ارزش تشخیصی مارکرهای آنزیمی لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر برای ورم پستان تحت بالینی در گاوهای شیری

سعید اکبری علی آباد[۱]، سیده ام البنین قاسمیان*[۲]، سیده زینب پیغمبر زاده [۳]

چکیده

ورم پستان را می توان به روش های مختلفی از جمله تست های فیزیکی، آزمون های بالینی و آزمایشگاهی تشخیص داد. هدف از این مطالعه ارزیابی دقت تشخیص ورم پستان تحت بالینی با استفاده از تست های تشخیصی آنزیمی لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر می باشد. در مطالعه حاضر ۹۰ رأس گاو هلشتاین به صورت تصادفی از بین گاوهای پر تولید و کم تولید انتخاب شدند. بر اساس نتیجه تست کالیفرنیایی ورم پستان(CMT) از کارتیه یا کارتیه های مورد نظر ۲ نمونه شیر طبق اصول نمونه گیری انجمن ملی ورم پستان امریکا (NMC) اخذ شد. یک نمونه برای کشت میکروبی در نظر گرفته شد و نمونه ی دیگر برای آزمایش لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر با استفاده ازکیت های تشخیصی و آزمایش شمارش سلولهای سوماتیک (SCC) استفاده شد. زمانی که کشت میکروبی به عنوان گلد استاندارد تشخیص ورم پستان تحت بالینی در نظر گرفته شد. حساسیت تست SCC، ALP و LDH به ترتیب ۵۹/۸۷.۳ و ۷۰/٤ درصد بود. همچنین ویژگی این تست ها به ترتیب ۸۰/۷۷.٦/۸ و ۷۷/۸ درصد بود. نتایج مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین SCCو LDH و ALP وجود دارد. از لحاظ آماری ارتباط معنی داری بین پاسخ LDH و نتیجه تست SCC مشاهده شد که با افزایش درجه SCC درجه پاسخ آنزیم LDH هم افزایش پیدا کرد. نتایج مطالعه نشان داد که از لحاظ کارایی تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو به ترتیب SCC ، LDH و ALP بهترین تست ها هستند .

واژگان کلیدی: ورم پستان تحت بالینی، لاکتات دهیدروژناز، شمارش سلولهای سوماتیک، آلکالین فسفاتاز، گاو شیری

تاریخ دریافت: ۱٤۰۱/۲/۱۸ تاریخ پذیرش: ۱٤۰۱/٤/۳۱

مقدمه

مشکل در ورم پستان تحت بالینی در این است که هیچ تغییر ظاهری در پستان یا شیر ندارد و مخفی و درمان نشده باقی می ماند و سبب ضررهای اقتصادی شدیدی در نژادهای شیری می گردد (۱). بنابراین تکنیک‌های کارآمدی که قادر باشند بیماری را در مراحل ابتدایی آن شناسایی نمایند، از اهمیت ویژه ای برخوردارند (۲, ۱). تعیین و تشخیص ورم پستان به خصوص فرم ورم پستان تحت بالینی می‌تواند با شمارش سلول‌های سوماتیک به عنوان شاخص التهابی، اندازه‌گیری بیومارکرهایی که همراه با شروع بیماری است مانند؛ آنزیم‌های ان- استیل بتا- دی گلوکوزآمینیداز و لاکتات دهیدروژناز، همچنین تشخیص نوع میکروارگانیسم‌ها امکان پذیر باشد (۳). به طور کلی شمارش سلولی برای ارزیابی تغییرات التهابی استفاده می شود. میزان سلول ها در شیر یا سلول‌های سوماتیک با استفاده مستقیم میکروسکوپی یا شمارشگرهای سلولی الکترونیکی و یا به وسیله روش‌های غیر مستقیم مانند تست ورم پستان کالیفرنیایی تخمین زده می‌شود (٤). فعالیت‌های آنزیمی شیر تحت تاثیر فاکتورهای مختلف مانند، دوره شیردهی، فصل، نژاد، گونه، تغذیه و ورم پستان می باشد (۵). شمارش سلول های سوماتیک می تواند به عنوان شاخص ارزیابی کیفیت بهداشتی شیر استفاده شود (٦). بنابراین جهت تشخیص زود هنگام ورم پستان تحت بالینی نیاز به بیومارکرهای جدیدی است که نه تنها دارای دقت تشخیصی بالایی باشند، بلکه از تکنیک‌های روتین به آسانی و سریع تعیین گردند (۱). اخیرا کاربرد پروتئین های فاز

۱- گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران.
۲- گروه دامپزشکی، واحد بهبهان، دانشگاه آزاد اسلامی، بهبهان، ایران. Ghasemian1249@yahoo.com
۳- گروه دامپزشکی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر، ایران.

حاد و شاخص های اکسیداتیو و آنتی اکسیداتیو در بررسی و مدیریت سلامت حیوان مورد توجه فراوان قرار گرفته است و مشخص گردیده که اندازه گیری این پروتئین‌ها و شاخص‌ها در شیر ارزش تشخیصی دارد، ولی به دلیل پر هزینه بودن کیت های تشخیصی آن‌ها، استفاده از آن‌ها به عنوان روش های رایج نیاز به زمان دارد (۷-۱۰).

