

بررسی فصلی مقادیر اجسام ستونی در شیر گاوداریهای صنعتی و سنتی ارومیه

دکتر علیقلی رامین^{۱*}

دریافت مقاله: ۳۱ فروردین ماه ۱۳۸۱

پذیرش نهایی: ۱۷ اسفندماه ۱۳۸۱

Seasonal investigation of the milk ketone bodies in industrial and semi-industrial dairy herds in Urmia Ramin, A.G.¹

¹Department of Clinical Sciences, Veterinary Medicine, University of Urmia, Urmia - Iran.

Objective: 1) Detection of the milk ketone bodies by wet Rothera and spectrophotometer methods, 2) Comparison of the ketone bodies between two groups, 3) the reliability of bulk milk samples for detection of ketone bodies, 4) the effects of season on milk ketone bodies, and 5) the distribution of sub-clinical and clinical ketosis in industrial and semi-industrial dairy herds.

Design: Observational Investigation.

Animals: Purebred and hybrid Holstein dairy cattle from industrial and semi-industrial dairy herds.

Procedure: Milk samples from 2920 industrial and 1430 semi-industrial dairy herds were collected. Milk samples from industrial dairy herds were collected individually from cows and semi-industrial dairy herds collected from bulk milk. Test for milk ketone quality was carried out using wet rothera test and milk sera were tested for beta hydroxy butyric acid (BHB) using a spectrophotometer to measure ketone quantity.

Statistical analysis: Chi-square test.

Results: Thirteen cases from bulk milk was observed positive in rothera test (0.91%) and 97 cases from individual cow samples (3.32%). Differences between two groups were significant ($P < 0.05$). Twelve out of 13 affected samples from bulk milk were occurred in autumn and spring while 57 cases from individual dairy milk were occurred in winter. Affected cases in individual cow milk in winter was greater ($P < 0.05$) than other seasons in bulk milk and for bulk milk in autumn was greater ($P < 0.05$) than in individual cow milk. The results of BHB test on affected samples (13 and 97) showed that ketone bodies with over 0.05 mmol/l as an indication of subclinical and clinical ketosis to be presented only in 19 cases (0.43%) and the others were in physiological status (< 0.05 mmol/l). Of those, 12 cases occurred in winter and in individual cow milk samples (0.27%), and 6 cases occurred in bulk milk samples during the autumn (0.13%). Mean \pm Se BHB concentrations in winter and autumn were 0.39 ± 0.06 and 0.24 ± 0.06 mmol/l, respectively. Differences between seasons were significant ($P < 0.05$).

Clinical implications: It is concluded that there are differences between the two diagnostic methods of ketone bodies detection in diagnosis of ketosis from physiological status. Bulk milk samples can be reliable for the quality assessment of ketone bodies. Subclinical and clinical ketosis in industrial and semi-industrial dairy herds should not be rejected. Ketone bodies in industrial and semi-industrial dairy herds appeared to be higher in winter and autumn, respectively. Finally a milk field test from industrial and semi-industrial dairy herds might be appropriate for diagnosis of subclinical and clinical ketosis but it is recommended to be supported by quantity method (BHB) as well. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran*, 58, 1: 5-9, 2003.

Key words: Cattle, Rothera, BHB, Ketone bodies, Ketosis, Season. **corresponding author email:** aligholiramin@yahoo.com

(۵، ۲۶)، چاقی در هنگام زایمان (۱۳)، تورم ضربه‌ای نگاری و دیابت ملیتوس (۶) باشد. کتوز بالینی ممکن است به فرم گوارشی (۱۱) یا عصبی (۶) و کتوز تحت بالینی (۳۱) به شکل کاهش تدریجی شیر دام باشد.

هدف: ۱) تعیین میزان اجسام ستونی در شیر بروش روترای مرطوب (کیفی) و اسپکتروفتومتری (کمی)، ۲) مقایسه اجسام ستونی در شیر گاوداری های صنعتی و سنتی، ۳) ارزیابی برداشت نمونه شیر از بیدون در تشخیص اجسام ستونی، ۴) تأثیر فصل در میزان اجسام ستونی (۵) تعیین وضعیت کتوز بالینی و تحت بالینی در گروه انفرادی و جمع آوری.

طرح: مطالعه مشاهده‌ای.

حیوانات: گاوهای شیری هولشتاین اصیل و دورگ.

