بررسی تغییرات فصلی میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در یکی از گاوداریهای اطراف تهران

دکتر مهرداد مهری[۱] دکتر ملیحه عباسعلی پورکبیر[۲] دکتر عبدالمحمد حسنی طباطبایی[۳] دکتر محمدرضا مخبردزفولی[۴]

مجله دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، دوره ۵۴، شماره ۲ ، ۳۰ - ۲۵، (۱۳۷۸)

در ارزیابی میزان ایمنی پاسیو در گوساله‌های شیری تعداد ۲۹۶ رأس گوساله شیری هلشتاین جهت سنجش مقادیر پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون مورد آزمایش قرار گرفتند. میانگین هر یک از پارامترهای اندازه‌گیری شده همراه با خطای معیار برای کل جمعیت، ماههای مختلف سال و فصول مختلف محاسبه شد. بیشترین میزان پروتئین تام در بهمن ماه و کمترین میزان آن در فروردین، بالاترین میزان پروتئین تام سرم خون در فصل زمستان و کمترین میزان آن در فصل بهار، بیشترین میزان گاماگلوبولین در اسفند ماه و کمترین میزان آن در تیرماه اندازه‌گیری شد. میزان گاماگلوبولین در فصل زمستان بالاترین و در فصل بهار کمترین میزان تعیین گردید. میزان پروتئین تام بین ماهها و فصول مختلف سال واجد اختلاف معنی‌دار می‌باشد ($P < ۰/۰۵$). میزان گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در ماههای مختلف سال اختلاف معنی دار دارد ($P < ۰/۰۵$) اما بین فصول مختلف سال اختلاف موجود معنی‌دار نمی‌باشد.

واژه‌های کلیدی: گوساله‌های نوزاد، نقص ایمنی پاسیو، پروتئین تام، گاماگلوبولین، فصل

ساختمان خاص جفت در حیوانات و بخصوص نشخوارکنندگان باعث می‌گردد که ایمونوگلوبولین‌های سرم خون مادر قادر به عبور از آن نبوده و لذا نوزاد نشخوارکنندگان جهت مقاومت نسبت به عوامل بیماریزای موجود در محیط زندگی خود در ماههای اول زندگی کاملاً وابسته به دریافت ایمونوگلوبولین‌ها از راه آغوز هستند و به عبارت دیگر انتقال پاسیو ایمونوگلوبولین‌های آغوز با اهمیت‌ترین و سریعترین مکانیسم محافظ برای گوساله‌های نوزاد می‌باشد (۷).

بدیهی است گوساله‌هایی که قادر به اخذ و جذب مقادیر کافی ایمونوگلوبولین از راه آغوز نگردند در برابر عفونتهای دوران نوزادی بسیار حساستر از گوساله‌هایی هستند که مقادیر بالایی از ایمونوگلبولینهای آغوز را دریافت کرده‌اند و مرگ و میر ناشی از این بیماریها نیز در آنها بیشتر است (۱، ۳، ۷ و ۹). با توجه به مطالب عنوان شده، اندازه‌گیری سریع میزان ایمونوگلوبولین‌های سرم خون گوساله‌های نوزاد و تشخیص سریع نقص ایمنی پاسیو می‌تواند برخورد منطقی با این گوساله‌ها را جهت به حداقل رساندن خسارات وارده تسریع نماید. روشهای مختلف کمّی و نیمه کمّی جهت ارزیابی میزان ایمونوگلوبولین‌های سرم خون به صورت مستقیم و غیر مستقیم در دسترس می‌باشد (۱۰).

مقدار ایمونوگلوبولین مورد نیاز جهت محافظت در برابر ارگانیسمهای بیماریزا به عوامل متعددی از جمله نحوه مدیریت و عوامل محیطی بستگی دارد. یکی از عوامل محیطی دخیل که اثر آن بر میزان ایمونوگلوبولین‌های سرم خون گوساله‌های نوزاد مشخص شده است فصل می‌باشد. مطالعه حاضر جهت بررسی اثر فصل و ماههای مختلف سال بر میزان ایمونوگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد و در نتیجه میزان پروتئین تام آن در منطقهٔ تهران انجام گرفته است و شاید اولین مطالعهٔ انجام گرفته در سطح کشور در این راستا باشد.