سالهاست که به استفاده آنزیم های مختلف در شیر به عنوان بیومارکرهایی جهت شناسایی ورم پستان تاکید و توجه شده است و مشخص گردیده که تعیین میزان فعالیت آنزیم های شیر دارای توانایی تشخیصی برای ورم پستان هستند (۷, ۱۱). چرا که برخی از آنزیم های شیر نظیر لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز در التهاب پستان افزایش می یابند و توانایی آن را دارند که به عنوان یک آزمایش غربالگر در تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده شوند (۲, ۷, ۱٤-۱۲). هجوم لوکوسیت‌های چند هسته ای و ماکروفاژها یکی از دفاع ضروری بدن در برابر التهاب پستان است. در طی روند التهابی، این سلول‌ها و سلول‌های آسیب دیده اپیتلیوم پستان و سلول‌های بینابینی، فراورده‌هایی ترشح می کنند که در بردارنده آنزیم‌های هیدرولیتیک می باشند. برخی از این آنزیم ها همچون لاکتات دهیدروژناز جزو آنزیم‌های غیر لیزوزومی و برخی دیگر لیزوزومی اند (۲). لاکتات دهیدروژناز آنزیم سیتوپلاسمی است که به عنوان بیومارکری جهت سلامت پستان پیشنهاد شده است (۲, ۱۳, ۱۵, ۱٦). همچنین پژوهش ها نشان داده که فعالیت این آنزیم به طور معنی داری در شیرهای اخذ شده از کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی نسبت به کارتیه‌های سالم افزایش می یابد و میزان فعالیت این آنزیم در شیر همبستگی زیادی با سلول‌های سوماتیک به خصوص در کارتیه‌های مبتلا به ورم پستان دارد (۲, ۷, ۱٦-۱۳). منشا فعالیت لاکتات دهیدروژناز افزایش یافته ناشی از لوکوسیت هایی است که در شیر ورم پستانی یافت می شوند (۱٤) و همچنین سلول‌های اپیتلیوم پستانی و بینابینی که در روند التهابی آسیب دیده اند (۲). اگرچه اهمیت سلول‌های اپیتلیال آسیب دیده برای فعالیت لاکتات دهیدروژناز در شیر مشخص نیست (۱٤). منشا فعالیت آلکالین فسفاتاز از لوکوسیت ها و سلول‌های اپیتلیال پستانی و سلول‌های بینابینی آسیب دیده در طی التهاب و خصوصا ناشی از لوکوسیت های تخریب شده است(۱۷). همچنین از آنجایی که سد خونی –شیری بر اثر عفونت آسیب می بیند، لذا این احتمال وجود دارد که لاکتات دهیدروژناز یا آلکالین فسفاتاز از خون به شیر منتقل می شوند(۲) . اخیرا تلاش های زیادی به منظور پیدا کردن روش های جایگزین مناسب برای کشت باکتریایی شمارش سلول های سوماتیک (استاندارد طلایی تشخیص ورم پستان تحت بالینی) صورت پذیرفته است، از این رو اندازه گیری فعالیت آنزیم های لاکتات دهدروژناز و آلکالین فسفاتاز در بررسی و مدیریت سلامت حیوان مورد توجه فراوان قرار گرفته است. هدف از این مطالعه، تعیین ارزش تشخیصی(نقطه برش، حساسیت، ویژگی، درستی بالینی) میزان فعالیت آنزیم های لاکتات دهدروژناز و آلکالین فسفاتاز موجود در شیر در تشخیص زود هنگام بیماری تورم پستان تحت بالینی در گاو و ارتباط بین این پارامتر ها و بیماری تورم پستان تحت بالینی در گاو می باشد.

مواد و روش کار

مطالعه حاضر بر روی ۹۰ راس گاو شیری نژاد هلشتاین۱ تا ۷ شکم زایش با میانگین سن ۱۹/۱۳۷ ± ۵۸/۳٦ ماه در یک واحد صنعتی شرکت گسترش کشاورزی دامپروری فردوس پارس (سهامی خاص) و واحد تجاری نهایی گروه،

بنیاد مستضعفان انقلاب اسلامی یاسوج- استان کهگیلویه و بویر احمد) با ۲٤۰۰ راس گاو دوشا در یک بازه زمانی ٦ ماهه، در پاییز و زمستان سال ۱٤۰۰ انجام شد. گاوها به صورت تصادفی از بین گاوهای در دوره شیرواری و پیک تولید شیر (۷۰ تا ۱۰۰ روز پس از زایمان) انتخاب شدند و هر ٤ کارتیه پستان گاوها مورد آزمایش ورم پستان کالیفرنیایی(CMT) با استفاده از معرف های آماده تجاری(Shirazma Co., Noor, Iran) قرارگرفت. گاوهایی که CMT هر ٤ کارتیه منفی بود در گروه گاوهای احتمالا سالم (گروه کنترل) هستند و گاوهایی که CMT یکی از کارتیه ها مثبت بود (کارتیه های دو مثبت و بالاتر و بدون نشانه های ظاهری بیماری) در گروه گاوهایی که احتمالا مبتلا به ورم پستان تحت بالینی قرار گرفتند. در گاوهایی که CMT شیر هر چهار کارتیه آنها منفی بود، شیر هر ٤ کارتیه و در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی شیر کارتیه مبتلا تحت شرایط استریل اخذ گردید؛ بنابراین، از ۳۵ گاو سالم و ۵۵ گاو مبتلا به تورم پستان تحت بالینی نمونه های شیر(۱۰ میلی لیتر) قبل از دوشش ظهر به طریق استریل در فالکون های استریل جمع آوری شد. نمونه های شیر در کنار یخ به آزمایشگاه حمل وپس از آن کشت باکتریایی و شمارش سلول های سوماتیک شیر به وسیله ی دستگاه فوزوماتیک ۹۰ ساخت کشور دانمارک انجام گرفت. به منظور جداسازی باکتریها، روی محیط آگار خون دار برای رشد باکتر ی های گرم مثبت وگرم منفی و محیط مک کانکی آگار برای رشد باکتری های گرم منفی کشت داده شدند. این محیط ها به مدت ٤۸ ساعت در دمای۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه شدند. در مواردی که پس از ٤۸ ساعت هیچ پرگنه ای مشاهده نمی شد نمونه مورد نظر، منفی در نظر گرفته شد. پس از تهیه کشت خالص، گسترش و رنگ آمیزی، شناسایی باکتریها مطابق با دستورالعمل موسسه ملی ورم پستان انجام گرفت. در نهایت گاوهایی که تعداد سلول‌های سوماتیک شیر هر ٤ کارتیه کمتر از ۱۳۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر شیر و کشت باکتریایی آنها منفی بودند، به عنوان نمونه‌های سالم (گروه شاهد) و گاوهایی که تعداد سلول‌های سوماتیک شیر حداقل یک کارتیه بیش از ۱۳۰۰۰۰ سلول در هر میلی لیتر شیر داشتند و کشت باکتریایی آنها مثبت بود، به عنوان گاوهای مبتلا به تورم پستان تحت بالینی در نظر گرفته شد. در گاوهای سالم، شیر هر ٤ کارتیه با یکدیگر مخلوط و به عنوان یک نمونه در نظر گرفته شد.

نمونه‌های شیر گاوهای سالم و بیمار در دور ۱۵۰۰۰ به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی گراد سانتریفیوژ و شیر بدون چربی (سرم شیر یا همان لایه میانی) تهیه و اماده می‌شود. سپس شیر بدون چربی از کیت‌های تهیه شده از شرکت پارس آزمون، تهران- ایران، عمل اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های لاکتات دهیدروژناز (U/L) آلکالین فسفاتاز و (U/L)، در نمونه‌های شیر به روش کینیتیک آنزیمی و توسط دستگاه اتوآنالیزور بیوشیمی (Germany, Gotte, ST-RA) بر اساس روش نارنجی ثانی صورت می گیرد (۱۸).

جهت ارزیابی توانایی آنزیم های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز در تشخیص ورم پستان تحت بالینی منحنی Receiver Operating Characteristic (ROC)رسم و سطح زیر منحنی گزارش شد. سپس حساسیت و ویژگی آنزیم ها محاسبه و گزارش شد. حساسیت، قابلیت تست در تشخیص درست موارد بیمار (درصدی از بیماران واقعی که توسط تست به درستی مثبت تشخیص داده شده اند) و ویژگی، قابلیت تست در

تشخیص درست موارد سالم (درصدی از دام های سالم واقعی که توسط تست به درستی منفی تشخیص داده شده اند) می باشد. بعد از جمع آوری اطلاعات، نتایج با استفاده از نرم افزار SPSS تحت ویندوز ویرایش ۲۰ با انجام آزمون t-student برای مقایسه میانگین های میزان فعالیت آنزیم های لاکتات دهیدروژنازو آلکالین فسفاتاز شیر در دو گروه، از آنالیز همبستگی پیرسون، و برای تعیین نرمال بودن داده ها از آزمون Lilliefors استفاده شد.

