مطالعه الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم شیر در گاوهای هلشتاین مبتلا به ورم پستان تحت بالینی و بالینی به روش ژل آگارز

افشین دواساز تبریزی[1*]، روز علی باتوانی[2]، سیامک عصری رضائی[2]، ملاحت احمدی[3]، حمید میرزایی[4]

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
۲. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
۳. گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران
٤. گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، تبریز، ایران
* نویسنده مسئول مکاتبات: *Davasaz1000@yahoo.com*
(دریافت مقاله: ۸۷/۱۰/۳۰، پذیرش نهایی: ۸۸/۱/۳۱)

چکیده

ورم پستان یکی از مهم‌ترین بیماری‌ها از نقطه نظر اقتصادی در صنعت پرورش گاو شیری می‌باشد که باعث کاهش تولید شیر، هزینه‌های درمان، کاهش پیشرفت ژنتیکی گله و افت کیفیت شیر می‌شود. هدف از این مطالعه بررسی پروتئین‌های شیر گاوهای هلشتاین مبتلا به درجات مختلف ورم پستان بالینی و تحت بالینی بود. به منظور انجام این تحقیق، نمونه شیر از ۱۲۵ رأس گاو متعلق به دو گاوداری بزرگ صنعتی واقع در اطراف تبریز جمع‌آوری شد. گاوهای مورد مطالعه، همگی از نژاد هلشتاین بوده و در دوره شیرواری به سر می‌بردند و سه مرتبه در روز مورد دوشش قرار می‌گرفتند. هیچ یک از گاوها در زمان نمونه‌گیری، آبستنی بالا نداشته یا تازه‌زا نبودند. گاوهای مورد مطالعه به دیگر بیماری‌های التهابی یا انگل‌های خونی آلوده نبودند و از لحاظ بالینی و آزمایشگاهی مورد معاینه کامل قرار گرفته و سالم بودند. تغذیه این گاوها شامل سیلوی ذرت، کنسانتره و یونجه بود. در این مطالعه ۵ گروه با ۲۵ رأس گاو درهر گروه مورد بررسی قرار گرفته و سالم بودند. گروه‌ها شامل گروه شاهد با تست ورم پستان کالیفرنیایی منفی و کشت منفی، گروه تحت بالینی دو مثبت، گروه تحت بالینی سه مثبت، گروه بالینی تحت حاد و گروه بالینی حاد بود. نتایج حاصل از الکتروفورز سرم شیر به روش ژل آگارز نشان داد که میزان آلبومین در همه گروه‌ها به‌غیر از گروه تحت بالینی دو مثبت تفاوت معنی‌داری با گروه کنترل دارد (p<۰/۰۱). در مورد میزان بتالاکتوگلوبولین و آلفالاکتالبومین تفاوت معنی‌داری با گروه شاهد مشاهده نشد. میزان مجموع آلفا و بتاگلوبولین در دو گروه مبتلا به ورم پستان بالینی اختلاف معنی‌داری را با گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۱)، ولی در دو گروه تحت بالینی این تفاوت معنی‌دار نبود. در ضمن میزان گاماگلوبولین‌ها در تمام گروه‌های مبتلا با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد (p<۰/۰۱). به طور کلی، نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش شدت عفونت و التهاب در بافت پستان، پروتئین‌های سرم شیر، به‌ویژه آلفا و بتا گلوبولین‌ها به طور واضح و چشمگیر افزایش می‌یابند.

مجله دامپزشکی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تبریز، ۱۳۸۷، دوره ۲، شماره ٤، ۳۲۵-۳۱۹.