مواد و روش کار

نمونه‌گیری از یک واحد گاوداری شیری در حومه جنوبی تهران که سالانه حدود ۲۰۰ رأس گوساله جدید در آن متولد می‌گردید انجام گرفت. علت محدود نمودن مطالعه در یک واحد بزرگ این بود که شرایط مدیریت و پرورش برای تمام گوساله‌های نوزاد در طول یک سال انجام مطالعه یکسان باشد تا تأثیر پارامترهای مورد مطالعه به حداکثر برسد.

بازدید هفتگی از گاوداری انجام گرفته و در هر بار از تعدادی از گوساله‌های متولد شده در هفته قبل که حداقل ۲۴ ساعت و حداکثر ۷ روز از تولد آنها می‌گذشت نمونه‌گیری به عمل می‌آمد. گوساله‌های نمونه‌گیری شده از نژاد هلشتاین بوده و بلافاصله بعد از تولد و انجام اقدامات اولیه آنها را از مادرانشان جداکرده و در باکسهای انفرادی نگهداری می‌کردند. بعد از انتقال، آغوز مادر را از طریق بطری پستانکدار به میزانی که حیوان میل به خوردن آن داشت (حداقل ۶ درصد وزن بدن) در اختیار گوساله قرار می‌دادند. در صورتی که به هر دلیل گوساله قادر به خوردن آغوز نبود، مقدار کافی قبل از ۶ ساعت به وسیلهٔ لوله مری به حیوان خورانده می‌شد.

نمونه‌گیری به وسیله سرنگهای یک بار مصرف از ورید وداج صورت گرفته و بعد از انتقال به لوله‌های آزمایش شیشه‌ای و ثبت مشخصات گوساله، ظرف مدت حداکثر ۲ ساعت به آزمایشگاه انتقال داده شده و سرم خون توسط سانتریفوژ کردن جدا گشته و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰ - درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. در مجموع در طول مدت یک سال (از ابتدای آذر ۱۳۷۳ تا پایان آبان ۱۳۷۴) از ۳۱۰ رأس گوساله نمونه‌گیری انجام گرفت که ۱۴ نمونه به دلیل همولیز حذف و ۲۹۶ نمونه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند.

میزان پروتئین تام سرم خون با کمک دستگاه اتوانالیزر اپندورف مدل Epos 5060 ساخت آلمان و به وسیله کیت آنتی‌ژن تجارتی موجود اندازه‌گیری گردید. قابل ذکر است که در هر بار اندازه‌گیری جهت کنترل درستی آزمایشات از سرمهای کنترل تجارتی به طور همزمان استفاده شد.

جهت تعیین میزان گاماگلوبولین سرم خون از روش الکتروفورز استات سلولز و دستگاه lre - tsm 166 ساخت آلمان سود برده شد. بافر مورد استفاده بافر باربیتال با pH=۸/۶، ولتاژ ۲۲۰ ولت و شدت جریان ۱۳ میلی‌آمپر به مدت ۲۰ دقیقه به کار رفت. پس از تفکیک، باندهای پروتئینی تثبیت و با panseu s رنگ‌آمیزی شده و میزان هر یک از باندها توسط دانسیتومتر lre-pherotron S تعیین گردید.

میانگین میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون همراه با خطای معیار (Mean ± SE) برای کل جمعیت نمونه‌گیری شده، فصول و ماههای مختلف سال محاسبه گردید و سپس جهت بررسی بیشتر مقادیر میانگین به دست آمده به وسیله آنالیز واریانس و تست دانکن مورد ارزیابی آماری قرار گرفتند.

۱) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد - ایران.
۲) گروه آموزشی علوم پایه دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۳) گروه آموزشی پاتوبیولوژی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.
۴) گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران - ایران.