نتایج

نتایج ردیابی ورم پستان تحت بالینی و تست CMT در گاوداری مورد مطالعه نشان داد از ۲۱۰ گاو تست CMT گرفته شده سپس بر اساس شمارش سلول های سوماتیک به دو گروه کمتر و بیشتر از $۱۰^۳ \times ۱۳۰$تقسیم بندی شد. سپس به طور تصادفی از گاو هایی که تعداد سلول های سوماتیک آن کمتر از $۱۰^۳ \times ۱۳۰$بود ۳۵ نمونه و از گاو هایی که تعداد سلول های سوماتیک آن بیشتر از $۱۰^۳ \times ۱۳۰$ بود ۵۵ نمونه انتخاب شد که نتیجه تست CMT در ۲۸ مورد منفی ، ۷ مورد مشکوک ، ۲۱ مورد ۱+ ، ۲۱ مورد ۲+ و ۱۳ مورد ۳+ مشاهده شد و برای کشت باکتریایی به آزمایشگاه فرستاده شد. از این ۹۰ نمونه ٥٤ نمونه تست کشت باکتریایی مثبت و ۳٦ نمونه نمونه منفی گزارش شد که فراوانی باکتری های جدا شده از نمونه ها ۲۲ نمونه استافیلوکوکوس کوآگولاز مثبت (٢٤/٥٪)، ۱۱ نمونه استافیلوکوکوس کوآگولاز منفی(۱۲/۲٪)، ٤ نمونه *استرپتوکوکوس دیس آگالاکتیه* (٤/٥٪)، ۲ نمونه *استرپتوکوکوس یوبریس*(۲/۲٪)، ٤ نمونه *استرپتوکوکوس آگالاکتیه* (٤/٥٪)، ۳ نمونه *کورینه باکتریوم بویس*(۳/۳٪)، ۱ نمونه باسیلوس(۱/۱٪)، ۵ نمونه *اشریشیا کلی*(۵/۵٪) ، ۱ نمونه انترو باکتر(۱/۱٪)، ۱ نمونه کلبسیلا (۱/۱٪)، و ۳٦ نمونه تست کشت باکتریایی منفی(٤٠٪) بود (جدول۱).

جدول ۱ : فراوانی باکتری های جدا شده از کل گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

نوع باکتری	تعداد	درصد
Coagulase + Staphylococcus	۲۲	۲٤/٥
Coagulase - Staphylococcus	۱۱	۱۲/۲
Streptococcus dysagalactiae	٤	٤/٥
Streptococcus uberis	۲	۲/۲
Streptococcus agalactiae	٤	٤/٥
Corynebacterium bovis	۳	۳/۳
Bacillus spp.	۱	۱/۱
Esherichia coli	٥	٥/٥
Enterobacter spp.	۱	۱/۱
Klebsiella spp	۱	۱/۱
Negative	۳٦	٤٠

تحلیل آماری تفاوت و مقایسه بین میانگین، انحراف معیار حداقل، حداکثر و دامنه دو گروه مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و گاوهای سالم برای متغیر شمارش سلول های سوماتیک SCC، میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز، میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز در جدول (۲) و همچنین برای متغیرهای چربی، پروتئین موجود در شیر، میانگین تولید شیر، تعداد زایش، BCS و سن گاو ها در جدول (۳) نشان داده شده اند. نتایج این بررسی به صورت زیر است: میانگین های تعداد سلول های سوماتیک شیر در

دو گروه گاوهای بیمار و سالم با یکدیگر دارای اختلاف آماری معنی داری بوده اند (p<۰/۰۰۰۱). از دیگر نتایج تحقیق، وجود اختلاف آماری معنی دار در میانگین های میزان فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز شیر(p<۰/۰۰۰۱) و وجود اختلاف آماری معنی دار در میانگین های میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز موجود در شیر در بین گاوهای سالم و مبتلایان به ورم پستان تحت بالینی می باشد (p<۰/۰۰۰۱). که میانگین هر سه متغیر در گاو های مبتلا بالاتر از گاو های سالم بود جدول (۲).

میانگین میزان متغیرهای تعداد زایش، BCS و سن در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بطور بسیار معنی داری نسبت به گاوهای سالم بالاتر بود (p<۰/۰۰۰۱) جدول(۳).

میانگین میزان پروتئین شیر ، میانگین تولید شیر و چربی موجود در شیر گاو های سالم بطور بسیار معنی داری نسبت به گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بالاتر بود (p<۰/۰۰۰۱) (جدول۳).

ضرایب همبستگی پیرسون بین متغیرهای آنزیم لاکتات دهیدروژناز و آنزیم آلکالین فسفاتاز و پروتئین موجود در شیر و شمارش سلولهای سوماتیک SCC شیر در جدول (جدول ٤) نشان داده شده است. درخصوص ارتباط متغیر شمارش سلول های سوماتیک و آنزیم لاکتات دهیدروژناز، همبستگی بین متغیرها معنی دار (p<۰/۰۱) و از نوع قوی و مثبت می باشد(r = ۰/۹۰۵) (جدول ٤).

نتایج نشان داد بین متغیرهای شمارش سلول‌های سوماتیک و فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر همبستگی معنی دار (p<۰/۰۱) و قوی و مثبت است (r = ۰/۸۳۷) (جدول ٤). همبستگی میان میزان پروتئین موجود در شیر با تعداد سلول‌های سوماتیک (r = −۰/۲۵) و آنزیم لاکتات دهیدروژناز (r = −۰/۲٦۸) محاسبه شد که با هر دو دارای یک ارتباط ضعیف و منفی معنی داری بود(p<۰/۰۵) (جدول ٤).

مقدار ضریب همبستگی میان میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز شیر و آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر نیز محاسبه شده است. مقدار این ضریب بین آنزیم لاکتات دهیدروژناز شیر و آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر به وجود یک ارتباط قوی و مثبت و معنی دار (r = ۰/۷۵۷ و p < ۰/۰۱) اشاره دارد (جدول ٤).

از آنالیز راک نیز به منظور تعیین کارایی تست های شمارش سلولهای سوماتیک، آنزیم لاکتات دهیدروژناز شیر و آنزیم آلکالین فسفاتاز موجود در شیر با در نظر گرفتن شمارش سلول های سوماتیک و کشت میکروبی به عنوان گلد استاندارد در تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده شد. منحنی راک، مقادیر مثبت حقیقی (حساسیت) و منفی حقیقی (ویژگی) را در تمام نقاط برش ممکن نشان داد. سطح زیر منحنی به منظور ارزیابی کارایی تست مورد استفاده قرار گرفت. سطح زیر منحنی بین ۰/۵–۰/۷ بیانگر درستی بالینی پایین، سطح زیر منحنی بین ۰/۷–۰/۹ بیانگر

جدول ۲: نتایج آمار توصیفی برای سلول های سوماتیک، آنزیم لاکتات دهیدروژناز و آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر در گاوهای هلشتاین سالم (n=۳۵) و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی(n=۵۵).