کلمات کلیدی: الکتروفورز، گاو، شیر، ورم پستان، ژل آگارز

مقدمه

ورم پستان، به التهاب غده پستانی بدون توجه بـه علـت آن اطلاق و با تغییرات فیزیکی، شیمیایی و معمولاً میکروبی شیر و هم‌چنـین تغییـرات حاصـل از بیمـاری در بافـت غـده پـستانی مشخص می‌شود. این بیماری بـه‌خـصوص در گاوهـای شـیری حائز اهمیت است. یکی از انواع ورم پستان، نـوع تحـت بـالینی است که تشخیص به موقع آن به دو دلیل عمـده دارای اهمیـت اقتصادی می‌باشد. اول به خـاطر مـشکل بـودن تـشخیص ایـن بیماری، زیرا در این نوع ورم پستان، وضع ظاهری شیر سـالم و عادی (در شیر لخته وجود ندارد) به نظـر رسـیده و هـیچ‌گونـه علائم بیماری (تب، کاهش مصرف غذا، تورم و درد پستان) بـه صورت ظاهری دیده نمی‌شود. دوم، به‌دلیل ایـن‌کـه ورم پـستان تحت بالینی باعث کاهش کمیّت و کیفیّت شیر می‌شود و خطـر انتقال بیماری به گاوهای سالم نیز وجود دارد که عدم تشخیص به موقع این بیماری منجر به اپیـدمی وسـیع بیمـاری در گلـه و افزایش هزینه درمانی نیز می‌شود (۱۳). ورم پستان بالینی با شیر غیر عادی و درجات متغیری از التهـاب غـده پـستان (قرمـزی، گرمی، تورم و درد) با یا بدون علائم سیـستمیک در گـاو مبـتلا مشخص می‌شود. تولید شیر خیلی کاهش یافتـه، بـاکتری‌هـا در شیر حضور دارند و شیر حاوی لخته، فیبرین یا ترشحات سرمی مـی‌باشـد (۱۵). شناسـایی مـشکلات پـستان بـرای دامـداران و دامپزشکان نه تنها از جنبه سلامتی دام بلکه از لحاظ کیفیت شیر و میزان تولید حائز اهمیت است. در ارتباط با بررسـی تغییـرات پروتئین‌های شیر در بیماری ورم پستان بـه روش الکتروفـورز، قبلاً مطالعاتی صورت پذیرفتـه اسـت (۲، ۳، ٤ و ١٤). در تمـام این تحقیقات بـه خـاطر تـداخل کـازئین بـا روش الکتروفـورز بررسی روی سرم شیر صورت گرفته است کـه در واقـع همـان شیر بدون کازئین و چربی است. تفاوت مطالعه حاضر نسبت به مطالعات قبلی در روش الکتروفورز و بررسی هم‌زمان درجـات مختلف ورم پستان تحت بالینی و بالینی که به صـورت طبیعـی در گله‌های شیری رخ داده است، می‌باشد.

مواد و روش‌کار

نمونه‌های مورد بررسی در این تحقیق متعلق به دو گاوداری صنعتی اطراف تبریز بودند. گاوهای مورد بررسی همگی از نژاد هلشتاین بوده در دوره شیرواری به‌سر می‌بردند و سه بار در روز مورد دوشش قرار می‌گرفتند. نمونه‌گیری قبل از دوشش ظهر انجام می‌شد. هیچ یک از گاوهای مورد مطالعه در زمان نمونه‌گیری آبستنی بالا نداشته یا تازه‌زا نبودند. مقدار متوسط تولید این گله‌ها ۲۹ لیتر در روز و سن آن‌ها ۲ تا ۵ سال و متوسط دفعات زایش سه شکم بود. گاوهای مورد مطالعه از نظر ضربان قلب، درجه حرارت بدن، تعداد تنفس و چگونگی صدای تنفسی و وضعیت دستگاه گوارش و تناسلی مورد معاینه قرار گرفته همگی طبیعی بودند. هیچ یک از گاوهای مورد مطالعه مبتلا به بیماری تب‌دار نبوده و به انگل‌های خونی آلوده نبودند. این گاوها توسط کنسانتره شامل ذرت، جو، کنجاله سویا، کنجاله تخم پنبه، سبوس، یونجه و سیلوی ذرت تغذیه می‌شدند. در این تحقیق ۵ گروه گاو مورد بررسی قرار گرفت که تعداد در هر گروه ۲۵ رأس در نظر گرفته شد:

۱- گاوهایی که تست ورم پستان کالیفرنیایی و کشت باکتریایی آن‌ها منفی بود (شاهد).

۲- گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی با شدت دو مثبت

۳- گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی با شدت سه مثبت

٤- گاوهایی که لخته یا تغییرات در شیر وجود داشت ولی فاقد علائم التهاب پستان بودند (بالینی تحت حاد).

۵- گاوهایی که علاوه بر وجود تغییرات در شـیر دارای علائـم واضح التهاب بافت پستانی بودند (بالینی حاد).