نتایج

بر اساس نتایج حاصله میانگین میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد نمونه‌گیری شده به ترتیب ۰/۰۶۹ ± ۸ و ۰/۰۴۹ ± ۲/۵ گرم در دسی‌لیتر به دست آمد. بیشترین میزان پروتئین تام در ماه بهمن و کمترین مقدار آن در فروردین ماه مشاهده شد (نمودار ۱). مقدار پروتئین تام در زمستان بالاترین میزان و در بهار کمترین میزان مشخص گردید (نمودار ۳). آنالیز واریانس نشان داد که تفاوت موجود در ماهها و فصول مختلف سال برای میزان پروتئین تام در حد P<۰/۰۵ معنی‌دار است. میزان گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد مورد آزمایش در اسفند ماه بالاترین و در تیر ماه کمترین میزان را داشته است (نمودار ۲). در فصل زمستان بیشترین میزان و در بهار کمترین مقدار گاماگلوبولین در سرم خون مشاهده شد (نمودار ۴). اختلاف موجود میان میانگین مقادیر گاماگلوبولین سرم خون در ماههای مختلف سال در حد P<۰/۰۵ معنی‌دار بوده ولی در رابطه با فصل اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید. اطلاعات کامل در جداول و نمودارهای ۴ و ۳، ۲ ، ۱ ارائه شده است.

جدول ۱ـ آنالیز واریانس و تست دانکن برای مقادیر میانگین پروتئین تام سرم خون گوساله‌های نوزاد در ماههای مختلف سال

میانگین	ماه +	فروردین	خرداد	تیر	مهر	مرداد	دی	شهریور	آبان	اردیبهشت	آذر	اسفند	بهمن
۵/۹۲۱۱	فروردین												
۶/۰۳۷۶	خرداد												
۶/۱۹۶۰	تیر												
۶/۲۵۹۵	مهر												
۶/۴۱۵۲	مرداد												
۶/۵۶۶۱	دی	*											
۶/۶۶۶۳	شهریور	*											
۶/۹۵۴۰	آبان	*	*		*								
۷/۲۲۴۴	اردیبهشت	*	*	*	*	*	*						
۷/۲۸۳۱	آذر	*	*	*	*	*	*	*					
۸/۰۷۳۹	اسفند	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		
۸/۱۲۶۳	بهمن	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		

* نشان می‌دهد که دو گروه در سطح P<۰/۰۵ واجد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند.
+ ماههای سال بر حسب مقادیر نزولی به صعودی میانگین مرتب شده‌اند.

جدول ۲ـ مقادیر حاصل از آنالیز واریانس و تست دانکن برای مقادیر میانگین گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در ماههای مختلف سال

میانگین	ماه +	تیر	مهر	فروردین	خرداد	دی	مرداد	شهریور	آذر	آبان	بهمن	اسفند
۲/۱۱۳	تیر											
۲/۱۶۱۰	مهر											
۲/۱۹۱۹	فروردین											
۲/۲۱۶۴	خرداد											
۲/۳۸۸۱	دی											
۲/۵۲۳۱	مرداد											
۲/۵۷۰۰	شهریور											
۲/۶۳۰۰	اردیبهشت											
۲/۶۴۲۸	آذر											
۲/۷۵۲۰	آبان		*	*								
۲/۸۰۵۰	بهمن	*	*	*	*							
۳/۰۹۴۴	اسفند	*	*	*	*	*	*					

* نشان می‌دهد که دو گروه در سطح P<۰/۰۵ واجد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند.
+ ماههای سال بر حسب مقادیر نزولی به صعودی میانگین مرتب شده‌اند.

جدول ۳ـ آنالیز واریانس و تست دانکن در مورد میزان پروتئین تام سرم خون گوساله‌های نوزاد در فصول سال

میانگین	فصل +	بهار	تابستان	پائیز	زمستان
۶/۳۸۲۱	بهار				
۶/۴۵۵۴	تابستان				
۶/۸۹۸۵	پاییز	*	*		
۷/۳۹۴۱	زمستان	*	*	*	

* نشان می‌دهد که دوگروه در سطح P<۰/۰۵ واجد اختلاف معنی‌دار با یکدیگر می‌باشند.

+ مقادیر بر حسب نزولی به صعودی میانگین مرتب شده‌اند.