پارامتر	تعداد سلولهای سوماتیک در شیر Cells×10³/ml	میانگین ± انحراف معیار	حداقل–حداکثر	دامنه	p-value*
تعداد سلولهای سوماتیک در شیر Cells×10³/ml	<۱۳۰	۵۵/۰۱ ± ۳٤/۰۳٤	۲ – ۱۲۹/٦	۱۲۷/٦	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳۷۵/٤۷ ± ۲۳۹/۸۵۸	۱۳۱–۱۰۰۰	۸٦۹	
آنزیم آلکالین فسفاتاز (U/ml)	<۱۳۰	۳۱۲/۹۸ ± ۳۲۲/۰۳۹	۸/۱ –۱۵۵۵	۱۵٤٦/۹	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۱۰٦٤/۱۹ ± ٤۹۷/۹۷۱	۲۹/۵ –۱۹۸۰	۱۹۵۰/۵	
آنزیم لاکتات دهیدروژناز(U/ml)	<۱۳۰	٦۷/۵۵ ± ۱۲۱/۸٦۷	۳/۳ – ٦٦۱	٦۵۷/۷	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳۹۱/۸۹۱ ± ۲۹۵/۱۵۵	۵/۹ – ۹۲۰	۹۱٤/۱	

*آزمون t-student بین گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

جدول۳: نتایج آمار توصیفی برای متغیر های چربی، پروتئین، میانگین تولید شیر، تعداد زایش، BCS و سن در گاوهای هلشتاین سالم (n=۳۵) و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی(n=۵۵).

پارامتر	تعداد سلولهای سوماتیک در شیر Cells×10³/ml	میانگین ± انحراف معیار	حداقل–حداکثر	دامنه	p-value*
چربی شیر	<۱۳۰	۳/٦٦ ± ۰/٦۷۵	۲/۵۳ – ۵/۷۸	۳/۲۵	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳/۵۷ ± ۰/٦۸۵	۲/۱۱ – ۵/۵۲	۳/٤۱	
پروتئین شیر	<۱۳۰	۳/۳۲ ± ۰/۲٦۹	۲/۹ – ۳/۸٦	۰/۹٦	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳/۲۳ ± ۰/۲۸۱	۲/۵۷ – ۳/۸	۱/۲۳	
میانگین تولید شیر	<۱۳۰	۲۷/۹۵ ± ۵/۸۷۹	۱۸–٤۳	۲۵	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۲۷/۷۲ ± ۷/٦٤۸	۱۳–٤٤	۳۱	
تعداد زایش	<۱۳۰	۲/۲۹ ± ۰/۸٦۰	۱–۵	٤	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳/۱۳ ± ۱/٦۵٦	۱–۷	٦	
BCS	<۱۳۰	۳/۲٦ ± ۰/۲۷۷	۲/۸ – ۳/۸	۱	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۳/۲۸ ± ۰/۳٤۸	۲/۵ – ٤	۱/۵	
سن	<۱۳۰	۱۵۷۷/۲۹ ± ۲۹۱/۵٤۲	۹۲٤–۲۳٤۹	۱٤۲۵	۰/۰۰۰۱
	>۱۳۰	۱۸٦۱/٤۹ ± ٦۷٦/۵٦۲	۸۵۵–۳۳۹٦	۲۵٤۱	

*آزمون t-student بین گاوهای سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی

جدول ٤: ضرایب همبستگی پیرسون بین تعداد سلول های سوماتیک و آنزیم های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز و پروتئین موجود در شیر (n=۹۰)

پارامتر	آنزیم لاکتات دهیدروژناز	آنزیم آلکالین فسفاتاز	سلولهای سوماتیک در شیر	پروتئین شیر
سلولهای سوماتیک در شیر	**۰/۹۰۵	**۰/۸۳۷	۱	*- ۰/۲۵
آنزیم آلکالین فسفاتاز	**۰/۷۵۷	۱	**۰/۸۳۷	-
آنزیم لاکتات دهیدروژناز	۱	**۰/۷۵۷	**۰/۹۰۵	*- ۰/۲٦۸
پروتئین شیر	*- ۰/۲٦۸	-	*- ۰/۲۵	۱

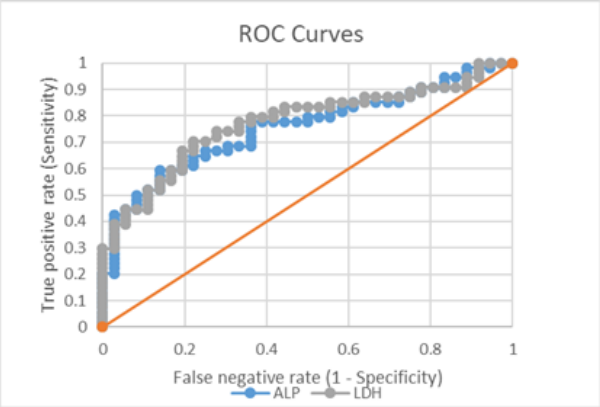
** وجود همبستگی معنی دار بین میزان پارامترهای مورد سنجش p<۰/۰۱

* وجود همبستگی معنی دار بین میزان پارامترهای مورد سنجش p<۰/۰۵

جدول ۵ : نتایج منحنی راک مربوط بهSCC ، ALP و LDH بر اساس نتیجه کشت باکتریایی به عنوان گلد استاندارد.

پارامتر	نقطه برش	حساسیت (با محدوده اطمینان ۹۵٪)	ویژگی (با محدوده اطمینان ۹۵٪)	درستی بالینی یا سطح زیر منحنی (با محدوده اطمینان ۹۵٪)
شمارش سلولهای سوماتیک شیر	۱۲۹/٦	٪۸۷	٪۷۷/۸	٪۸٦
آنزیم آلکالین فسفاتاز	۸۷۱	٪۵۹/۳	٪۸٦/۱	٪۷۵/٦
آنزیم لاکتات دهیدروژناز	۱۱۳	٪۷۰/٤	٪۷۷/۸	٪۷۷/۳

نمودار ۱: نمودار منحنی راک مربوط بهSCC ، ALP و LDH بر اساس نتیجه کشت باکتریایی



درستی بالینی متوسط و سطح زیر منحنی بالاتر از ۰/۹ نشان دهنده درستی بالینی بالا برای هر تست تشخیصی بود (Gardner and Greiner, 2006).

حساسیت و ویژگی، درستی بالینی (سطح زیر منحنی) و نقطه برش آنزیم لاکتات دهیدروژناز شیر و آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر و میزان سلول های سوماتیک موجود در شیر بر اساس نتیجه کشت باکتریایی به عنوان گلد استاندارد در تشخیص ورم پستان تحت بالینی در جدول (۵) نشان داده شده است.

