

بررسی هیپرکتوری از طریق تعیین عیار بتاهیدروکسی بوتیریک اسید در گاوهای

هولشتاین شیروار

دکتر علیقلی رامین^۱ دکتر ناصر رجبی^۲

Investigation of hyperketonuria by measuring beta hydroxy butric acid in dairy cows

Ramin, A.G.¹, Rajabi, N.²

¹Department of Clinical Sciences University of Urmia, Urmia - Iran. ²Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine University of Urmia, Urmia - Iran.

Objective: 1) to establish the BHB values in urine of apparently healthy (AHC) and sick (ASC) dairy cows, 2) to estimate of subclinical and clinical ketosis, 3) to determine the effect of season on urinary BHB concentration, 4) to compare three diagnostic methods for detection of BHB.

Design: Observational study.

Animals: Purbred or hybrid Holstein dairy cows.

Procedure: 84 urine samples were collected in different season from industrial dairy herds (60 samples, AHC group) and the dairy cows of Veterinary clinical of the Urmia University (24 samples, ASC group). BHB concentrations were assessed by dry and wet rotheras' test and spectrophotometer. The number of samples in autumn, winter, spring and summer were 13, 27, 30 and 14 respectively.

Statistical analysis: Chi-Square and ANOVA test.

Results: ANOVA test showed significant and analysis differences ANOVA test between ASC and AHC groups and seasons. For ASC group, the highest BHB was observed in winter (2.33 ± 0.76 mmol/l) and the lowest in summer (0.04 ± 0.02 mmol/l). No differences were detected among the three diagnostic methods, but the greater error was observed in dry rothera's test. The sensitivity and specificity for dry rothera test were 53.2%, 70.3%, and for wet rothera were 78.8% and 89.1%, respectively. After BHB concentration was classified as 0.2 mmol/l (physiological status), 0.21-1.4 mmol/l (suspected subclinical), 1.4-3 mmol/l (subclinical) and over 3 mmol/l (clinical ketosis), the distribution was 59.5% (50), 22.6% (19), 11.9% (10) and 6% (5), respectively. In ASC group, only 5 clinical ketosis was detected, while in AHC group 6 subclinical ketosis was observed in winter.

Conclusion: It is concluded that the apparently sick cows have some degree of secondary ketosis. Secondly, the probability of subclinical ketosis in industrial dairy cows of Urmia is not rejected. Thirdly, the occurrence of hyperketonuria in winter could be a problem and finally, after spectrophotometry method, the wet rothera's method could be an appropriate diagnostic method for field test of ketosis. *J. Fac. Vet. Med. Univ. Tehran, 57, 1: 57-60, 2002.*

Key words: Hyperketonuria, Beta hydroxy butric acid, Ketosis, Cows.

هدف: (۱) تعیین غلظت مواد ستونی و مقایسه آنها در گروه دامداری و ارجاعی، (۲) تعیین احتمال کتوز بالینی یا تحت بالینی، (۳) تأثیر فصل در میزان مواد ستونی و (۴) مقایسه روشهای ارزیابی اجسام ستونی. طرح: مطالعه مشاهده‌ای.

حیوانات: گاوهای شیری هولشتاین اصیل و دورگ.

روش: تعداد ۸۴ نمونه ادرار (۲۴ مورد ارجاعی و ۶۰ مورد دامداری) انتخاب شدند. مواد ستونی با روشهای کیفی مانند روترای خشک (نیتروپروساید سدیم) و مرطوب (نیتروپروساید سدیم و آمونیاک) و کمی یعنی BHB (اسپکتروفتومتری) ارزیابی شدند. تعداد نمونه‌ها در پاییز، زمستان، بهار و تابستان به ترتیب ۱۳، ۲۷، ۳۰ و ۱۴ بوده است.

تجزیه و تحلیل آماری: مربع کای و آنالیز واریانس.