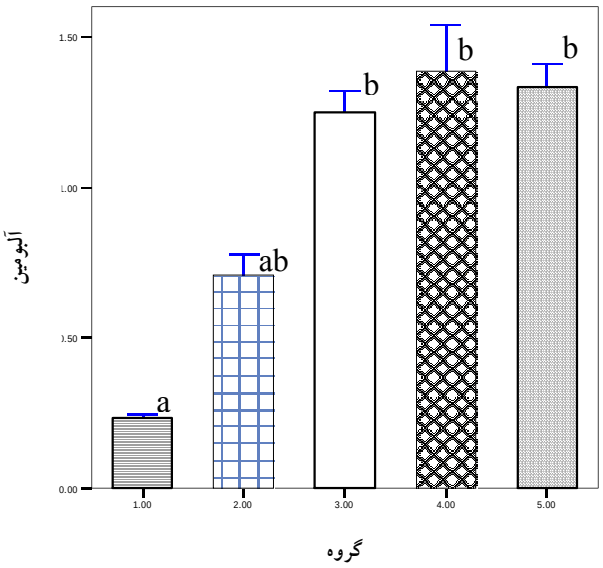
برای نمونه‌برداری قبل از دوشش ظهر گاوهـا، پـس از ایـن‌کـه هریک از سرپستان‌ها با الکل ۷۰ درجـه ضـدعفونی شـد و سـه دوشش اولیه دور ریخته شد، شـیر مـورد آزمـایش ورم پـستان کالیفرنیایی قرار گرفت. نمونه‌هایی که نتیجه آزمـایش آن‌هـا دو مثبت و سه مثبت بود و مواردی که مبتلا بـه ورم پـستان بـالینی تحت حادّ و حادّ بودند، در مطالعه مورد بررسـی قـرار گرفتنـد.

نمونه‌های شیر سریعاً و در مجاورت یخ به آزمایشگاه انتقال داده شد. برای آماده نمودن سرم شیر، ابتدا نمونه‌های شیر در ۳۰۰۰ دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ می‌شدند تا خامه و سلول‌های آن‌ها جدا شوند. نمونه‌ها سپس با اسیدکلریدریک ۰/۱ نرمال (مولار) به صورت قطره قطره تحت فرآیند رسوب کازئین قرار می‌گرفتند. بعد از رسوب کازئین نمونه‌ها دوباره سانتریفیوژ می‌شدند و مایع رویی (سرم شیر) جمع‌آوری می‌شد. نمونه‌های سرم شیر جهت انجام آزمایش‌های اندازه‌گیری پروتئین‌ها و الکتروفورز در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. الکتروفورز نمونه‌ها در بخش بیوشیمی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه انجام گردید . دستگاه الکتروفورز (Sebia,France) و کیت هیدراژل پروتئین (High Resolution Protein, Sebia, France) که به منظور جداسازی و تعیین مقادیر بخش‌های پروتئین‌های اصلی سرم که بر روی ژل آگارز طراحی شده است، مورد استفاده قرار گرفت. نمونه‌های سرم شیر با نسبت ۱ به ۵ با محلول نمکی رقیق می‌شد. بعد از خارج نمودن ژل به سرعت مایع اضافی موجود در سطح ژل با یک نوار باریک کاغذ فیلتر خشک می‌شد. نمونه را در سطح نشان داده شده توسط فلش قرار داده به طوری که هیچ‌گونه حباب هوایی تشکیل نشود. ۵ میکرولیتر نمونه به هر خانه افزوده حداکثر ۵ دقیقه اجازه انتشار نمونه داده می‌شد و نمونه‌های اضافی با خشک‌کن خشک می‌شد، نمونه‌ها را برداشته، ژل در تانک و نمونه‌ها در سمت کاتدیک قرار داده می‌شدند. هیدراژل را روی پل به صورت وارونه (عکس) قرار داده به طوری که هر لبه یک سانتی‌متر در بافر قرار بگیرد. سپس تانک به منبع برق وصل می‌شد. شرایط مهاجرت به این صورت بود که حجم بافر در هر بخش تانک ۱۵۰ میلی‌لیتر، حجم کل ۳۰۰ میلی‌لیتر، ولتاژ ثابت ۷۰ ولت و زمان مهاجرت ۳۰ دقیقه در نظر گرفته شد. بعد از مهاجرت، تانک از منبع برق قطع و ژل خارج می‌شد. ژل به طور عمودی در محلول تثبیت کننده به مدت ۱۵ دقیقه قرار می‌گرفت سپس ژل خارج و با مو خشک‌کن در دمای کمتر از ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شد. ژل خشک و خنک شده در محلول رنگ‌آمیزی به مدت ۵ دقیقه فرو برده می‌شد. در دو حمام از محلول رنگ‌زدا، ژل شستشو و رنگ‌زدایی شده تا جایی که زمینه به طور کامل شفاف شود. مایع اضافی سطح ژل با یک کاغذ فیلتر گرفته شده توسط مو خشک‌کن در دمای کمتر از ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک می‌شد و در نهایت با دانسیتومتر (فیلتر زرد ۵۸۰ نانومتر) اسکن انجام می‌گرفت و مقدار هر فراکسیون پروتئین به‌صورت درصد بیان می‌شد. در صد بیان شده بر حسب سطح زیر منحنی می‌باشد. سپس با ضرب نمودن این درصدها در مقدار پروتئین‌تام سرم مقدار هر باند بر حسب gr/l حاصل می‌گردید. نتایج به‌دست آمده با روش آنالیز واریانس یک‌طرفه مورد بررسی آماری قرار گرفتند.