جدول ۴ـ آنالیز واریانس و تست دانکن در مورد میزان گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در فصول سال

میانگین	فصل +	بهار	تابستان	پائیز	زمستان
۲/۳۴۲۱	بهار				
۲/۴۴۸۸	تابستان				
۲/۵۳۴۱	پاییز				
۲/۶۷۹۴	زمستان	*			

* نشان می‌دهد که دوگروه در سطح P<۰/۰۵ واجد اختلاف معنی‌دار بایکدیگر می‌باشند.

+ مقادیر بر حسب نزولی به صعودی میانگین مرتب شده‌اند.

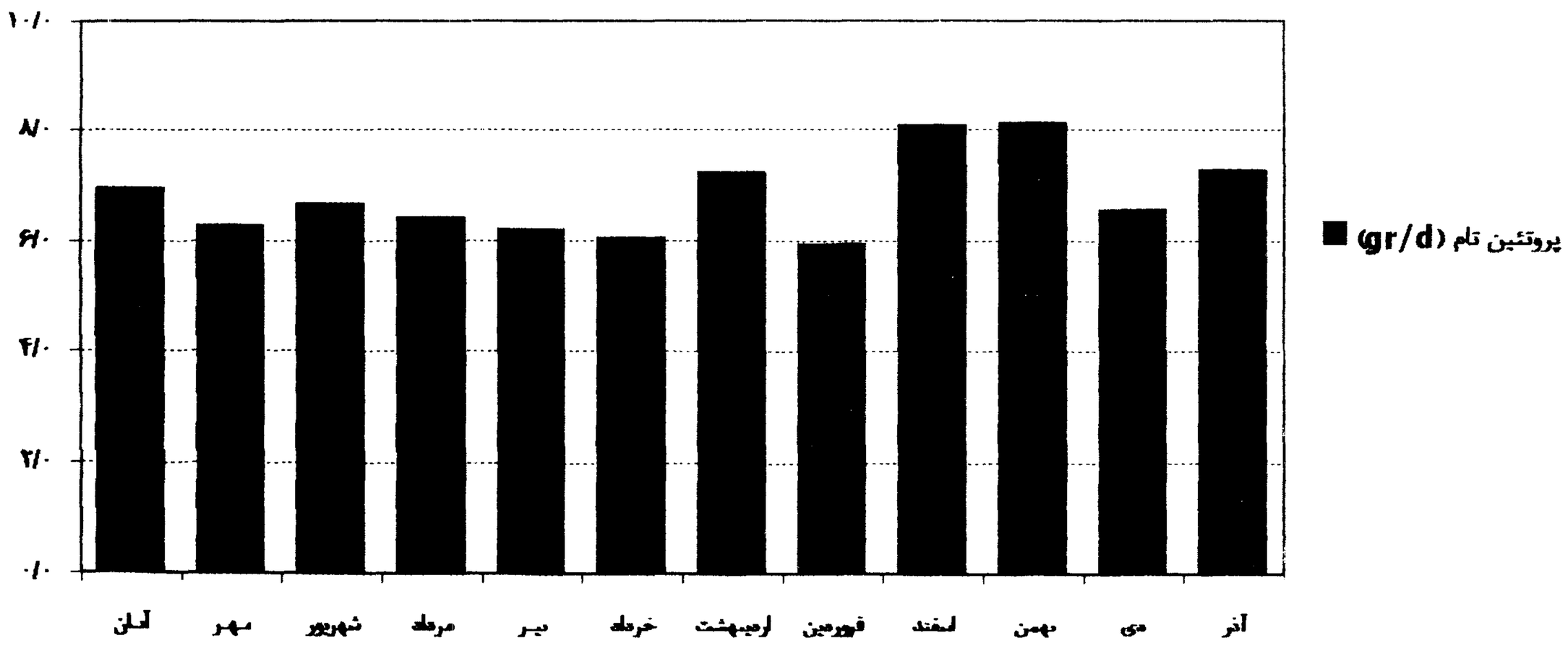
بحث

از جمله عواملی که نقش آن بر میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد مشخص گردیده است، فصول و ماههای مختلف سال است. مطالعات سایر محققین در دیگر کشورهای جهان بخوبی این تغییرات را مشخص نموده و الگوی تغییرات آن را نیز گزارش نموده‌اند (۱، ۴، ۶، ۸ و ۹). بسته به موقعیت جغرافیایی و آب و هوایی منطقه، الگوی تغییرات میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد متفاوت