نتایج: مقایسه میانگین فصول نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری بین عیار BHB ادرار در موارد ارجاعی با دامداری در فصول سال دارد ($F=3/718$, $df=7$, $P<0/05$). حداکثر غلظت BHB ادرار در زمستان ($2/33 \pm 0/76$ ارجاعی) و حداقل آن در تابستان ($0/04 \pm 0/02$ دامداری) بوده است. میانگین BHB ادرار موارد ارجاعی در زمستان اختلاف معنی‌داری را با تمامی موارد دامداری در فصول سال ($P<0/05$) نشان می‌دهند. همچنین در مجموع نمونه‌های ارجاعی با دامداری، میانگین BHB ادرار در تابستان اختلاف معنی‌داری ($P<0/05$) را با سایر فصول نشان می‌دهد. مجموع میانگین BHB ادرار در پاییز، زمستان و بهار در موارد ارجاعی ($1/57 \pm 0/81$ میلی مول در لیتر) به مراتب ($P<0/05$) بالاتر از دامداری ($0/4 \pm 0/16$ میلی مول در لیتر) بوده است. نتایج حاصله از مقایسه سه روش تشخیص اجسام ستونی اختلاف معنی‌داری را نشان نداد. اما بیشترین خطای تشخیص مربوط به روترای خشک بوده و به عبارت بهتر حساسیت و اختصاصی بودن روترای خشک و مرطوب به ترتیب ۵۳/۲ درصد، ۷۰/۳ درصد و ۷۸/۷ درصد، ۸۹/۱ درصد بوده است. اگر چنانچه غلظت BHB در ادرار تا $0/2$ تا $0/21-1/4$ میلی مول در لیتر را به ترتیب فیزیولوژیک، کتوز مشکوک به تحت بالینی، تحت بالینی و بالینی بنامیم در این صورت پراکندگی غلظت BHB به ترتیب ۵۹/۵ درصد (۵۰)، ۲۲/۶ درصد (۱۹)، ۱۱/۹ درصد (۱۰) و ۶ درصد (۵) خواهد بود. ۵ مورد کتوز بالینی از گروه ارجاعی بوده و تنها ۶ مورد از ۱۰ مورد کتوز بالینی در زمستان و از گروه دامداری بوده است.

نتیجه‌گیری: اولاً کتوز بالینی در موارد دامداری مطرح نبوده و عمدتاً تحت بالینی هستند در صورتی که گاوهای ارجاعی (به ظاهر مریض) فرمی از کتوز ثانویه را با خود دارند. همچنین وقوع هیپرکتونوری در زمستان می‌تواند مشکل ساز باشد. اندازه‌گیری BHB (روش اسپکتروفتومتری) به واسطه تعیین غلظت مواد ستونی از بیشترین اعتبار، روترای خشک از کمترین حساسیت و روترای مرطوب از حد متوسط برخوردار است. لذا برای شناسایی کتوز تحت بالینی در دامداریها آزمایش فیلد تست بر روی شیر و ادرار، تعیین عیار BHB و گلوکز سرم در زمستان به عنوان عامل هشدار خواهند بود. مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، (۱۳۸۱)، دوره ۵۷، شماره ۱، ۵۷-۶۰.

واژه‌های کلیدی: گاو، هیپرکتوری، BHB، کتوز.

کتوز بیماری متابولیک نشخوارکنندگان علی‌الخصوص گاو است که در اثر اختلال در متابولیسم کربوهیدراتها و اسیدهای چرب فرار

(۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.

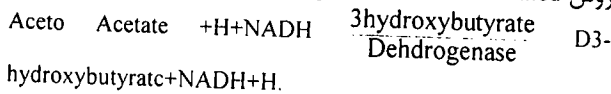
(۲) دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه ارومیه، ارومیه - ایران.



جدول ۱- میانگین و انحراف معیار عیار BHB ($X \pm SE$) در ادرار دامهای ارجاعی، دامداری و توأمان در فصول

فصل	ارجاعی	N	دامداری	n	توأمان	n
پاییز (۱)	$X \pm SE$	۵	$۰/۶۷ \pm ۰/۳۹$	۸	$۰/۸۱ \pm ۰/۳۶$	۱۳
زمستان (۲)	$۱/۰۴ \pm ۰/۸۹$	۷	$۰/۴۵ \pm ۰/۱۷$	۲۰	$۰/۹۴ \pm ۰/۲۷$	۲۷
بهار (۳)	$۱/۰۷ \pm ۰/۹۶$	۶	$۰/۲۶ \pm ۰/۱۱$	۲۴	$۰/۸۴ \pm ۰/۱۸$	۳۰
تابستان	$۰/۰۸ \pm ۰/۰۵$	۶	$۰/۰۴ \pm ۰/۰۲$	۸	$۰/۰۶ \pm ۰/۰۳$	۱۴
مجموع (۳، ۲، ۱)	$۱/۵۷ \pm ۰/۸۱$	۲۴	$۰/۴ \pm ۰/۱۶$	۶۰	$۰/۶۹ \pm ۰/۳۴$	۸۴