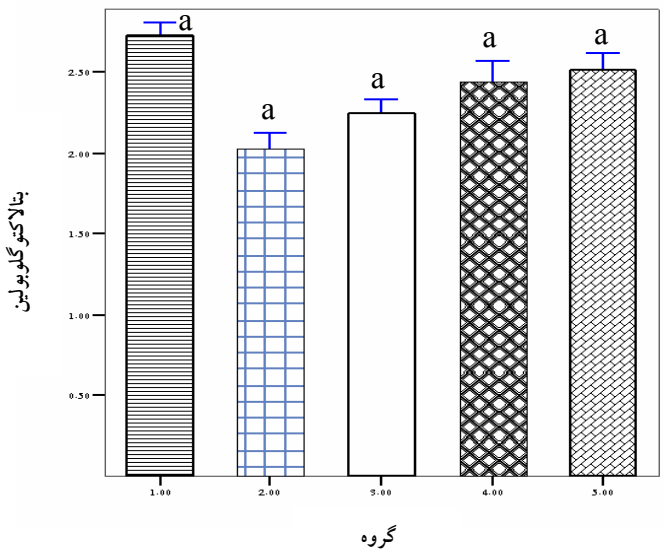
نتایج

میزان آلبومین شیر در کارتیه‌های مبتلا در نمودار ۱ نشان داده شده است. میزان آلبومین سرم شیر به‌غیر از گروه تحت بالینی دو مثبت، در تمام گروه‌های مبتلا تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۱). میانگین مقادیر آلبومین شیر در گروه شاهد ۰/۱۰± ۰/۲۳ و در گروه‌های مبتلا به ترتیب بر حسب شدت بیماری ۰/٤۲±۰/۷۰، ۰/٤٦± ۱/۲٤، ۰/۹۹± ۱/۳۸ و ۰/٤۸± ۱/۳۳ گرم در لیتر به‌دست آمد. مقایسه دو پروتئین اصلی و عمده سرم شیر یعنی بتا- لاکتاگلوبولین و آلفا- لاکتالبومین در کارتیه‌های مبتلا در نمودارهای ۲ و ۳ آورده شده است. میزان بتالاکتوگلوبولین در بین کارتیه‌های مربوط به گروه‌های مبتلا و گروه کنترل تفاوت معنی‌دار نشان نداد. میزان آلفا- لاکتالبومین در گروه‌های مبتلا به ورم پستان با گروه کنترل اختلاف معنی‌دار نشان نداد. میانگین میزان آلفا و بتا گلوبولین‌های کارتیه‌های مبتلا در گروه‌های مختلف در نمودار شماره ٤ مشخص می‌باشد. میزان آلفا و بتا گلوبولین در گروه‌های مبتلا به ورم پستان بالینی تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل نشان داد (p<۰/۰۱) ولی در گروه‌های مبتلا به ورم