می‌باشد. لذا تعیین تغییرات فصلی پارامترهای یاد شده در مناطق مختلف، فصول یا ماههایی از سال را که طی آنها کمترین میزان گاماگلوبولین (یا پروتئین تام به عنوان یک روش غیرمستقیم) و بیشترین شیوع نقص ایمنی پاسیو به وقوع می‌پیوندد را مشخص نموده و با افزایش اقدامات کنترل و پیشگیری می‌توان خسارات وارده را به حداقل ممکن تقلیل داد.

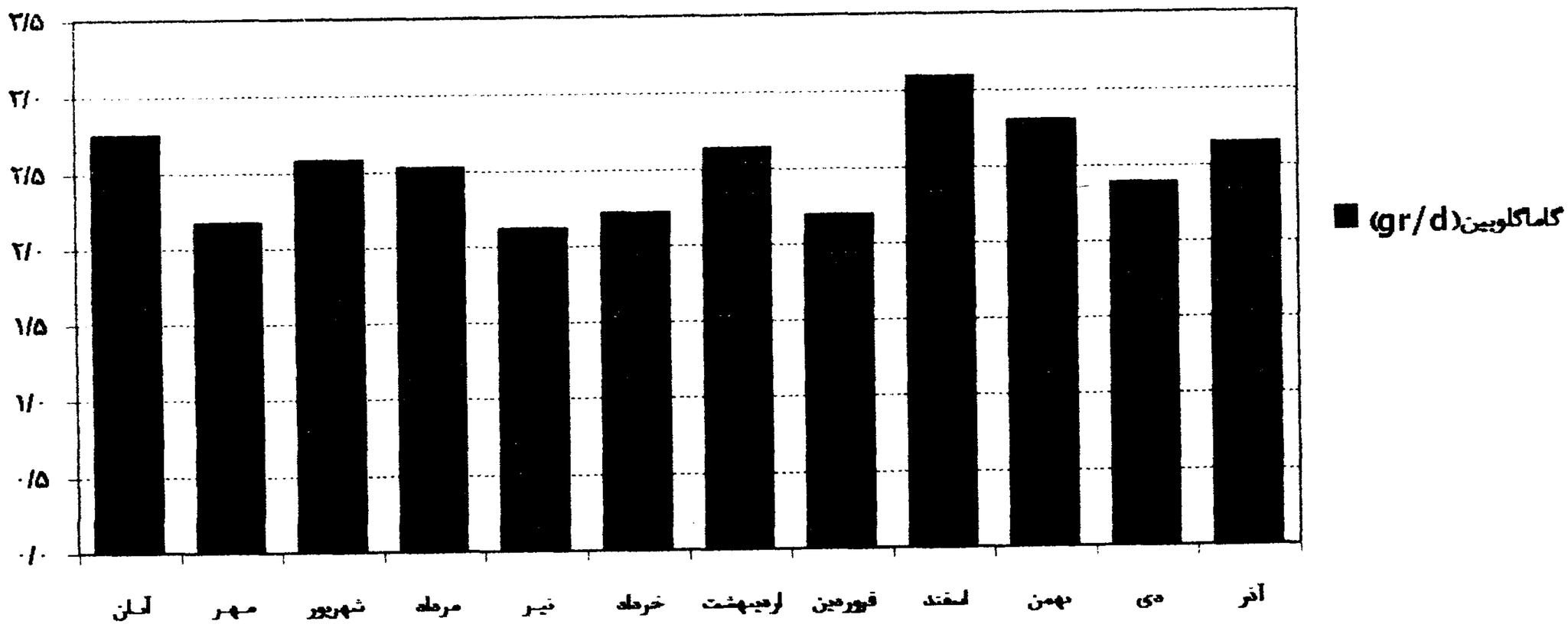
Boyd (۱۹۷۴) میزان ایمونوگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد را در ۶ ماه اول سال بیشتر از ۶ ماه دوم سال گزارش کرده و این اختلاف را معنی‌دار یافته است (۲). Williams و همکاران (۱۹۸۰) کمترین میزان ایمونوگلوبولین سرم خون را اواخر اسفند تا اوایل فروردین و حداکثر میزان آن را در اواخر شهریور و اوایل مهر اعلام نموده است (۱۲). Slanina و همکاران (۱۹۷۶) بیشترین میزان ایمونوگلوبولین را اواسط فروردین تا اوایل تیر ماه یافته است (۱۰).