نتایج منحنی راک بر اساس کشت باکتریایی نشان داد سطح زیر منحنی جهت ارزیابی ارزش تشخیص برای تست SCC ، ALP و LDH به ترتیب، ۸۶٪ ،۷۵/۶٪ و ۷۷/۳٪ بود که نشانگر درستی بالینی متوسط برای هر سه مورد می باشد که به ترتیب تعداد سلول های سوماتیک، میزان لاکتات دهیدروژناز و میزان آلکالین فسفاتاز داری بالاترین درستی بالینی می باشند (جدول۵).

نقاط برش در شمارش سلول های سوماتیک ، LDH و ALP به ترتیب ۱۲۹/۶ ، ۱۱۳ و ۸۷۱ می باشد .در این نقاط مجموع حساسیت و ویژگی بزرگترین عدد را نمایش می دهد (جدول۵).

حساسیت و ویژگی در میزان سلول های سوماتیک ۸۷٪ و ۷۷٪/۸، میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر ۵۹/۳٪ و ۸۶/۱ ٪ و در میزان آنزیم لاکتات دهیدروژناز ۷۰/۴٪ و ۷۷/۸٪ بود که بالاترین حساسیت مربوط به تست شمارش سلول های سوماتیک و بالاترین ویژگی را میزان آنزیم آلکالین فسفاتاز شیر دارا بود (جدول۵) (نمودار۱).

بحث

سالهاست که به استفاده آنزیم های مختلف در شیر به عنوان بیومارکرهایی جهت شناسایی ورم پستان تاکید و توجه شده است و مشخص گردیده که تعیین میزان فعالیت آنزیم های شیر دارای پتانسیل تشخیصی برای ورم پستان هستند (۷).

چرا که برخی از آنزیم های شیر نظیر لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز در التهاب پستان افزایش می یابند و پتانسیل آن را دارند که به عنوان یک آزمایش غربالگر در تشخیص ورم پستان تحت بالینی استفاده شوند (۲, ۷, ۱۲–۱۴) .هدف از مطالعه حاضر بررسی کارآیی استفاده از تست هایSCC، LDH و ALP در تشخیص ورم پستان تحت بالینی و همچنین بررسی ارتباط آن با گروههای مختلف بود. پژوهشگران در مطالعه حاضر به دنبال آن بودند که در صورت کارآیی بیشتر این روش ها نسبت به روشهای تشخیصی CMT ، SCC و کشت و با توجه به صرفه جویی

در هزینه، وقت و امکان تشخیص سریعتر نسبت به سایر تستها روش تشخیصی مناسبی را جهت استفاده در سطح دامداری ارائه کنند.

در منحنی راک مربوط به تست SCC بر اساس کشت باکتریایی به عنوان گلد استاندارد همانطور که اشاره شد در نقطه برش پیشنهادیcells/ml ۱۲۹۶۰۰ میزان حساسیت، ویژگی و درستی بالینی به ترتیب ۸۷ ،۷۷/۸ و ۸٦ درصد بدست آمد. در ابتدا در این مطالعه، یک تست غربالگری فردی CMT برای کارتیه های پستانی در هر گاو انجام شد. تست CMT دارای یک ارتباط عملی عالی در این مطالعه و پیشگیری ورم پستان دارد که روشی سریع و عملی بوده که اغلب برای نظارت و ارزیابی گله های شیری استفاده می شود (۱۹). اما ممکن است دارای نتایج مثبت و منفی کاذب باشد. بنابراین الحاق استفاده CMT با SCC برای یک تشخیص مناسب تر در گله، همانطوری که آنها ارتباط و وابستگی زیادی دارند بسیار مهم است (۲۰). ولی بدلیل اینکه SCC چندین سال در سطح بین المللی استفاده و قابل قبول است. پس SCC یک شاخص مهم ارزیابی سلامت غدد پستانی و تعیین میزان سلول های سوماتیک در شیر که عمدتا شامل سلول های اپیتلیال منسوخ شده، ماکروفاژها و نوتروفیل ها ست (۲۱). نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده ازتست تشخیصی LDH در مقایسه با روش تشخیص گلد استاندارد مشتمل برکشت مثبت و SCCبیشتر از ۱۳۰۰۰۰ دارای حساسیت ۷۰/٤ درصد و ویژگی ۷۷/۸ درصد است که میزان حساسیت مشابه نتیجه ی به دست آمده در مطالعه Chagunda و همکاران در سال ۲۰۰٦ بود که در دو گروه شامل گاوهای سالم و گاوهای مبتلا به ورم پستان میزان NAGase و LDH را به وسیله‌ی فلورومتر اندازه گیری کردند و نشان دادند که رابطه‌ی SCC و LDH در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی بسیار قوی‌تر از این رابطه در گاوهای سالم و حساسیت تست LDH بالاتر از تست NAGase است (حساسیت تست LDH ۷۳ درصد و ویژگی آن ۹۲ درصد بود) (۱٦). تفاوت در میزان ویژگی با مطالعه حاضر می تواند به خاطر نوع دسته بندی متفاوت و در نظر گرفتن SCC بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ هزار باشد در حالی که در مطالعه حاضر SCC بیشتر از ۱۳۰۰۰۰ در نظر گرفته شد. نتایج تحلیل های آماری نشان می دهد که رابطه همبستگی مثبت و قوی و معنی داری بین تست آنزیم لاکتات دهیدروژناز و تعداد سلول های سوماتیک موجود در شیر وجود دارد و با افزایش تعداد سلول های سوماتیک در شیر درجه پاسخ تست آنزیمی لاکتات دهیدروژناز موجود در شیر هم افزایش پیدا (r=٪۹۰/۵ و P<۰/۰۱) این نتیجه مشابه مطالعه صورت گرفته توسط Hiss و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Chagunda و همکاران در سال ۲۰۰٦ بود (۱٤, ۱٦).

منشا LDH در شیر مبتلایان به ورم پستان تحت بالینی به حضور لوکوسیت ها و سلول های اپیتلیال در غدد پستانی

نسبت داده می شود (۵). ضمن آنکه سایر روش های روتین تشخیصی ورم پستان از جمله تعیین میزان فعالیت آنزیم های موجود در شیر بخصوص فعالیت آنزیم های لاکتات دهیدروژناز در شیر، روش تشخیصی قابل قبولی برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی در ابتدای شیرواری و جهت غربال حیوانات جهت درمان انتخابی دوره خشک نیز مناسب می باشد(۲). در مطالعه Hiss و همکاران در سال ۲۰۰۷ میزان LDH به وسیله دستگاه آنالیزور اندازه گیری شد. حساسیت و ویژگی تست LDH به ترتیب ۸۰ و ۸۷ درصد بود(١٤). در پژوهشی نشان داده شد که تست های بررسی غدد پستانی مانند تعیین میزان LDH که در طول ورم پستان تحت بالینی بالا می رود و از دقت بالایی برخوردار است و می توانند به آسانی در فارم مورد استفاده قرار گیرند و میزان شیوع ورم پستان را سریعا جهت اجرای مدیریت و درمان، تعیین و مورد سنجش قرار دهند (۲۲).