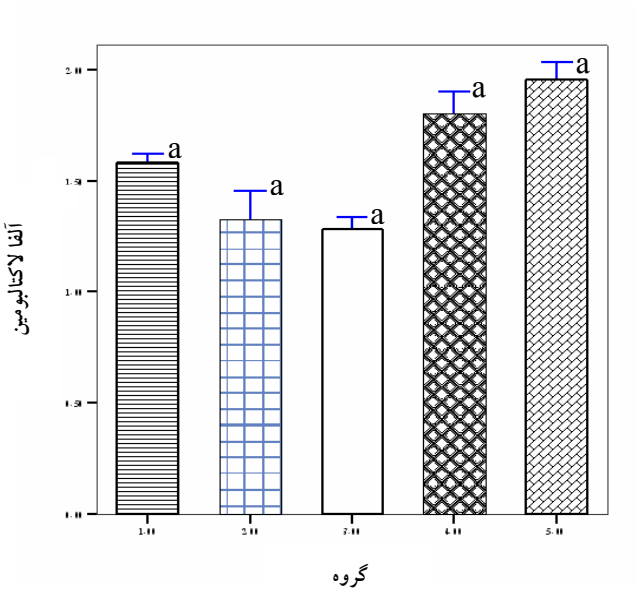
پستان تحت بالینی اختلافی با گروه کنترل نداشتند. میانگین مقادیر باند آلفا و بتا گلوبولین در گروه شاهد ۰/۱۲ ± ۰/٤ و در گروه‌های مبتلا بر حسب شدت بیماری به ترتیب ۰/۲۹ ± ۰/٦، ۰/۳۵ ± ۱/۲۱، ۰/۸٦ ±۱/۵۵ و ۱/۰۵ ± ۱/۹ گرم در لیتر حاصل گردید. میانگین میزان گاماگلوبولین‌های کارتیه‌های مبتلا در پنج گروه تحت مطالعه در نمودار ۵ ارائه گردیده است. میزان گاماگلوبولین‌ها در هر چهار گروه کارتیه‌های مبتلا تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل نشان داد ($p < ۰/۰۱$). میانگین مقادیر گاماگلوبولین شیر در گروه شاهد ۰/٤۷ ±۰/۸۵ و در گروه‌های مبتلا بر حسب شدت بیماری به ترتیب ۱/۲۸ ±۳/۳٤، ۰/٦ ± ۳/۱۵ ، ۰/۹۷ ±۲/۸۲ و ۱/۱۷ ± ۲/۹۸ گرم در لیتر به‌دست آمد. میانگین میزان کل پروتئین سرم شیر در کارتیه‌های ورم پستانی در نمودار ٦ نشان داده شده است. میزان کل پروتئین سرم شیر در کارتیه‌های مبتلا مربوط به هر چهار گروه اختلاف معنی‌دار با گروه شاهد نشان داد ($p<۰/۰۱$). علاوه بر این میزان پروتئین سرم شیر در گروه بالینی حاد با گروه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی اختلاف معنی‌دار داشت ($p<۰/۰۱$). شایان ذکر است در تمام نمودارها گروه‌ها به ترتیب از چپ به راست شامل شاهد، تحت بالینی دو مثبت، تحت بالینی سه مثبت، بالینی تحت حادّ و بالینی حادّ می‌باشد.



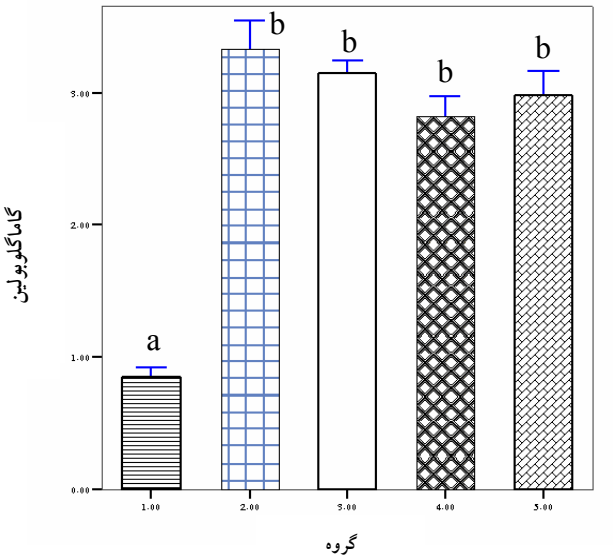
نمودار ۱- میانگین میزان آلبومین سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)



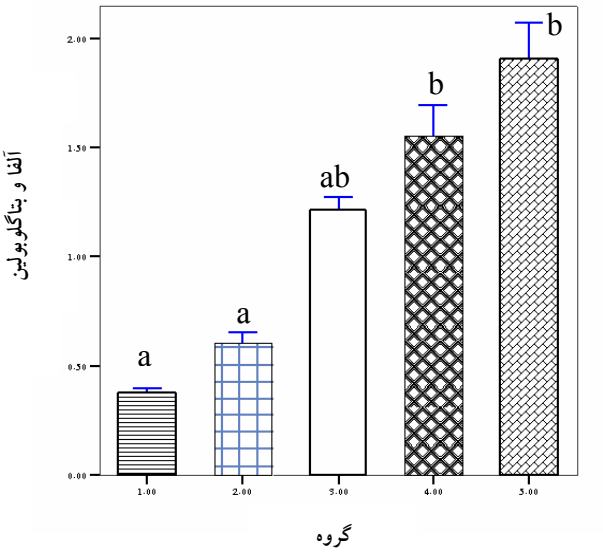
نمودار ۲- مقایسه میانگین بتالاکتاگلوبولین سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)