اسپکتروفوتومتری (Spectrophotometer method) از کیت BHB و به روش UV method استفاده شده و مکانیسم به شکل زیر می‌باشد:



مطابق این روش میزان افزایش جذب نوری در واحد زمان (براساس افزایش غلظت NADH^+ که در طول موج ۳۴۰ نانومتر جذب نوری دارد) محاسبه شده و در قیاس با نمونه‌های استاندارد (با غلظت ۱ و یا ۴ میلی مول در لیتر) مقادیر BHB بر طبق فرمول زیر محاسبه خواهد شد.

(Mmol.l) مقدار استون در ادرار - نمونه ادرار قرائت شده/ استاندارد قرائت شده.

روش محاسبه حساسیت تست روترا (Sensitivity & Specificity calculation) عموماً به طریق برنامه آماری و محاسبه دستی متکی بوده و به شکل می‌باشد. خارج قسمت تفاضل دو برابر خطای دو تست قرائت شده بر کل نمونه‌های مثبت قرائت شده (در روترای خشک ۳۶ مورد مثبت و BHB ۴۷ مورد مثبت قرائت شده لذا تفاضل ۲ برابر اختلاف ۳۶ و ۴۷ مساوی ۲۵ بوده و از تقسیم ۲۵ بر ۴۷ حساسیت تست روترا به دست خواهد آمد. روش محاسبه ویژگی تست روترا نیز مشابه فوق بوده منتهی در مورد نتایج منفی قرائت شده محاسبه خواهد شد.

یافته‌های حاصله از این بررسی با استفاده از آزمون مربع کای و آنالیز واریانس به محک آماری زده شدند.

نتایج

نتایج از نقطه نظر کمی (غلظت BHB در ادرار) و کیفی (تعداد موارد مثبت) بررسی گردیده است.

جدول ۱ میانگین و انحراف معیار عیار BHB ($X \pm SE$) در ادرار دامهای ارجاعی، دامداری و توأمان در فصول سال را نشان می‌دهد. مقایسه میانگین (ANOVA) موارد ارجاعی و دامداری در پاییز، زمستان، بهار و تابستان (جدول ۱) نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری ($F = ۳/۷۲, df = ۷, P < ۰/۰۵$) در پارامترهای فوق وجود دارد. حداکثر غلظت BHB در زمستان و حداقل آن در تابستان بوده است. جدول ۲ مقایسه BHB در ادرار (آزمون ANOVA) را در موارد ارجاعی و دامداری بر اساس فصل نشان می‌دهد.

میانگین BHB ادرار موارد ارجاعی در زمستان اختلاف معنی‌داری را با تابستان ($P < ۰/۰۵$) نشان می‌دهد. میانگین BHB ادرار موارد ارجاعی در زمستان اختلاف معنی‌داری را با تمامی موارد دامداری در فصول سال ($P < ۰/۰۵$) نشان می‌دهد. همچنین در مجموع نمونه‌های ارجاعی با دامداری، میانگین BHB ادرار در تابستان اختلاف معنی‌داری ($P < ۰/۰۵$) را با سایر فصول نشان می‌دهد. مجموع میانگین BHB (میلی مول در لیتر) ادرار در پاییز، زمستان و بهار در موارد ارجاعی ($۱/۵۷ \pm ۰/۸۱$) به مراتب ($P < ۰/۰۵$) بالاتر از

بروز آنها به ترتیب ۳۰ درصد (۵) تا ۱۴ درصد (۹) گزارش شده است. تحقیقات وسیعی در زمینه تشخیص کتوز با بهره‌مندی از تعیین اجسام ستونی در شیر، خون و هوای تنفسی به روش روترا و اسپکتروفوتومتری به عمل آمده است (۱۷، ۱۶، ۱۵، ۱۲، ۴) اما به واسطه مشکلات تهیه نمونه ادرار و تنوع اجسام ستونی توجه کمتری به آن معطوف گردیده است (۱۳). لذا با توجه به تنوع گزارشات در خصوص میزان پراکندگی، روش تشخیص و برداشت نمونه و خسارات اقتصادی علی‌الخصوص در شکل تحت بالینی سبب گردیده است که مطالعه وسیع و بی‌وقفه بیماری مخصوصاً در مناطقی که توازن منفی غذایی در اثر سوء مدیریت و تغذیه وجود دارد مد نظر باشد (۳). بنابراین اهداف مطالعه فوق عبارت‌اند از: (۱) تعیین میزان بتاهیدروکسی بوتیریک اسید در ادرار گاوهای به ظاهر سالم (دامداری) و به ظاهر مریض (ارجاعی) از طریق روترای خشک، مرطوب و روش اسپکتروفوتومتری، (۲) مقایسه سه روش تشخیصی بیماری و تعیین حساسترین آنها، (۳) مقایسه غلظت BHB ادرار با موارد ایزوبولژیک و پانولولژیک در گاوهای شیروار، (۴) تعیین احتمالی کتوز تحت بالینی و بالینی در گروههای دامداری و ارجاعی.