روش: تعداد ۲۹۲۰ نمونه شیر از گاوداریهای شیری صنعتی (به صورت انفرادی) و ۱۴۳۰ نمونه شیر از گاوداریهای شیری سنتی ارومیه (به صورت جمع آوری و از بیدون) در سالهای ۸۰-۱۳۷۹ جمع آوری گردیدند. تعیین کیفی اجسام ستونی به وسیله آزمایش روترای مرطوب انجام گرفت و تعیین کمی اجسام ستونی فقط در پلاسماهای شیرهای مثبت در آزمایش روترای به وسیله اندازه گیری بتا هیدروکسی بوتیریک اسید و با استفاده از روش اسپکتروفتومتری صورت گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: مربع کای.

نتایج: سیزده نمونه از شیر جمع آوری (۰/۹۱ درصد) و ۹۷ مورد از انفرادی (۳/۳۲ درصد) در روترای مرطوب، مثبت تشخیص داده شدند که اختلاف معنی داری را نشان می دهند ($P < 0.05$). بیشترین موارد مثبت جمع آوری در پاییز و بهار (هر کدام ۶ مورد) و مثبت انفرادی در زمستان (۵۷ مورد) و حداقل هر دو گروه در تابستان بوده است. موارد روترای مثبت در زمستان در گروه انفرادی بیشتر از جمع آوری ($P < 0.05$) و در پاییز در گروه جمع آوری بیشتر از انفرادی بوده است ($P < 0.05$). آزمایش BHB بر روی پلاسماهای شیر موارد مثبت روترای مرطوب نشان داد که در مجموع ۱۹ مورد مبتلا به کتوز تحت بالینی با داشتن BHB بالای ۰/۰۵ میلی مول در لیتر (۰/۴۳ درصد) و بقیه سالم و کمتر از ۰/۰۵ میلی مول در لیتر BHB بودند که ۱۲ مورد در زمستان و از گروه انفرادی (۰/۲۷ درصد) و ۶ مورد در پاییز (۰/۱۳ درصد) و مورد دیگر در بهار و از گروه جمع آوری بوده‌اند. میانگین و انحراف معیار BHB شیر در زمستان و پاییز به ترتیب 0.39 ± 0.06 و 0.24 ± 0.06 میلی مول در لیتر بوده که اختلاف معنی داری ($P < 0.05$) را نشان می دهد.

نتیجه گیری: اولاً بین روش کیفی و کمی تعیین اجسام ستونی در تشخیص کتوز از حالت فیزیولوژیک اختلاف عمده‌ای وجود دارد. ثانیاً نمونه برداری از شیر بیدون نیز می تواند در تشخیص کیفی و کمی اجسام ستونی ارزشمند باشد. ثالثاً کتوز تحت بالینی یا بالینی در دامداریهای صنعتی و سنتی می تواند مطرح باشد. رابعاً فصول زمستان و پاییز در ظهور اجسام ستونی در شیر گاوداریهای صنعتی و سنتی به ترتیب مهم می باشد. سرانجام روش روترای مرطوب در تشخیص کتوز تحت بالینی در دامداریها می تواند مفید باشد ولی بهتر است که توأم با آزمایش کمی نیز باشد. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۲)، دوره ۵۸، شماره ۱، ۵-۹.

واژه های کلیدی: گاو، روترای، بتا هیدروکسی بوتیریک اسید، اجسام ستونی، کتوز، فصل.

کتوز یکی از بیماریهای متابولیکی در نشخوارکنندگان مخصوصاً گاو (۸) است که در اثر اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها و اسیدهای چرب فرار (۱۴) بوقوع می پیوندد. از نظر بیوشیمیایی بیماری با مشاهده اجسام ستونی در خون (۱۵)، ادرار (۲۹) و کاهش قند خون و کبد (۳) مشخص می گردد. از نظر بالینی بیماری به کتوز یا استونمی (۳۰) معروف می باشد. کتوز ممکن است اولیه و متعاقب عدم توازن انرژی دریافتی و درخواستی در دام باشد (۲۹) و یا ثانوی و متعاقب سندرم کبد چرب (۲۰)، برگشتی شیردان در سمت چپ، لنگش و هیپومنیزمی (۱۶)، تب شیر (۳۲)، بیماریهای تولید مثلی

۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.
* نویسنده مسؤول aligholiramin@yahoo.com



روش جداسازی کازئین و استخراج پلاسما شیر: ابتدا شیر را سانتریفوژ کرده و چربی آن را خارج می‌کنیم سپس شیر بدون چربی را در مجاورت pH متر با اسید کلریدیک ۱۰ درصد تیترا نموده تا pH محتویات به ۶/۳ برسد. آنگاه حجم اسید مصرفی و مقدار شیر موجود را یادداشت کرده تا رقت پلاسما شیر تعیین گردد. سرانجام پلاسما شیر را از کازئین منعقد شده جدا و با اسپکتروفتومتر اجسام ستونی آن را اندازه گرفته و با محاسبه رقت شیر میزان کلی اجسام ستونی مشخص می‌گردد.