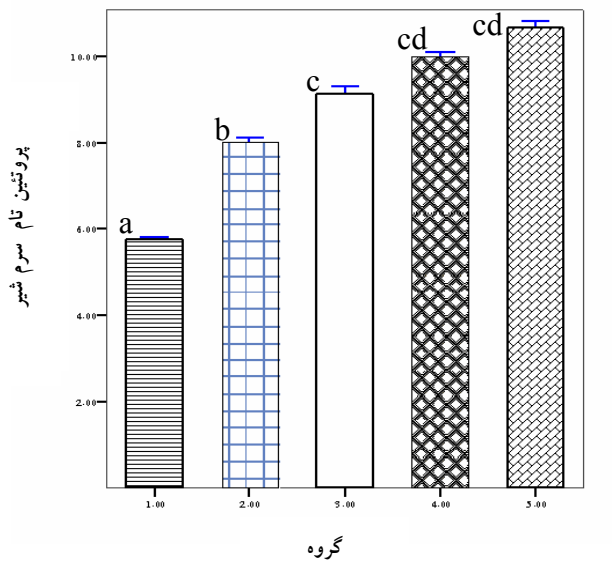
نمودار۳- مقایسه میانگین آلفالاکتالبومین سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)



نمودار ۵- مقایسه میانگین گاما گلوبولین سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)



نمودار ٤ - مقایسه میانگین آلفا و بتاگلوبولین سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)



نمودار ٦- مقایسه میانگین پروتئین تام سرم شیر در گروه‌های تحت مطالعه (g/l)

بحث و نتیجه‌گیری

التهاب غدد پستانی منجر به مجموعه‌ای از تغییرات در ترکیب شیر می‌شود که یا به‌خاطر اثرات موضعی است یا این‌که برخی عوامل از سرم خون وارد شیر می‌شوند و بعضی از ترکیبات طبیعی شیر از مجاری آلوئولی خارج و به فضای داخل عروقی وارد می‌شود (۲ و ۵). از دیدگاه تئوری تمام تغییراتی که در ترشح غدد پستانی در هنگام التهاب ایجاد می‌شود، می‌تواند برای بررسی اثرات ورم پستان مورد استفاده قرار گیرد اما مشکلات مربوط به امکانات و استانداردسازی از به‌کارگیری اغلب آزمایشات در دامپروری جلوگیری کرده است (۹). در بررسی الکتروفورتیک پروتئین‌های سرم شیر میزان آلبومین به‌غیر از گروه تحت بالینی دو مثبت در مورد سایر گروه‌های مبتلا با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد. افزایش آلبومین در شیر ورم پستانی گاو قبلاً گزارش شده است (۵). گرچه آلبومین به‌طور عمده در کبد سنتز می‌شود و این احتمال وجود دارد که آلبومین از طریق شل شدن اتصالات محکم اپی‌تلیوم از جریان خون وارد شیر شود، سنتز خارج کبدی آلبومین در سلول‌های پوششی غدد پستانی ثابت شده است گرچه مقدار سنتز آن کمتر از کبد است (۸، ۱۰ و ۱۱). افزایش مشخص آلبومین در گاوهای مبتلا به ورم پستان نشان می‌دهد که منبع اصلی افزایش در محتوای آلبومین در شیر تحت شرایط التهابی خود بافت پستانی می‌باشد. بتا- لاکتوگلوبولین به میزان بیشتری نسبت به دیگر پروتئین‌های سرمی در شیر پستانداران نشخوارکننده وجود دارد. بتا- لاکتوگلوبولین‌های مشابهی در شیر گاو، بز و گوسفند یافت شده است، در حالی که شیر انسان فاقد این ترکیب می‌باشد (۱). مقدار آلفا- لاکتالبومین درشیر سالم گاو کمتر از بتا- لاکتوگلوبولین می‌باشد. میزان بتا- لاکتوگلوبولین و آلفا- لاکتالبومین در گروه‌های مبتلا تفاوت معنی‌دار با گروه شاهد نشان نداد، در حالی‌که تحقیقات قبلی مشخص نموده است که هر دو پروتئین در شرایط ورم پستان کاهش نشان می‌دهند (۲ و ۱۲).

در توجیه این اختلاف می‌توان چنین اضهار داشت که با توجه به این‌که با ایجاد ورم پستان و افزایش التهاب میزان کل پروتئین‌های سرم شیر به‌شدت افزایش پیدا می‌کند و از آنجایی که این دو پروتئین از نظر مقدار پروتئین‌های اصلی سرم شیر گاو هستند، علی‌رغم کاهش درصد آن‌ها، در میزان کل پروتئین سرم شیر مقدار آن‌ها در مقایسه با گروه شاهد تفاوت معنی‌دار نشان نداده است .