همچنین تحقیقات دیگری در این راستا انجام شده که نشان می دهد میانگین فعالیت آنزیم لاکتات دهیدروژناز در شیرهای اخذ شده از گاوهای دارای ورم پستان تحت بالینی به طور معنی داری بالاتر از شیرهای اخذ شده از گاوهای سالم بود (١٦–١٣, ٧, ٢). احمد و فهیم (۲۰۱۸) بیان داشتند که همبستگی بسیار بالایی بین SCC وLDH مشاهده می گردد و نشان دادند که اندازه گیری LDH با داشتن حساسیت و ویژگی بالا بسیار آسان و ارزان بوده که می تواند برای تشخیص نوع میکروارگانیسم ایجادی ورم پستان تحت بالینی با کمک روش های کشت میکروبی و اجرای درمان موثر ورم پستان تحت بالینی مناسب باشد، به طوری که از بروز ورم پستان بالینی و انتقال آن به سایر دام ها جلوگیری و در تولید شیر با کیفیت خود جهت مصرف انسانی مفید و مناسب باشد (۲۳).

گوها و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطالعه ای را بر روی LDH در شیر گاومیش انجام دادند. در این مطالعه میزان LDH توسط کیت تجاری اندازه گیری شد و نشان داد که در گروه دارای ورم پستان تحت بالینی و به ویژه آن هایی که درگیر با عفونت استرپتوکوکی بودند میزان LDH بیشتر بود. حساسیت LDH در تشخیص ورم پستان تحت بالینی ٣٤ درصد و ویژگی آن ۹۲ درصد بود(٢٤). سجادی و همکاران در سال ۲۰۲۱ رابطه معنی داری بین پاسخ نوار تشخیصی لاکتات دهیدروژناز و میزان سلول های سوماتیک موجود در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشاهده کردند که با افزایش درجه نوار تشخیص، میزان سلول های سوماتیک در شیر هم افزایش می یافت که نشان از همبستگی مثبت و معنی دار (r=۰/٦ و P<۰/۰۰۱) نوار تشخیص با میزان سلول های سوماتیک در شیر است (۱۰). در مطالعه سجادی و همکاران ۲۰۲۱ در مورد کارایی نوار های لاکتات دهیدروژناز نتایج حساسیت و ویژگی تست ها به این صورت بود که با در نظر گرفتن کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد، حساسیت تست SCC ، LDH و CMT به ترتیب ٧٤،٦٩ و ۹۳/۳ درصد بود.

همچنین ویژگی این تست ها به ترتیب ۷۱ ،٥٤ و ٥٠/٨ درصد بود. از لحاظ کارایی تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو تست های SCC ، CMT و استفاده از نوار سنجش LDH به ترتیب بهترین روشها هستند (۱۰). علت تفاوت این مطالعه (تفاوت دسته بندی گاو در استفاده از SCC بالاتر از ۲۰۰۰۰۰ می باشد) با مطالعه حاضر در این است که در مطالعه حاضر از SCC بالاتر از ۱۳۰۰۰۰ استفاده شد و همچنین اندازه گیری توسط کیت های تجاری و دستگاه اسپکتروفوتومتر بود. کلانتری و همکاران در سال ۲۰۱۳ با در نظر گرفتن شمارش سلول های سوماتیک و کشت باکتریایی شیر به عنوان استاندارد طلایی در تشخیص ورم پستان تحت بالینی، مشاهده شد که لاکتات دهیدروژناز در نقطه برش پیشنهادی U/L ۱۰۹ به ترتیب دارای حساسیت ، ویژگی و درستی بالینی ٪۹٤/۸ ، ٪۹٤/۱ و ۰/۹۹۲ بود، که با نتایج تحقیق ما همخوانی داشت (۷). افزایش معنی داری در میزان فعالیت آنزیمLDH در شیر گاومیش های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی با حساسیت و ویژگی ۹۵٪ در مقایسه با گاو میش های سالم مشاهده شد. همچنین همبستگی مثبت قوی و معنی داری بین میزان SCC و LDH مشاهده شد (۲۵).

روش های آزمایشگاهی کالریمتریک و فلومتریک برای اندازه گیری غلظت آنزیم لاکتات دهیدروژناز که در شیر افزایش می یابد، توسعه یافته اند. روش اندازه گیری انزیم لاکتات دهیدروژناز روشی سریع می باشد(۳).

در بررسی ارتباط بین ورم پستان تحت بالینی گاوهای شیری و فعالیت آنزیم LDH، نتیجه گیری شد که فعالیت آنزیم LDH در شیر افزایش معنی داری نسبت به گاوهای سالم دارد این در حالی است که فعالیت این آنزیم در سرم خون بین دو گروه از گاوها اختلاف معنی داری نشان نداد. بنابراین بررسی میزان این آنزیم در شیر ممکن است برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی در مراحل اولیه مناسب باشد (۵).

کاتسولوس و همکاران در سال ۲۰۱۰ گزارش کردند که فعالیت لاکتات دهیدروژناز در نقطه برش U/L ۱۹۷ برای گوسفند و U/L ۱۸۵ برای بز به ترتیب در گوسفند و بز دارای حساسیت ۹۲/۸٪ و ۹۸/۲٪ و ویژگی ۹۵/٤٪ و ۹٦/۳٪ اندازه گیری فعالیت لاکتات دهیدروژناز در میان سایر آنزیم ها روشی حساس و قابل اطمینان در تشخیص ورم پستان تحت بالینی بود (۱۷). نتایج مربوط به منحنی راک تست آلکالین فسفاتاز بر اساس کشت باکتریایی در نقطه برش (U/ml) ۸۷۱ ، حساسیت ٥۹/۳ ٪ و ویژگی۸٦/۱ ٪ و درستی بالینی متوسط ۷٥/٦ ٪ را نشان داد (p<۰/۰۰۰۱). در تحقیقات کلانتری و همکاران سال ۲۰۱۳ که بر روی اثر تشخیصی لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر در گاو های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بود ، آنزیم الکالین فسفاتاز شیر در نقطه برش ٤۰۹U/ml دارای حساسیت ۸۳/۱ ٪ و ویژگی ۷۷/۹ ٪ و

درستی بالینی ۰/۸۵۹ بود که نشان دهنده درستی بالینی متوسط می باشد که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (۷). همچنین نتایج این مطالعه همبستگی مثبت و قوی و معنی داری (r=٪ ۸۳/۷ و P<۰/۰۱) را بین فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز موجود در شیر و شمارش سلول های سوماتیک شیر نشان داد. که با افزایش تعداد سلول های سوماتیک شیر میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز هم افزایش می یابد.