آنچه مسلم است نتایج مطالعه حاضر در تضاد با نتایج گزارش شده فوق است اما در مقابل گزارشات دیگری وجود دارد که نتایج تحقیق حاضر با آنها همخوانی دارد Donovan و همکاران (۱۹۸۶) در بررسی خود به عنوان شاخص میزان ایمنی پاسیو، مقدار پروتئین تام را اندازه‌گیری نموده و گزارش کرده است که در ماههای گرم بین تیر و مرداد حداقل میزان پروتئین تام سرم خون و در ماه بهمن بیشترین میزان پروتئین تام را مشاهده نموده است و اختلاف موجود معنی‌دار بوده است (۴). Mohammed و همکاران (۱۹۹۱) نیز میزان پروتئین سرم خون گوساله‌های نوزاد را در سه ماهه پائیز (مهرماه تا اواسط دی) بیشترین و بین فروردین تا اوایل تیر کمترین میزان گزارش نموده است (۸). Fallon و همکاران (۱۹۸۷) نیز مقدار ایمونوگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد را در نیمه اول سال کمتر از نیمه دوم سال یافته است (۵).

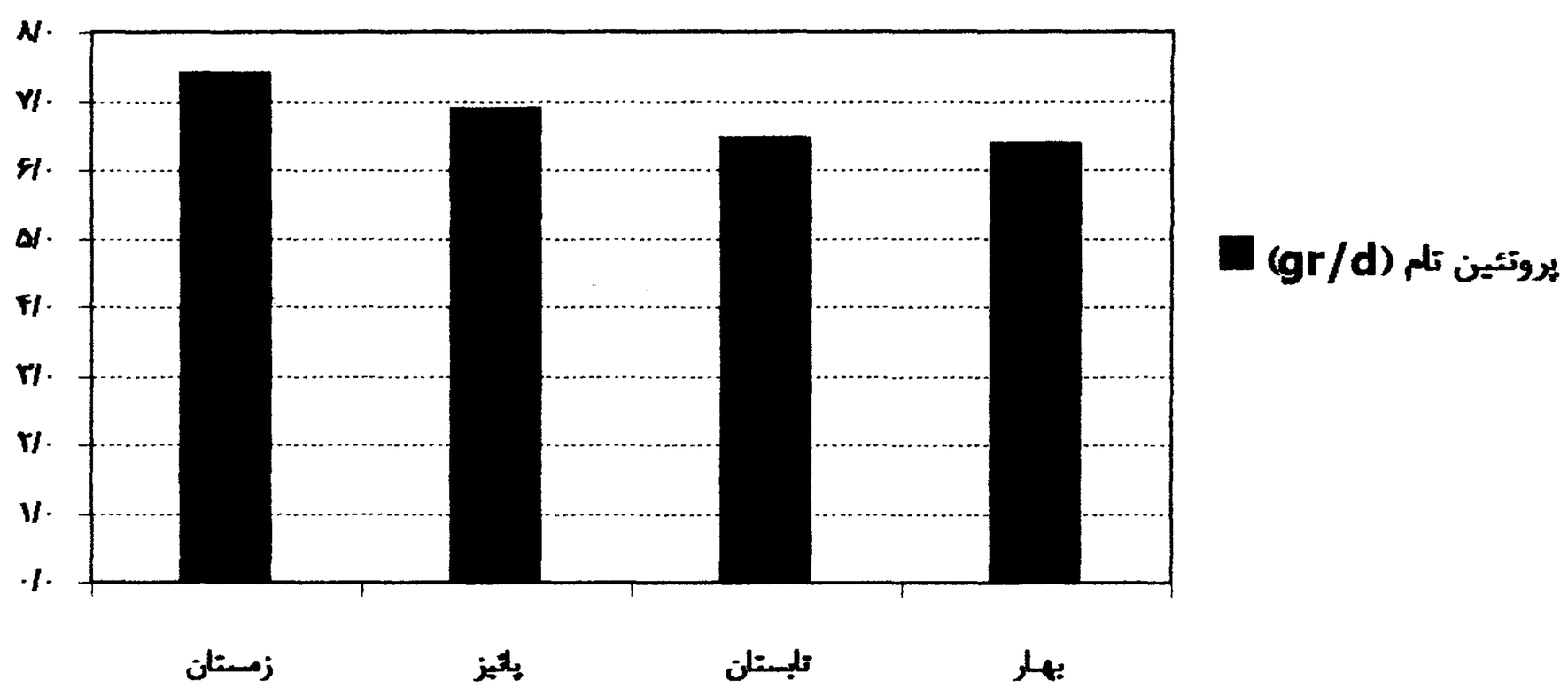
طریقی که به وسیلهٔ آن محیط بر میزان پروتئین تام و ایمونوگلوبولین سرم