مقدار آلفا و بتا گلوبولین‌ها در شیر سالم ناچیز است (۱). میزان آلفا و بتا گلوبولین در کارتیه‌های مبتلا نسبت به گروه شاهد اختلاف معنی‌دار نشان داد (p <۰/۰۱) علاوه بر این، افزایش مقدار پروتئین‌های این باند با افزایش شدت التهاب متناسب بود. افزایش قابل توجه α و β گلوبولین در شیر تأیید دیگری براین نکته است که احتمال تولید پروتئین‌های فاز حاد در غدد پستانی در شرایط التهابی وجود دارد ، به‌طوری که سنتز آمیلوئید A سرم در غدد پستانی تأیید شده است (٦، ۱۰ و ۱۱). آنچه محتمل می‌باشد، این است که اغلب پروتئین‌های سرم به‌داخل شیر از طریق سد خونی- پستانی رخنه پیدا می‌کنند که در نتیجه فروپاشی این سد به علت ایجاد التهاب ناشی از ورم پستان می‌باشد. با وجود این، گزارشاتی مبنی بر سنتز خارج کبدی پروتئین‌های فاز حاد وجود دارد (٦ و ۷).

گرچه تصور کلی بر این است که پروتئین‌های فاز حاد به‌طور معمول در کبد تولید می‌شوند، گزارش‌هایی مبنی بر بیان RNA پیامبر برای این پروتئین‌ها در طول پاسخ فاز حاد در بافت‌های خارج کبدی از قبیل ریه، اپی‌تلیوم روده و آندومتریوم وجود دارد (۱۰، ۱۱ و ۱۲). شیر، حاوی ایمونوگلوبولین در IgG1، IgG2 ، IgA و IgM می‌باشد. IgG نوع غالب شیر گاو می‌باشد و به نظر می‌رسد که این نوع گلوبولین‌ها به‌طور انتخابی از سرم خون به شیر منتقل شده باشند.

در کلستروم گاو، گلوبولین‌های مزبور حدود ۸۰٪ از پروتئین‌های سرم شیر را به خود اختصاص می‌دهند. گاماگلوبولین‌ها در هر چهار گروه مبتلا به ورم پستان اختلاف

معنی‌دار با گروه شاهد داشتند ($p<۰/۰۱$). این موضوع با گزارش سایر محققین مطابقت دارد (۵). عقیده بر این است که ایمونوگلوبولین‌ها از اتصال باکتری‌ها به غشاهای پوششی جلوگیری می‌کنند، تکثیر آن‌ها را مهار و باکتری‌ها را آگلوتینه و توکسین‌ها را خنثی می‌نمایند. به‌علاوه عملکرد عمده گاماگلوبولین‌ها آماده نمودن میکروارگانیسم‌ها برای فاگوسیتوز است. افزایش گاماگلوبولین‌های شیر ممکن است در کاهش شدت ورم پستان مؤثر باشد (۸). در پایان، آن‌چه مشخص است افزایش آلبومین و گاماگلوبولین‌ها با توجه به بررسی‌های قبلی قابل انتظار بود ولی بالا رفتن مقدار آلفا و بتا گلوبولین‌ها و افزایش آن‌ها با شدت یافتن التهاب قابل توجه بود و به نظر می‌رسد تعداد زیادی از انواع این دسته از گلوبولین‌ها در ورم پستان وارد شیر می‌شوند. این مسئله نیاز به تحقیقات بیشتر در این زمینه به‌صورت بررسی اختصاصی این پروتئین‌ها در شیر ورم پستانی گاو را نمایان می‌سازد.

فهرست منابع

۱. مرتضوی، س.ع.، قدس روحانی، م. و جوینده ح. (۱۳۸۰): تکنولوژی شیر و فرآورده‌های لبنی، انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، صفحات: ۳۹-۳۲.