در بررسی کلانتری و همکاران در سال ۲۰۱۳ ، میان میزان فعالیت آنزیم آلکالین فسفاتاز و موجود در شیر و شمارش سلول های پیکری موجود در شیر به طور بسیار معنی داری (P<۰/۰۰۱) همبستگی مثبت وجود داشت که با مطالعه ما و یانگ و همکاران (۲۰۱۱) مطابقت دارد (۷, ۱۳). یانگ و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش کردند که آنزیم آلکالین فسفاتاز و لاکتات دهیدروژناز در شیر می تواند روش تشخیصی مناسبی در تشخیص ورم پستان تحت بالینی در نظر گرفته شود (۱۳). تحقیقات حاضر نشان می دهد اندازه گیری فعالیت آنزیم های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر که هم آسان و هم کم هزینه تر از سایر روش هاست می تواند به عنوان یک روش تشخیصی با حساسیت و ویژگی قابل قبول جهت شناسایی کارتیه های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مورد استفاده قرار گیرد. ضمن آنکه بر خلاف سایر روش های روتین تشخیصی ورم پستان، در ابتدای شیرواری و جهت غربال حیوانات جهت درمان انتخابی دوره خشک نیز مناسب می باشد (۲).

ایبتیسما، زوبیر و اونی در سال ۲۰۰۵ به این نتیجه رسیدند که بررسی میزان آنزیم های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز در سرم خون و شیر گاو می تواند به عنوان شاخص عفونت پستانی (ورم پستان بالینی و تحت بالینی) استفاده شوند (۱۲). افزایش فعالیت ALP دلالت بر استرس اکسیداتیو افزایش یافته داشته که بطور بالقوه می تواند به عنوان شاخص تشخیصی اولیه ی بیماری مزمن و مقاومت و ماندگاری ورم پستان تحت بالینی ناشی از *استافیلوکوکوس ارئوس* در گاوهای شیری باشد (۲۶). در بررسی ارزیابی تشخیصی فعالیت های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر با استفاده از منحنی آنالیز مشخصه عملکرد سیستم در اوایل شیرواری میش های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و تعیین همبستگی بین تعداد شمارش سلول سوماتیک و فعالیت های آنزیم ها در شیر توسط نارنجی ثانی و همکاران در سال ۲۰۱۸ به این نتیجه رسیدند که مقادیر لاکتات دهیدروژناز، آلکالین فسفاتاز و شمارش سلول‌های سوماتیک شیر در نیمه های پستان مبتلا به ورم پستان تحت بالینی به صورت معنی داری بیشتر از نیمه های پستان غیر مبتلا بودند. تعداد سلول های سوماتیک همبستگی مثبتی با فعالیت آنزیم های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر در میش های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی دارد. نقاط برش مطلوب فعالیت آنزیم های لاکتات

دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر جهت تشخیص ورم پستان تحت بالینی به ترتیب ۲۰۳/٦۱ و ۳۲۹/۸٤ واحد بر لیتر تعیین شدند فعالیت های لاکتات دهیدروژناز و آلکالین فسفاتاز شیر می توانند به عنوان شاخص های قابل اعتمادی جهت تشخیص آماس داخل پستانی مدنظر قرار گیرند (۱۸).

در تحقیقی در سال ۲۰۱۳ میانگین فعالیت آنزیم های LDH (٤۰/۹ ± ۲۳٦/۹) و ALP (۵۳/۳ ± ۲٦۸/۵) در شیر گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در مقایسه با گاوهای سالم به طور معنی داری افزایش نشان داد. نتیجه گیری شد که پارامترهای آنزیمی در این مطالعه می توانند به عنوان شاخص تشخیصی بهتر و قابل قبول ورم پستان تحت بالینی در مراحل تشخیص اولیه و غربالگری گله های بزرگ استفاده گردد (۲۷). میزان فعالیت آنزیم های ALP و LDH ورم پستان تحت بالینی ایجاد شده در طی مطالعه تجربی با باکتری های خانواده انتروباکتریاسه آ بر روی ۱٦۰ راس میش در شیر افزایش معنی داری نسبت به میش های غیر آلوده نشان داد. همچنین نتیجه گیری شد که تغییرات اندازه گیری این آنزیم ها در شیر روش قابل اعتماد و مناسبی برای تشخیص میش های شیری مبتلا به ورم پستان تحت بالینی می تواند استفاده گردد (۲۸).

علیرغم افزایش معنی دار در میزان فعالیت آنزیم های mLDH وmALP در شیر گاومیش های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی، نویسندگان گزارش کردند که تشخیص ورم پستان تحت بالینی با کمک mALP به تنهایی کاملا رضایت بخش نیست و برای غربالگری گله های بزرگ درگیر ورم پستان تحت بالینی، اندازه گیری mALP و mLDH در شیر همزمان توصیه می شود (۲٤).

افزایش معنی داری در میزان آنزیم های LDH و ALP در گاومیش های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی مشاهده شد.ALP و LDH بعنوان شاخص های عمومی بررسی شدت صدمات بافتی عمل می کنند (۲۹). در ۳۱ نمونه شیر گاو آلوده به ورم پستان تحت بالینی فعالیت آنزیم های LDH، ALP افزایش معنی داری در مقایسه با گاوهای سالم نشان داد (۲۷). عملکرد ناراضی از تست های تشخیصی در مطالعه امیری و همکاران (۲۰۲۰) مشاهده شد که ممکن است به روش منحنی راک بر اساس صحت نتایج باکتریولوژیکی مرتبط باشد. بخصوص در مطالعات در فیلد هیچ توجیهی برای بکارگیری نتایج کشت باکتریایی که شاخص مطمئنی برای التهاب داخل پستانی است، وجود ندارد (۳۰). استفاده از Real-time PCR با حساسیت و ویژگی ۱۰۰٪ می تواند به عنوان یک استاندارد طلایی در ارزیابی سایر تست های تشخیصی برای تشخیص ورم پستان وعده های زیادی بدهد (۳۱).

نتیجه گیری

هدف از مطالعه حاضر مقایسه برخی از روشهای ردیابی ورم پستان تحت بالینی در سطح گله بود. نتایج حساسیت و ویژگی تست ها به این صورت بود که با در نظر گرفتن کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد، حساسیت

تست SCC ،ALP و LDH به ترتیب ۸۷، ۵۹/۳ و ۷۰/٤ درصد بود. همچنین ویژگی این تست ها به ترتیب ۷۷/۸، ۸۰/٦ و ۷۷/۸ درصد بود. از لحاظ کارایی تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو تست های SCC ، LDH و ALP به ترتیب بهترین روش ها هستند.

تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان نامه دکتری عمومی دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر با کد پژوهشی مصوب ۱٦۲٤۲۳۰٦۵ می باشد. بدینوسیله از زحمات کلیه اساتیدی که نویسندگان را در انجام این پایان نامه یاری رسانده اند و همچنین حوزه معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر تشکر و قدردانی می گردد.

تعارض منافع

نویسندگان این مقاله تعارض در منافع ندارند.