روش اسپکتروفتومتری: در این روش از کیت BHB و به روش اولترا ویوله UV method استفاده می‌گردد، Rnbut, RB, 1007, 55 Diamond Road, Crumlin and Antrin N. Ireland, BT294QY

حدود ۲۰۰ لاندا از محلول بافر رادر کووت ریخته و سپس از محلول استاندارد ۱ میلی مول در لیتر حدود ۵ لاندا انتخاب و با محلول فوق مخلوط کرده و پس از ۳۰ ثانیه در حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد و طول موج ۳۴۰ نانومتر به دستگاه اسپکتروفتومتر داده و عدد روی صفحه را یادداشت کرده و هر ۶۰ ثانیه به مدت ۳ بار دستگاه را قرائت و یادداشت می‌نماییم. اختلاف اعداد فوق را یادداشت کرده و از سه بار قرائت شده میانگین را محاسبه می‌نماییم تا نمونه استاندارد ۱ میلی مول در لیتر مشخص گردد. سپس برای هر نمونه مراحل فوق را دقیقاً انجام داده و تنها به جای استانداردها پلاسما شیر را در کووت می‌ریزیم. به همان ترتیب عمل نموده تا میانگین برای هر نمونه استخراج و با توجه به فرمول زیر محاسبه می‌نماییم.

$\text{mmol/l} / \text{مقدار استون در پلاسما شیر}$

نمونه پلاسما شیر قرائت شده / استاندارد قرائت شده

اطلاعات حاصله به وسیله روش آماری SPSS آنالیز و با استفاده از مربع کای نتیجه بررسی و تحلیل گردید.

نتایج

نمودار ۲ نتایج روترای مرطوب بر روی شیر گاوها به صورت انفرادی و جمع آوری را در فصول سال نشان می‌دهد. از مجموع ۱۴۳۰ نمونه شیر جمع آوری تعداد ۱۳ مورد (۰/۹۱ درصد) و از ۲۹۲۰ نمونه انفرادی ۹۷ مورد (۳/۳۲ درصد) در روترای مرطوب مثبت بودند که اختلاف معنی داری را نشان می‌دهند. ($P < 0/05$). بیشترین موارد مثبت جمع آوری در پاییز و بهار (هر کدام ۶ مورد) و مثبت انفرادی در زمستان و بهار (۵۷ و ۳۲ مورد به ترتیب) و حداقل هر دو گروه در تابستان بوده است. مربع کای اختلاف معنی داری را در بین موارد مثبت روترای مرطوب در فصول سال در گروه انفرادی و جمع آوری نشان می‌دهد ($P < 0/05$, $df = 4$, $X^2 = 28/62$). موارد روترای مثبت در زمستان و انفرادی بیشتر از جمع آوری ($P < 0/05$) و در پاییز و جمع آوری بیشتر از انفرادی بوده است ($P < 0/05$).

آزمایش BHB بر روی ۱۳ و ۹۷ مورد مثبت در روترای مرطوب نشان داد که ۱۲ مورد از انفرادی و ۷ مورد از جمع آوری دارای BHB بالای ۰/۰۵ میلی مول در لیتر (۰/۴۳ درصد) و بقیه زیر ۰/۰۵ میلی مول در لیتر اجسام ستونی بودند که اختلاف معنی داری را نشان نمی‌دهند. تمامی ۱۲ مورد انفرادی در زمستان (۰/۲۷ درصد) و ۶ مورد از جمع آوری در پاییز (۰/۱۳ درصد) و مورد دیگر در بهار بوده است. میانگین و انحراف معیار عیار BHB شیر در زمستان و پاییز به ترتیب $0/39 \pm 0/05$ و $0/24 \pm 0/06$ میلی مول در لیتر بوده است که اختلاف معنی داری ($P < 0/05$) را نشان می‌دهند.