2. Batavani, R.A., Asri, S. and Naebzadeh, H. (2007): The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. Iranian Journal of veterinary Research, 20, 205-211
3. Carroll, E.J., Murphy F.A. and Aulunad O. (1965): Changes in whey proteins between drying and colostrums formation. Journal of Dairy Science, 48: 1246-1249.
4. Carroll, E.J., Schalm, O.W., and Lasmains, J. (1963): Experimental coliform (Aerobacter aerogenes) mastitis: distribution of whey proteins during the early acute phase. Journal of Dairy Science, 46: 1236-1242.
5. Coulon, J.B., Gasqui, P., Barnouni, J., Ollier, A., Pradel, P. and Pomies, D. (2002): Effect of mastitis and related-germ on milk yield and composition during naturally – occurring udder infections in dairy cows. Animal Researech, 51: 383-393.
6. Eckersall, P., Young, F.J., Mc comb C., Hogarth C.J., Safi, S., Weber, A., McDonald, T., Noland, A.M. and Fitzpatrick, J.L. (2001): Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis. Veterinary Research., 148: 35-41.
7. Hamann, J. and Kromker, V. (1997): Potential of specific milk composition variables for cow health management, Livestock Production Science. 48: 201-208.
8. Harmon, R.J., Schanbacher, F.L., Ferguson, L.C. and Smith, K.L. (1976): Changes in lactoferrin, Immunoglobulin G, Bovine Serum Albumin, and α - Lactalbumin During Acute Experimental and Natural Coliform Mastitis in Cows. Infection and Immunity, 13: 533- 542.
9. Mcdonald, T.L., Lason, M.A., Mack, D.R. and Weber, A. (2001): Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary-associated serum amyloid A3 (M-SAA-3) into colostrum. Veterinary Immunology and Immunopathology . 83: 203-211.
10. Murata, H., Shimada, N. and Yoshika, M. (2004): Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview. Veterinary Journal, 168: 28-40.
11. Petersen, H.H., (2004): Application of acute phase protein measurement in veterinary clinical chemistry. Veterinary Research, 35: 163-187.
12. Pyorala, S. (2003): Indicators of inflammation in the diagnosis of mastitis. Veterinary Research, 34: 565-578.
13. Radostits, O.M., Gay, C.G. Hinchcliff K.W. and Constable P.D. (2007): Veterinary medicine. 10th ed., Saunders, London, pp: 697-721.
14. Smith, K.L., Conrad, H.R. and Porter, R.M. (1971): Lactoferrin and IgG immunoglobulins from involuted bovine mammary glands. Journal of Dairy Science, 54:1427-1435.
15. Tyler, J.W., and Cullor, J.S. (1990): Mammary gland health and disorders In: Large animal internal medicine. 3rd ed., Mosby, London, pp: 1019-1022.

Vet. J. of Islamic Azad Uni. Tabriz Branch. 2,4:319-325, 2009

Electrophoretic study of whey proteins in Holstein cows with clinical and subclinical mastitis by Agarose gel procedure

Davasaz Tabrizi, A.[1*], Batavani, R.A.[2], Asri Rezaie, S.[2], Ahmadi, M.[3], Mirzaie, H.[4]

1-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran
2-Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
3-Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia, Iran
4- Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Islamic Azad University, Tabriz Branch, Tabriz, Iran

[*]***Corresponding author's email:*** *Davasaz1000@yahoo.com*

(Received: 19 JAN 2009**, Accepted:** 20 APR 2009**)**

Abstract

Mastitis is one the most important economic diseases in dairy cattle industry, which causes reduction in milk production, treatment expenses, reduction in herd genetic progress and fall in quality of milk. The aim of this study was to examine the milk proteins of Holstein dairy cows with different grades of clinical and subclinical mastitis. During the sampling period, none of the cows were in late pregnancy or at early lactation and also had no parasitemia and any other inflammatory diseases. Clinical and laboratory examinations which were carried out completely revealed the cows were all healthy. They were fed on corn silage, concentrate and alfalfa. In this study, the cows were divided into five groups, each group with 25 cases. For this purpose, milk samples were collected from 125 dairy cattle of two large dairy farms in Tabriz. All the cows were in the lactation period and they were milked three times a day. The groups consist of the control group with negative California mastitis test and negative culture, 2+ subclinical groups, 3+ subclinical group, sub acute clinical group and acute clinical group. The results of the whey electrophoresis using Agarose gel procedure indicated significant difference in albumin levels in all groups except the 2+ subclinical group compared with the control group ($p<0.01$). There was no difference in beta lactoglobulin and alpha lactalbumin levels in comparison with the control group. The combined levels of alpha and beta globulins in the two groups suffering from clinical mastitis was significantly different from the control groups ($p<0.01$) but this discrepancy was not significant in the two subclinical groups. In addition, the level of gamma globulins in all mastitis groups was significantly different from the control groups ($p<0.01$). In conclusion of this study indicated that with the rise in the intensity of infection and inflammation of the mammary tissue, whey proteins especially alpha and beta globulins increase clearly and significantly.

Keywords: Electrophoresis, cow, milk, mastitis, agarose gel