مواد و روش کار

در طی فصول پاییز، زمستان، بهار و تابستان از گاوهای شیروار به ظاهر سالم معدودی از دامداریهای صنعتی (دامداری) و به ظاهر مریض (ارجاعی) به درمانگاه تخصصی تعداد ۸۴ نمونه ادرار (ارجاعی = ۲۴ و دامداری = ۶۰) براساس جدول ۱ تهیه گردید. دامداریها در شعاع ۱۵ کیلومتری شهرستان ارومیه بوده و گاوها به ظاهر سالم و از شکم دوم تا پنجم متغیر بودند. نمونه‌ها به روش ماساژ ناحیه پرنه، یافته‌های مقعدی (توشه رکتال) و سند ادراری جمع‌آوری و در لوله‌های ۱۰ میلی لیتری برای انجام تحقیقات به آزمایشگاه ارسال گردیدند. اجسام ستونی در ادرار به وسیله روترای خشک و مرطوب ارزیابی شده و بتا هیدروکسی بوتیریک اسید (Rnbut. Randax. RB1007, 55 Diamond Road, Crumlin Antrinl, N.Ireland). به روش اسپکتروفوتومتری (LKB Biochrom spectro photometry, 4045) اندازه‌گیری شد. (۱) روش روترای خشک (Dry rothera test) مقدار کمی از پودر روترا (نیترو پروساید سدیم و سولفات آمونیوم) را روی شیشه ریخته و چند قطره ادرار بر آن اضافه می‌کنیم. ظهور رنگ بنفش نشانگر مواد ستونی در ادرار است. (۲) روش روترای مرطوب (Wet rothera test) نیم گرم سولفات آمونیوم، چند قطره مایع نیترو پروساید سدیم اشباع و نیم میلی لیتر ادرار را در لوله بهم زده سپس نیم میلی لیتر آمونیاک خالص را به آرامی روی آن ریخته تا مخلوط نگردند. ظهور حلقه بنفش رنگ بین دو محلول مشخصه مواد ستونی در ادرار است. روترای خشک و مرطوب روش کیفی بوده و استون، استواستیک اسید و ماحصل تبدیل BHB به استواستات را نشان می‌دهند لذا جهت تشخیص موارد تحت بالینی در گله به کار می‌روند. (۳) روش



جدول ۲- مقایسه میانگین BHB ادرار موارد دامداری و ارجاعی براساس فصل.

T-Value	Df	میانگین فصل
۲/۲۴۸	۱۱	زمستان با تابستان ارجاعی
۲/۱۱۵	۱۳	زمستان ارجاعی X پاییز دامداری
۱/۸۷۹	۲۵	زمستان ارجاعی با دامداری
۲/۰۷۴	۲۹	زمستان ارجاعی X بهار دامداری
۶۰۲/۲۹۶	۱۳	زمستان ارجاعی X تابستان دامداری

جدول ۳- مقایسه روترای خشک، مرطوب و BHB در مجموع نمونه‌ها در فصول سال (n=۸۴).

فصل	روترای خشک		روترای مرطوب		BHB	
	+	-	+	-	+	-
پاییز	۱۰	۳	۱۰	۳	۳	۱۰
زمستان	۱۵	۱۲	۱۷	۱۰	۱۲	۱۵
بهار	۱۶	۱۴	۱۰	۲۰	۱۳	۱۷
تابستان	۷	۷	۴	۱۰	۹	۵
مجموع	۴۸	۳۶	۴۱	۴۳	۳۷	۴۷

جدول ۴- مقایسه فصلی مواد فیزیولوژیک، کتوز مشکوک به تحت بالینی، تحت بالینی و بالینی.