بیماری در اکثر دامداریهای صنعتی اروپا و کانادا گسترده بوده (۲۶) و عموماً موارد بروز کتوز تحت بالینی تا ۳۰ درصد (۱۲) و بالینی تا ۷/۳ درصد (۲۴) گزارش می‌گردد در صورتی که در گاوداریهای سنتی گزارش خاصی وجود ندارد. تشخیص براساس تعیین اجسام ستونی در شیر (۱۹). ادرار (۲۹) به طریق آزمایش روترا (۳۱)، تعیین بتا هیدروکسی بوتیریک اسید BHB (۲۳) و گاز گروماتوگرافی (۹) است. روش روترا برای تشخیص در سطح گله و BHB معتبرترین و دقیقترین روش گزارش می‌گردد (۹). همچنین گزارشاتی در خصوص تشخیص گله‌ای با برداشت نمونه‌های متناوب از تانک شیر (۲۷، ۲۲) بوده که نیازمند تحقیقات تکمیلی و تاییدی است. بروز کتوز را عموماً در فصول زمستان (۱۰)، بهار (۱۶) و پاییز (۳۴) ثبت نموده‌اند. کتوز به وسیله دگزامتازون (۲۵)، دتومیدین (۷) و پروپیلین گلیکول (۱۸) قابل درمان بوده و با اصلاح مدیریت تغذیه (۶) و کنسانتره (۱۴) قابل پیشگیری است.

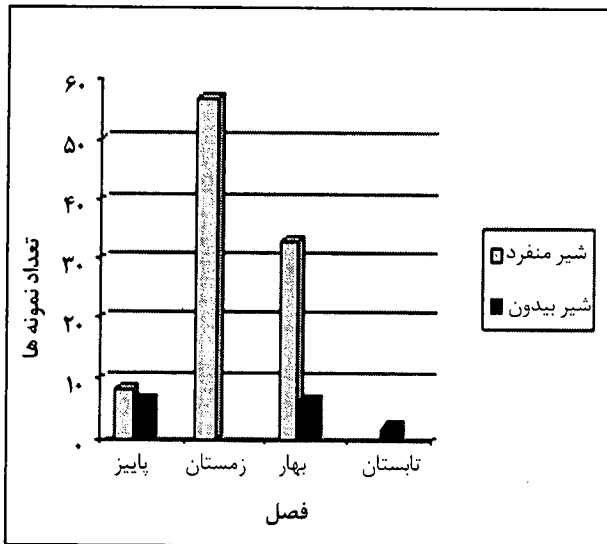
با توجه به مختصات بیماری به نظر میرسد که تنوعی در گزارشات علی‌الخصوص در میزان پراکندگی، بروز فصلی، نوع نمونه و آزمایشات رایج موجود بوده و همچنین فقدان اطلاعات در خصوص اهمیت آن در گاوداریهای سنتی و نقش تانک شیر در تشخیص آزمایشگاهی کتوز موجود می‌باشد. لذا این عوامل لزوم بررسی بیماری را به صورت مداوم و معمول امری ضروری نموده تا با یافتن نقصانهای مدیریتی و تغذیه‌ای در بهبود تولید دامی اهتمام ورزید. نظر به گسترش سریع گله‌های شیری و نیاز به اطلاعات فوق، این مطالعه با عنایت به اهداف زیر طراحی گردید. ۱) تعیین و مقایسه اجسام ستونی به روش روترای مرطوب و بتا هیدروکسی بوتیریک اسید در شیر گاوداریهای صنعتی و سنتی، ۲) ارزیابی اجسام ستونی در شیر گاوداریهای سنتی جمع آوری شده از بیدون (۳) تعیین کتوز تحت بالینی و بالینی در گاوداریهای صنعتی و سنتی، ۴) تاثیر فصل در میزان اجسام ستونی.

مواد و روش کار

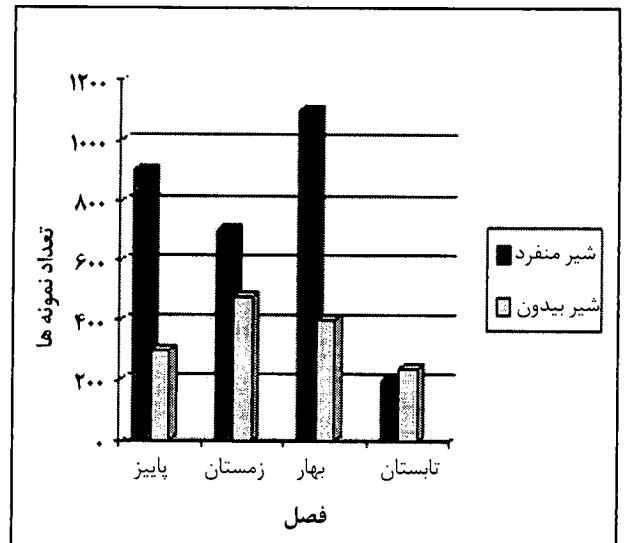
تعداد ۲۹۲۰ نمونه شیر در فصول پائیز (۹۱۵ نمونه)، زمستان (۴۷۳ نمونه)، بهار (۱۱۱۱ نمونه) و تابستان (۱۴۴ نمونه) با مراجعه به گاوداریهای شیری صنعتی و مستقیماً از کار تیه گاوها (انفرادی) و ۱۴۳۰ نمونه شیر در فصول پاییز (۳۰۴ نمونه)، زمستان (۱۱۵۵ نمونه)، بهار (۳۹۳ نمونه) و تابستان (۲۶۰ نمونه) (نمودار ۱) با مراجعه به شرکتهای جمع آوری شیر از دامداریهای پراکنده سنتی (جمع آوری) در سالهای ۸۰-۱۳۷۹ تهیه گردیدند. نمونه‌های انفرادی از کار تیه گاوه‌های ۳ تا ۸ ساله تا شعاع ۲۵ کیلومتری از شهر ارومیه تهیه شدند در صورتیکه نمونه‌های جمع آوری از شیر بیدونهایی که توسط جمع آوری کنندگان شیر از گاوداریهای سنتی مستقر در دهات در هنگام تحویل به شرکتهای جمع آوری شیر (کارخانه شیر پاستوریزه، شرکت نوشین شیر و تعاونی دامداران ارومیه) تهیه گردیدند. آزمایشات روترای مرطوب و روش اسپکتروفتومتری برای تعیین اجسام ستونی در شیر انتخاب و مراحل بدین صورت می‌باشد.