فهرست منابع

1. Pyörälä S. Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. Veterinary research. 2003;34(5):565-78.
2. Babaei H, Mansouri-Najand L, Molaei M, Kheradmand A, Sharifan M. Assessment of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activities in cow's milk as an indicator of subclinical mastitis. Veterinary research communications. 2007;31(4):419-25.
3. Viguier C, Arora S, Gilmartin N, Welbeck K, O'Kennedy R. Mastitis detection: current trends and future perspectives. Trends in biotechnology. 2009;27(8):486-93.
4. Donovan GA, Risco CA, Shearer JK. Assessment of the mammary system. The Veterinary clinics of North America Food animal practice. 1992;8(2):361-72.
5. Mohammadian B. The effect of subclinical mastitis on lactate dehydrogenase in dairy cows. International Journal of Animal and Veterinary Advances. 2011;3(3):161-3.
6. Andrei S, Matei S, Fit N, Cernea C, Ciupe S, Bogdan S, et al. Glutathione peroxidase activity and its relationship with somatic cell count, number of colony forming units and protein content in subclinical mastitis cows milk. Romanian Biotechnological Letters. 2011;16(3):6209-17.
7. Kalantari A, Safi S, Foroushani AR. Milk lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase as biomarkers in detection of bovine subclinical mastitis. Annals of Biological Research. 2013;4(2):302-7.
8. Kaneko JJ, Harvey JW, Bruss ML. Clinical biochemistry of domestic animals: Academic press; 2008.
9. Shekari M, Moosavinasab F, Ghasemian O. Diagnostic Value of Milk Total Antioxidant Status (TAS) and Malondialdehyde (MDA) in Cows with Subclinical Mastitis. Journal of Comparative Pathobiology. 2020;17(1):3021-32.
10. Sajadi SS-R, Khoramian B, Azizzadeh M, Farzaneh N. Evaluating the Accuracy of the Diagnosis of Subclinical Mastitis Using Lactate Dehydrogenase-Based Dipsticks. Journal of Veterinary Research. 2021;76(2):260-7.
11. Kitchen BJ. Bovine mastitis: milk compositional changes and related diagnostic tests. Journal of Dairy Research. 1981;48(1):167-88.
12. EM Ibtisam EZ, El Owni O, Mohamed G. Correlation of minerals and enzymes in blood serum and milk of healthy and mastitic cows. Research Journal Agriculture and Biological Sciences. 2005;1:45-9.
13. Yang FL, Li XS, He BX, Yang Z, Li GH, Liu P, et al. Malondialdehyde level and some enzymatic activities in subclinical mastitis milk. African Journal of Biotechnology. 2011;10(28):5534-8.
14. Hiss S, Mueller U, Neu-Zahren A, Sauerwein H. Haptoglobin and lactate

dehydrogenase measurements in milk for the identification of subclinically diseased udder quarters. VETERINARNI MEDICINA-PRAHA-. 2007;52(6):245.
15. Batavani R, Asri S, Naebzadeh H. The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. Iranian Journal of Veterinary Research. 2007;8(3):205-11.
16. Chagunda MG, Larsen T, Bjerring M, Ingvartsen KL. L-lactate dehydrogenase and N-acetyl-β-D-glucosaminidase activities in bovine milk as indicators of non-specific mastitis. Journal of Dairy Research. 2006;73(4):431-40.
17. Katsoulos PD, Christodoulopoulos G, Minas A, Karatzia MA, Pourliotis K, Kritas SK. The role of lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase in the diagnosis of subclinical intramammary infections in dairy sheep and goats. Journal of dairy research. 2010;77(1):107-11.
18. NarenjiSani R, Hajigolikhani B, Ahmadi-Hamedani M, Kafshdouzan K. Diagnostic evaluation of milk lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase activities by receiver operating characteristic analysis curve in early lactation of ewes with subclinical mastitis. Veterinary Research Forum, Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran. 2018;9(4):343 - 8.
19. De Oliveira PVC, Neto EdSL, Lucena NM, Abrantes MR, da Silva JBA, de Azevedo Neto CO, et al. Avaliação da qualidade do leite cru e prevalência de mastite no município de Mossoró-RN. Brazilian Journal of Development. 2020;6(8):64027-42.
20. Barbosa CP, Benedetti E, Ribeiro S, Guimarães EC. Relação entre contagem de células somáticas (CCS) e os resultados do “California Mastitis Test”(CMT), no diagnóstico de mastite bovina. Bioscience Journal. 2002;18(1):93-102.
21. Gokceoglu A, Yarim GF, Gultiken N, Yarim M. High epidermal growth factor concentration associated with somatic cell count in milk of cows with subclinical mastitis. Medycyna Weterynaryjna. 2020;76(6): 354-7.
22. Rasouli A, Mosaferi S. Accuracy rate of mastitis on-farm test (udder check) in comparison to somatic cell count (SCC) in dairy herd. J Livestock Sci. 2017;8:191-5.
23. Ahmed LI, Fahim KM. Research Article Incidence of Subclinical Mastitis with Special Reference to Lactate Dehydrogenase (LDH) Enzyme as a Biomarker. 2018.
24. Guha A, Gera S, Sharma A. Evaluation of milk trace elements, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activity of subclinical mastitis as and indicator of subclinical mastitis in riverine buffalo (Bubalus bubalis). Asian-Australasian journal of animal sciences. 2012;25(3):353.
25. Singh M, Sharma A, Mittal D, Yadav P, Charaya G. Assessment of lactate dehydrogenase enzyme activity in milk as a marker for detection of subclinical mastitis. Journal of Animal Research. 2016;6(2):293-6.
26. Tabatabaee N, Heidarpour M, Khoramian B. Milk metabolites, proteins and oxidative stress markers in dairy cows suffering from Staphylococcus aureus subclinical mastitis with or without spontaneous cure. Journal of Dairy Research. 2021;88(3):326-9.
27. Zeinhom M, Abed A, Hashem K. A contribution towards milk enzymes, somatic cell count and bacterial pathogens associated with subclinical mastitis cows milk. Assiut Vet Med J. 2013;59(138):38-48.
28. Hassan M, Yousif A. Evaluation of some biochemical indices in" milk whey" for diagnosis of subclinical mastitis caused by some Enterobacteriaceae family. Mirror of Research in Veterinary Sciences and Animals. 2014;3(1):1-7.
29. Tyagi A, Arora R, Rajora V, Arora N. Evaluation of antioxidant profile in

subclinical mastitis in dairy buffaloes.

Journal of Entomology and Zoology Studies 2020;8(5)::2256-9.

30. Amiri P, Fallah Rad AH, Heidarpour M, Azizzadeh M, Khoramian B. Diagnostic accuracy of milk oxidation markers for detection of subclinical mastitis in early lactation dairy cows. Comparative Clinical Pathology. 2020;29(1):95-101.
31. Koskinen M, Holopainen J, Pyörälä S, Bredbacka P, Pitkälä A, Barkema H, et al. Analytical specificity and sensitivity of a real-time polymerase chain reaction assay for identification of bovine mastitis pathogens. Journal of Dairy Science. 2009;92(3):952-9.