فصل	فیزیولوژیک	مشکوک به تحت بالینی	تحت بالینی ۱/۴-۳	بالینی > ۳	مجموع نمونه‌ها
پاییز	۵	۵	۲	۱	۱۳
زمستان	۱۳	۵	۶	۳	۲۷
بهار	۲۰	۷	۲	۱	۳۰
تابستان	۱۲	۲	۰	۰	۱۴
جمع کل	۵۰	۱۹	۱۰	۵	۸۴

درصد بوده است. در این مطالعه میزان کتوز بالینی ۶ درصد، تحت بالینی ۱۱/۸ درصد و مشکوک به تحت بالینی ۲۲/۶ درصد بوده است. Garcia و همکاران در سال ۱۹۸۸ کتوز تحت بالینی و مشکوک به تحت بالینی را به ترتیب ۴/۵۵ درصد و ۱۹/۱۶ درصد ذکر کرده‌اند. در هر صورت به علت مشکلات اخذ ادرار و سهولت و اخذ نمونه‌های شیر و خون، محققین اکثراً به خون و شیر اشاره نموده‌اند. Nielen و همکاران در سال ۱۹۹۴ اذعان دارند که هر دو نمونه شیر و ادرار می‌توانند برای تعیین کتوز تحت بالینی در گله به کار روند. اما شیر به واسطه سهولت تهیه و با خصوصیات آزمایشی بهتر اولویت دارد. گزارشات از اروپا و آمریکای شمالی نشان می‌دهند که کتوز غالباً در زمستان و بهار اتفاق می‌افتد (۱۳). در این بررسی میانگین BHB ارجاعی در زمستان بیشتر از دیگر فصول بوده است (جدول ۱) و این با یافته‌های Bhui و همکاران در سال ۱۹۹۳ همخوانی دارد که حداکثر بروز کتوز را در زمستان گزارش نموده‌اند. علت آن احتمالاً وجود زایمان در زمستان، فقر غذایی و انرژی، سیلوهای حاوی بوتیرات و محصور بودن دام در اصطبل باشد (۱۴). گزارشات نشان می‌دهند گاوهایی که در فصل زمستان از اصطبل به مرتع انتقال می‌یابند شیوع کتوز در آنها کاهش می‌یابد در صورتی که Kelly در سال ۱۹۷۷ در فصل زمستان از گاوهای با تغذیه خوب حتی نتوانست BHB را نشان دهد. همچنین حداقل غلظت BHB در ادرار متعلق به تابستان بوده که با یافته‌های ضیاءالدین و همکاران در سال ۱۹۹۲ مطابقت می‌نماید.

در مطالعاتی که بر روی روشهای تشخیص اجسام ستونی در خون، شیر و ادرار انجام گرفته اندازه‌گیری BHB به عنوان روش

موارد دامداری (۰/۴±۰/۱۶) بوده است.

جدول ۳ نتایج حاصله از روترای خشک، مرطوب و بتا‌هیدروکسی بوتیریک اسید را در مجموع نمونه‌ها با توجه به فصل نشان می‌دهد. آزمون مربع کای اختلاف معنی‌داری را بین نتایج روترای خشک و مرطوب BHB و روترای خشک و BHB و روترای مرطوب نشان نمی‌دهد. اگر چنانچه مبنای تشخیص اجسام ستونی در ادرار را اندازه‌گیری BHB فرض نماییم در این صورت روترای خشک ۱۱ خطا داشته (False Negative) لذا حساسیت و ویژگی آن به ترتیب ۵۳/۲ درصد و ۷۰/۳ درصد خواهد بود. همچنین روترای مرطوب ۴ مورد خطا (False Negative) داشته لذا حساسیت و ویژگی آن به ترتیب ۸۷/۷ درصد و ۸۹/۱ درصد خواهد بود.