روش روترای مرطوب Wet Rothera's test: یک گرم سولفات آمونیوم، چند قطره مایع نیتروپروسیاید سدیم تغلیظ شده و یک میلی لیتر شیر را بر ترتیب در لوله آزمایش ریخته و بهم می‌زنیم. سپس یک میلی لیتر آمونیاک را بر روی محلول فوق اضافه می‌نماییم. اگر بین محلول قبلی و آمونیاک حلقه بنفش رنگی تشکیل شد شیر حاوی مواد ستونی بوده است. اجسام ستونی شیرهای مثبت در روترای مرطوب را ابتدا به وسیله روش زیر کازئین گیری کرده و سپس ارزیابی می‌گردند.





نمودار ۲- نتایج آزمایش روترای مرطوب در شیرهای انفرادی (۹۷) و جمع آوری (۱۳).



نمودار ۱- نمونه‌های فصلی شیر در گروه‌های شیر انفرادی (۲۹۲۰) و جمع آوری (۱۴۳۰).

۰/۲ میلی مول در لیتر (۴) می‌دانند در صورتی که مقادیر ۰/۲۵ میلی مول در لیتر هم (۱۷) به عنوان کتوز اولیه یا ثانویه، تحت بالینی یا بالینی ذکر گردیده است. با این توصیف تمامی ۰/۴۱ درصد و ۰/۴۸ درصد مشاهده شده در روش BHB تحت بالینی یا بالینی بوده‌اند و بقیه موارد در روترای مرطوب که مثبت تشخیص داده شده‌اند سالم بوده‌اند. علت این اختلاف در بین دو روش روترای مرطوب و BHB این است که روترای مرطوب یک روش کیفی و براساس تشخیص رنگ می‌باشد و ممکن است حتی مقادیر بسیار جزئی اجسام ستونی را (۰/۰۵ میلی مول در لیتر) با تغییر رنگ نشان داده در صورتی که این مقدار در شیر عادی بوده و تنها روش کمی یعنی BHB قادر به متمایز ساختن آن است. محققان (۶،۲۱) ادعان دارند که روش BHB به مراتب دقیقتر از نیترو پروساید سدیم بوده است.

این مطالعه نشان داد که روش روترای مرطوب برای تعیین اجسام ستونی در هر دو گروه مورد آزمایش می‌تواند مفید باشد (۹۷ و ۱۳ مورد مثبت) و اصولاً یک روش کیفی بوده ولی گویای کتوز تحت بالینی و بالینی نمی‌تواند باشد. در صورتی که BHB یک روش کمی بوده و قادر به تعیین حد فیزیولوژیک از بیماری کتوز (۱۲ و ۷ مورد) می‌باشد. لذا به واسطه سهولت و ارزانی روش روترای مرطوب و برای جلوگیری از هرگونه خطای تشخیصی و صرفه جویی در هزینه‌های درمانی اندازه‌گیری بتا هیدروکسی بوتیریک اسید برای نمونه‌های روترای مثبت ظاهراً امری ضروری و مقرون به صرفه خواهد بود. در این بررسی در روش روترای مرطوب بیشترین موارد مثبت در گروه انفرادی در زمستان و در گروه جمع آوری در بهار و پاییز بوده است. همچنین میانگین و انحراف معیار BHB در زمستان در بین گروه انفرادی (۰/۳۹±۰/۰۵) میلی مول در لیتر) به مراتب بیشتر از گروه جمع آوری در پاییز بوده است. این نتایج با یافته‌های سایر همکاران (۵،۱۲،۳۳) همخوانی دارد که بیشترین بروز بیماری در بین گاوداریهای صنعتی را فصل زمستان ذکر نموده‌اند. همچنین میانگین BHB شیر در پاییز در بین گاوداریهای سنتی معادل ۰/۲۴±۰/۰۶ میلی مول در لیتر یعنی در حد تحت بالینی و بالینی بوده و با یافته‌های دیگران (۳۴) مطابقت می‌نماید که حداقل بروز کتوز را در تابستان و حداکثر آن را در پاییز گزارش نموده‌اند.