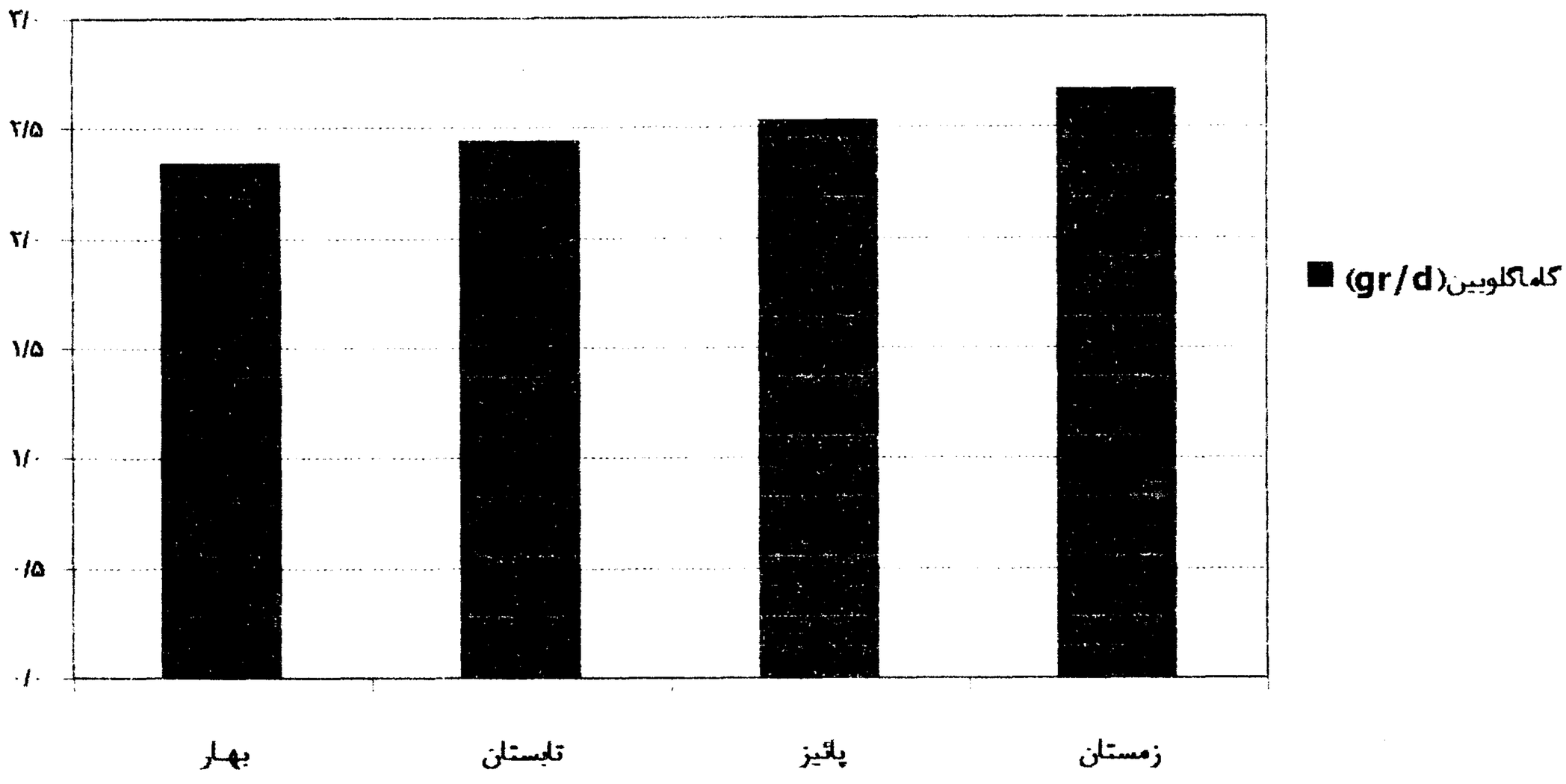
نمودار ۱ - میانگین مقادیر پروتئین تام سرم خون گوساله‌های نوزاد در ماههای مختلف سال