جدول ۴ مقایسه موارد فیزیولوژیک، کتوز مشکوک به تحت بالینی، تحت بالینی و بالینی را نشان می‌دهد. بر اساس منابع گزارش شده اگر تا ۰/۲ میلی مول در لیتر BHB در ادرار را به عنوان فیزیولوژیک، ۰/۲۱-۱/۴ را مشکوک به تحت بالینی، ۱/۴-۱/۴۱ را تحت بالینی و بالای ۳ میلی مول در لیتر را بالینی در نظر بگیریم. در این مطالعه تعداد فیزیولوژیک، مشکوک به تحت بالینی، تحت بالینی و بالینی به ترتیب ۵۰ (۵۹/۵ درصد)، ۱۹ (۲۲/۶ درصد)، ۱۰ (۱۱/۹ درصد)، و ۵ (۶ درصد) خواهد بود آزمون مربع کای اختلاف معنی‌داری را بین موارد فیزیولوژیک با سایر موارد مشکوک به تحت بالینی با تحت بالینی ($P < 0.05$)، مشکوک به تحت بالینی با بالینی ($P < 0.05$) نشان می‌دهد ولی بین مشکوک به تحت بالینی با تحت بالینی و تحت بالینی با بالینی معنی‌دار نبوده است. لازم به ذکر است که ۵ مورد کتوز بالینی از موارد ارجاعی بوده و از ۱۰ مورد کتوز تحت بالینی ۸ مورد از دامداری بوده است. همچنین از ۵ کتوز بالینی سه مورد در زمستان و ۲ مورد در پاییز و بهار بوده‌اند و از ۱۰ مورد کتوز تحت بالینی ۶ مورد در زمستان و بقیه در پاییز و بهار بودند.

بحث

این مطالعه درصدد تعیین کتوز اولیه یا ثانویه نبوده بلکه در مرحله اولیه اثبات BHB در ادرار گاوها و سپس یافتن کتوز تحت بالینی و سرانجام آگاهی از پراکندگی اجسام ستونی در موارد دامداری و ارجاعی بوده است. تمامی فاکتورهای فوق در چهار فصل به تفکیک و با توجه به روشهای جاری تشخیص اجسام ستونی صورت گرفته و نتایج به صورت جداول ساده ای بیان گردیده است. در این بررسی میانگین غلظت BHB ارجاعی در فصول پاییز، زمستان و بهار به مراتب ($P < 0.01$) بیشتر از دامداری بوده است (جدول ۱). علت آن احتمالاً وجود بیماریهای گوناگون در موارد ارجاعی همانند سوء هاضمه، تورم ضربه‌ای نگاری و غیره می‌تواند باشد. افزایش اجسام ستونی در موارد ارجاعی اکثراً به فرم ثانوی بوده است. منابع موجود اجسام ستونی را در بیماری جسم خارجی (۱۳)، سوء هاضمه (۱)، جابه‌جایی شیردان (۷) و غیره گزارش نموده‌اند. Bhui و همکاران در سال ۱۹۹۳ نتیجه می‌گیرند که موارد بروز کتوز اولیه کمتر از ثانویه است. ثانیاً محققین غلظت BHB در ادرار را تا حدود ۰/۲ فیزیولوژیک، ۰/۲-۱/۴ را مشکوک به تحت بالینی، ۱/۴-۳ را کتوز تحت بالینی و بالای ۳ میلی مول در لیتر را کتوز بالینی ذکر کرده‌اند (۹، ۱۰). بنابراین میانگین BHB ادرار در دامداری در حد مشکوک به تحت بالینی بوده و در صورتی که در موارد ارجاعی کاملاً حالت تحت بالینی دارد.

میزان کتوز گزارش شده از طریق آزمایشات ادرار به وسیله ضیاءالدین و همکاران در سال ۱۹۹۲، ۳۰/۳۰ درصد، He و همکاران در سال ۱۹۹۲ ۴/۵ درصد و Uremovic در سال ۱۹۹۷، ۳۰/۷۴



۷۸/۷ درصد و ۸۹/۱) بوده لذا در مقایسه از ارزش ضعیفی برخوردار است و احتمال خطا بوفور وجود دارد. با وصف معنی دار نبودن آماری روشهای فوق چنین استنباط می‌گردد که علی‌رغم کیفی بودن روترای مرطوب این روش دقیقتر از روترای خشک و همچنین خیلی نزدیکتر به روش اندازه‌گیری BHB می‌باشد.

در مجموع مطالعه اخیر بر روی میزان بتاهدروکسی بوتیریک اسید در ادرار نشان داد که غلظت مواد کتون در گاوهای به ظاهر مریض بیشتر از سالم بوده و تقریباً این دامها به نوعی مواد ستونی را در ادرار دارند. غلظت اجسام ستونی در زمستان بیشتر از تابستان بوده است. ثالثاً زمستان در بروز بیماری مهم بوده و رابعا پس از روش اسپکتوفتومتری، روترای مرطوب روش مطلوبی در تشخیص کتوز می‌باشد.