بحث

بررسی کتوز و تائید یا رد آن در گاوداری‌های صنعتی و یا سنتی نقاط ضعف یا قوت در پرورش این نوع دام از بعد مدیریت و تغذیه را نشان می‌دهد. کتوز بیماری متابولیکی گاوداری‌های صنعتی متراکم است که در اثر اختلال در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و توازن منفی انرژی در اوج تولید و شیردهی اتفاق می‌افتد (۲،۲۹). این فرم از کتوز که بنام کتوز اولیه معروف بوده منتج از عدم مدیریت صحیح و تغذیه نامطلوب است (۲۶) گزارش می‌گردد که موارد بروز کتوز اولیه کمتر از ثانویه است (۵) یعنی با آگاهیهای صحیح و تغذیه مدون چنین انتظاری بعید نیست. همان گونه که این بررسی نشان می‌دهد بین مقادیر اجسام ستونی در گاوداری‌های صنعتی و سنتی اختلاف عمده‌ای وجود داشته ($P < 0.05$) و به عبارت بهتر فراوانی در گاوداریهای صنعتی همچنان که انتظار می‌رود زیادتر بوده است با این وصف نمی‌توان بیماری را در بین گاوداری‌های سنتی نیز نادیده گرفت زیرا موارد تحت بالینی و بالینی طبقه بندی شده براساس بالای ۰/۰۵ میلی مول در لیتر از نظر آماری در بین دو گروه معنی دار نبوده است و علت اختلاف مقادیر کمی (۰/۲۹ و ۰/۲۴ میلی مول در لیتر) احتمالاً به علت رقیق شدن شیر در شیر بیدون‌ها بوده است. اما کتوز به فرم ثانوی که متعاقب بسیاری از اختلالات گوارشی و تب دار (۵) و تولید مثلی (۲۶) عارض می‌گردد خسارات اقتصادی ناشی از کتوز را فوق العاده افزایش می‌دهد. در این حالت مکانیسم همچنان گرسنگی و عدم اخذ انرژی کافی است. در هر صورت این مطالعه در پی کتوز اولیه یا ثانویه نبوده و نیازمند تجارب دیگری است.

تحقیقات جهانی در کتوز گاوی با مبنای آزمایش شیر نشانگر ابتلای گاوها از صفر درصد (۳) تا حداکثر ۴۰ درصد (۳۳) است. در این بررسی میزان موارد مثبت از طریق آزمایش شیر در روترای مرطوب برای موارد انفرادی و جمع آوری به ترتیب ۳/۳۲ درصد و ۰/۹۱ درصد و در BHB با مبنای قرار دادن ۰/۰۵ میلی مول در لیتر به عنوان حالت فیزیولوژیک (۲۱) به ترتیب ۰/۴۱ درصد و ۰/۴۸ درصد بوده که در مقایسه با منابع منتشر شده بسیار اندک و قابل اغماض است (۱۲،۲۴). بروز کتوز تحت بالینی و بالینی با توسل به آزمایش شیر تنها به روش Ketolac test یا اندازه گیری اجسام ستونی استوار است. محققین حد مجاز ستون در شیر را ۰/۰۵ (۲۱) تا



