al. Bovine fecal biomarkers of intestinal inflammatory process: Calprotectin and lactoferrin, a comparative study. Res Vet Sci. 2025;183:105500. doi: 10.1016/j.rvsc.2024.105500 PMID: 39647213

18. Flannery C, Griffin A, Quinn J, Loughrey C, Srinivasan S. Establishment of a reference interval for calculated globulin on the Roche platform. Ann Clin Biochem. 2025;63(2):105-113. doi: 10.1177/00045632251367264 PMID: 40728856

19. Sato J, Kanata M, Yasuda J, Sato R, Okada K, Seimiya YM, et al. Changes of serum alkaline phosphatase activity in dry and lactational cows. J Vet Med Sci. 2005;67(8):813-815. doi: 10.1292/jvms.67.813 PMID: 16141693

20. Trefz FM, Lorch A, Feist M, Sauter-Louis C, Constable PD. The prevalence and clinical relevance of hyperkalaemia in calves with neonatal diarrhoea. Vet J. 2013;195(3):350-356. doi: 10.1016/j.tvjl.2012.07.002 PMID: 22967927

21. Berchtold J, Hartmann H, Hofmann W. Significance of respiratory compensation in acidosis in calves. Dtsch Tierarztl Wochenschr. 2000;107(1):10-16. PMID: 10689793

22. Berchtold J. Treatment of calf diarrhea: intravenous fluid therapy. Vet Clin North Am Food Anim Pract. 2009;25(1):73-99. doi: 10.1016/j.cvfa.2008.10.001 PMID: 19174284