References

- Anderson, L., Gustafsson, A.H. (1990): Use of milk acetone measurements is a consulting aid, Results from the first of three test years. *Meddelande Svensk Husdjursskotasel*, 162: 19-25.
- Bauer, M. (1996): Blood suger status of healty and ketotic dairy cows. *Tievarztliche Vmschau*. 51:8, 481-487.
- Bhuin, S., Chakrabarti, A., Mukherjee, B.N. (1993): A study on clinical ketosis in cow in Mohanpur – Haringhata complex (West Bengal). *Indian Journal of Dairy Science*. 46:6, 258-259.
- Dobbelaar, P., Mottram, T., Nyabadze, C., Hobbs, P., Elliatt nartin, R.J., Schukken, Y.H. (1998): Detection of ketosis in diary cows by analysis of exhaled breath, *Veterinary Quarterly*. 18:4, 151-152.
- Erb, H.N., Martin, S.W. (1978): Age and breed and seasonal patterns in the occurrence of the dairy cow disease: A case control study. *Canadian Journal of Comparative Medicine*. 42:1-9.
- Garcia partied, p., Prieto, F., Benedito, J.L. (1988): Treatment of prepartum ketoisis in cows with clanobutin. *Tierarztliche Umschau*. 43:10, 641-642, 644-646.
- Grohn, Y., Thompson, J.R., Bruss, M.L. (1984): Epidemiology and genetic basis of ketosis in Finnish Ayrshire cattle. *Preventative Veterinary Medicine*. 3:55 65-77.
- Gustafsson, A.H., Emanuelson, U. (1996): Milk acetone concentration as an indicator of hyperketonemia in dairy cows. The critical value revised. *Animl Science*, 63:2 183-188.
- He, B.X., Zhang, S.F., Wang, Y.G., Gao, J.H., Song, W.W., Song, A.B., Zhang, L.X, XU, Q.U. (1992): Investigation of subclinical ketosis of Friesian dairy cattle in Xining area. *Journal of Qinghai Animal Husbandry Medicine College*, 9:1, 57-60.
- Kelly, J.M. (1977): Changes in serum B. hydroxy butyrate concentrations in dairy cows kept under commercial farm conditions. *Veterinary Record*. 101:499-502.
- Koiwa, M. (1994): Clinical observations on fat cow syndrome in dairy cows. *Journal of pakuno Gakuno University Natural Science*, 19:1, 111- 134.
- Nielen, M., Aarts, M.G.A., Jonkers, A.G.M., Wensing, T., Schukken, Y.H. (1994): Evaluation of low cowside tests for the detection of subclinical ketosis in dary cows. *Canadian Veterinary Journal*. 35:4, 229-232.
- Radostits, O.M., Blood, D.C., Henderson, J.A. (2000): *Veterinary Medicine*. 8th ed, Balliere Tindall. London , 1128-1137.
- Reding, J., Sahin, A., Schlatter, J., Naegeli, H. (1997): Dexamethasone and flumethasone residues in Milk of intramuscularly dosed cows. *Journal of Veterinary Pharmacology and therapeutice*, 20:3, 198-203.
- Uremovic, M., Uremovic, Z. (1997): The influence of milk production and dietary energy level on metabolic status and the incidence of ketosis in Holstein X Friesian cows, *Praxis Veterinaria Zagreb*. 45:1-2, 131-138.
- Vojtisek, B., Hamrilk, J., Hronova, B., Diblikova, I., Minksova, E. (1989): Use of sodium acetate in feed for cows with ketosis. *Veterinani Medicina*, 34:10, 585-592.
- Waage, S. (1993): Incidence of Milk fever and ketosis in Norway. *Acta Veterinaria Scandinavica. Supple Mentum*. 89, 139-140.
- Winterbach, H.E.K., APPS, P.I. (1991): Agas chromatographic head space method for determination of acetone in bovin milk blood and urine. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, 58:272-279.
- Ziauddin, K.S., Muralidhar., K., Seshadri, S.J., Hussain, P.M., Sreenivaish, P.V., Syed Ziauddin, K., Margoeb-Hussain, P. (1992): Incidnce of Ketonuria among local and crossbred cows. A few year observation. *Indian Veterinary Medical Journal*. 16:4,310-312.