References

۱. تقی پور بازرگانی، ت.، عصائیان، ح و جوادی، آ. (۱۳۶۸): بررسی فراوانی کتوز تحت درمانگاهی در تعدادی از گاوداریهای صنعتی اطراف تهران، مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۴۴، صفحه: ۶۱-۷۰.
2. Adamov, M. (1993): Phenotypic and genetic indicators of predisposition of metabolic disorders of high yielding dairy cattle. *Polioprivendna Znastvena Smotra*. 58: 233-244.
3. Bauer, M. (1996): Blood sugar status of healthy and ketotic dairy cows. *Tievarztliche Umschau*. 51: 481-487.
4. Berger, A. (1995): Evaluation of a rapid test for semi-quantitative estimation of beta-hydroxy butyric acid in cow milk, Thesis, PP:123, Ludwig, Maximilians Universitet Munchen, Germany.
5. Bhui, S., Chakrabarti, A. and Mukherjee, BN. (1993): A Study on clinical ketosis in cow in Mohanpur-Haringhata complex (West Bengal). *Indian Journal of Dairy Science*. 46: 258-259.
6. Blood, DC., Radostits, OM. and Henderson, JA. (1989): *Veterinary medicine*. 7th ed. London Balliere Tindall. 1128-1137.
7. Cuomo, A., Campanile, G., Palo Rdi, Iamagna, F., Ciaburri, G., Taccone, W., Dipalo, R. and Trenti, F. (1994): Detomidine in the treatment of acetonemia in dairy cows. *Proceeding 18th World Buiatrics Congress: 26th Congress of the Italian Association of Buiatrics Bologana, Italy, August 29 September 2, Volume 2: 1327-1330*.
8. Dirksen, G., Breitner, W. and Berger, A. (1995): Diagnosis of bovine ketosis: A new test strip for semi-quantitative assay of Beta-hydroxy butyric acid in milk. *Tiraztliche Umschau*, 50: 239-244.
9. Dobbelaar, P., Mottram, T., Nyabdzza, C., Hobbs, P., Elliott, R.J. and Schukken, YH. (1998): Detection of ketosis in dairy cows by analysis of exhaled breath, *Veterinary Quarterly*. 18: 151-152.
10. Dohoo, IR., Martin, SW., Mc Millan, I. and Kennedy, BW. (1984): Disease, production and clinical in Holstein Friesian cows II. Age, season and size effects. *Preventive Veterinary Medicine*. 2: 665-670.
11. Emery, RS., Bell, JW. and Thomas, JW. (1968): Benefits obtained from the routine testing for milk ketones. *Journal of Dairy Science*, 51: 867-868.
12. Fatur, B., Trenti, F. (1994): Ca, P, Mg and Na levels of dairy cows with subclinical ketosis. *Proceedings 18th world Buiatrics Congress, 26th congress of the Italian Association of Buiatrics Bologana, Italy, August 29 September 2. Volume 2: 1257-1260*.
13. Fronk, TJ., Schultz, IH. and Hardle, AR. (1980): Effect of dry period conditioning on subsequent metabolic disorders and performance of dairy cows. *Journal of Dairy Science* 63: 1080-1090.
- از ارکان دیگر این مطالعه اهمیت برداشت نمونه از شیر بیدون و جستجوی اجسام ستونی در شیرهای جمع آوری شده از دامداریهای کوچک تا ۱۰ راس بوده است. نتایج روترای مرطوب و BHB نشان می دهد که کمترین موارد مثبت (۰/۹۱ درصد) با حداقل غلظت BHB مربوط به موارد جمع آوری بوده است. صرف نظر از پراکندگی جزئی اجسام ستونی در بین دامداریهای سنتی می توان نتیجه گرفت که حتی نمونه برداری از شیر بیدون نیز می تواند گویای اجسام ستونی در هر دو روش باشد. محققان اسلوانی (۲۲) از ۱۴۹۸ نمونه شیر که از تانک شیر گاوداریهای صنعتی برداشتند ۸۱ نمونه را کمتر از ۰/۱۷ میلی مول در لیتر گزارش نمودند. به عبارت بهتر درصد اجسام ستونی در تجربه اسلوانی حدود ۱۱ درصد و در تجربه اخیر نزدیک به ۱ درصد در روترای مرطوب و در BHB قابل اغماض بوده است. به هر حال رقیق شدن شیر گاو حاوی اجسام ستونی در بیدون ها سبب کاهش غلظت اجسام ستونی در شیر شده لذا امر تشخیص را همان گونه که سایرین نیز ذکر نموده اند نامطلوب می سازد ولی در یک تجربه دیگر در بیش از ۷ درصد نمونه های اخذ شده از تانک شیر اجسام ستونی را گزارش نمودند (۲۷). به هر حال محققان اسلوانی همچنین نتیجه می گیرند که روش برداشت نمونه از تانک شیر زمانی می تواند کارآیی و صحت داشته باشد که بیشتر از ۷ درصد گاوهایی که شیر آنها در تانک جمع آوری شده مبتلا به کتوز باشند (۲۲).
- در مجموع، این مطالعه نشان می دهد که بین روش کیفی و کمی تعیین اجسام ستونی اختلاف عمده ای وجود داشته که البته مینا تشخیص کمی خواهد بود. ثانیاً حتی نمونه برداری از شیر بیدون در تشخیص کیفی و کمی می تواند ارزشمند باشد. ثالثاً کتوز تحت بالینی یا بالینی در دامداریهای صنعتی و سنتی وجود داشته ولی در مقایسه با منابع موجود قابل اغماض است. رابعاً فصل زمستان در ظهور اجسام ستونی در شیر گاوداریهای صنعتی و پاییز در گاوداریهای سنتی ممکن است مهم باشد. فصل تابستان از نظر کتوز مطرح نمی باشد.
14. Galler, J. (1996): Prevention of ketosis through targeted use of concentrates. *Muhle T Mischfuttertechnik*. 133: 625-658.
15. Geishauser, T., Leslie, K., Ketton, D. and Duffield, T. (1998): Evaluation of five cow side test for use with milk to detect subclinical ketosis in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 81: 438-443.
16. Grohn, Y., Thompson, JR. and Bruss, ML. (1998): Epidemiology and genetic basis of ketosis in finish Ayrshire cattle. *Preventative Veterinary Medicine*. 3: 65-77.
17. Hagert, C. (1991): Continuous control of energy and protein supply of the dairy cow at peak lactation by means of acetone, urea, protein and fat concentration in milk. Thesis, Ludwig, Maximilians Universitet Munchen, Germany.
18. Jans, F. and Munger, A. (1992): Efficacy of propylene glycol in the dairy cow in early lactation. *Revue Suisse de Agriculture*. 24: 237-242.



19. Jorritsma, R., Baldee, SJC., Schukken, YH., Wensing, T. and Wentink, GH. (1998): Evaluation of a milk test for detection of subclinical ketosis. *Veterinary Quarterly*. 20: 108-110.
20. Koiwa, M. (1994): Clinical observations on fat cow syndrome in dairy cows. *Journal of pakuno Gakuen University Natural Science*, 19: 111-134.
21. Miettinen, PVA. (1994): Relationship between milk acetone and milk yield in individual cows. *J. Vet. Med. A*. 41: 102-109.
22. Nemeč, M., Zadnic, T. and Jazbec, I. (1997): Acetone concentration in bulk milk samples. *Zbornik Veterinarske Fakultate Univerza Liubiana*, 34: 53-58.
23. Nielen, M., Aarts, MGA., Jonkers, AGM., Wensing, T. and Schukken, YH. (1994): Evaluation of low cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dairy cows. *Can. Vet. J.* 35: 229-232.
24. Osteras, O. (1997): Annual report from the Norwegian disease recording system for cattle, 1996. *Norsk Veterinære tidsskrift*. 109: 427-437.
25. Reding, J., Sahin, A., Schlatter, J. and Naegeli, H. (1997): Dexamethasone and flumetasone residues in milk of intramuscularly dosed cows. *J. Vet. Pharmacology and therapeutic*, 20: 198-203.
26. Reid, AT. (1991): Dairy Medicine and production. In: *Bovine Ketosis: A Review*, Postgraduate Committee in Veterinary Science University of Sydney. PP:?
27. Steen, A. and Osteras, O. (1992): Measurements of acetone and urea in bulk milk and in cow control samples. Preliminary results for 1991. *Meiriposten*, 81: 281-282.
28. Steen, A., Osteras, O. and Gronstol, H. (1996): Evaluation of additional acetone and urea analysis, and of the fat lactose in cow milk samples in the herd recording system in Norway. *J. Vet. Med. A* 43: 181-191.
29. Uremovic, M. and Uremoric, Z. (1997): The influence of milk production and dietary energy level on metabolic status and the incidence of ketosis in Holstein X Freisian cows, *praxis Veterinaria Zagreb*. 45: 131-138.
30. Vagneur, M. (1994): Ketosis in dairy cows. Metabolic changes in blood and liver during indication and early treatment of ketosis. *Bulletin des HTV*, 5: 146-154.
31. Venkateshwarulu, K. and Rao, DTS. (1993): Subclinical ketosis in crossbred cows. *Cherion*. 22: 116-119.
32. Waage, S. (1993): Incidence of milk fever and ketosis in Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supple Mendum*. 89, 139-140: Proceedings from an internordic and Battic Workshop – Jaeger Spris Denmark January. 12-14.
33. Willadsen, GM., Qvesel, J. and Willeberg, P. (1993): Ketosis in dairy herds. II. Epidemiological investigations. *Dansk Veterinertidsskrift*, 76: 275-280.
34. Ziauddin, KS., Muralidhar, K., Seshadri, SJ., Hussain, PM., Sreenivaish, PV., Syed, Ziauddin, K. and Margoeb-Hussain, P. (1992): Incidence of Ketonuria among local and crossbred cows. A few year observation. *Ind. Vet. Med. J.* 16:310-312.