نمودار ۲ – میانگین مقادیر گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در ماههای مختلف سال



نمودار ۳ – میانگین مقادیر پروتئین تام سرم خون گوساله‌های نوزاد در فصول مختلف سال



نمودار ۴ - میانگین مقادیر گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد در فصول مختلف سال

خون گوساله‌های نوزاد مؤثر واقع می‌شود مشخص نیست اما نکته‌ای که قابل توجه می‌باشد این است که حتی با اعمال روش یکسان خوراندن آغوز و مدیریت مناسب و یکسان باز هم تغییرات فصلی مشاهده می‌گردد (۶).

Mohammed و همکاران (۱۹۹۱) ذکر می‌کند که در مناطقی که وضعیت آب و هوایی معتدل است جذب ایمونوگلوبولین‌ها به وسیله گوساله‌های نوزاد در ماههای تابستان بیشتر صورت می‌گیرد و در زمستان حداقل است (۸). Donovan و همکاران (۱۹۸۶) معتقد است که در مناطقی که حداقل میزان ایمونوگلوبولین در تابستان مشاهده می‌شود، گرما استرس عمده محیطی است؛ در صورتی که در مناطق سردسیر سرمای محیط این نقش را بر عهده دارد (۴). Stott و همکاران (۱۹۷۶) عنوان نمودند که ممکن است دمای محیط علاوه بر اثر مستقیم خود از طریق تأثیر بر فاکتورهای مدیریتی نیز مؤثر باشد. در طی ماههای گرم (و یا سرد) کارگران مسئول مراقبت و نگهداری از گوساله‌ها میل کمتری به کار خود نشان داده و در وظایف خود کوتاهی می‌نمایند (۱۱).

به هر حال در دامداری مورد مطالعه افراد مسئول مراقبت بخوبی انجام وظیفه می‌نمودند و با کنترلی که برعملکرد آنها صورت می‌گرفت می‌توان بیان نمود که نظر Stott و همکاران (۱۹۷۶) چندان درست به نظر نمی‌رسد. این امر تا حدی نشانگر این مسئله است که احتمالاً محیط با اثر بر میزان ایمونوگلوبولین سرم خون مادران آنها اعمال اثر می‌نمایند و با افزایش یا کاهش میزان ایمونوگلوبولین در خون آنها و پیرو آن در آغوز باعث تغییرات مشاهده شده در میزان پروتئین تام و گاماگلوبولین سرم خون گوساله‌های نوزاد می‌گردد، اثری که نحوه عمل آن بخوبی مشخص نیست.

تشکر وقدردانی

مؤلفین تشکر فراوان خود را از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه فردوسی مشهد جهت تأمین اعتبارات مورد نیاز این طرح و همین طور جناب آقای دکتر امامی‌دوست که آنالیز آماری این تحقیق را تقبل فرمودند اعلام می‌نمایند.

References

1 . Boyd, J.W. The relationship between serum immunoglobulin deficiency and disease in calves: a farm survey. Vet. Rec. 90(23), 645-649, (1972).

2 . Boyd, G.W., Baker, J.R., Leyland, A. Neonatal diarrhoea in calves. Vet. Rec. 95(14), 310-313, (1974).

3 . Caldow, G.L., White, D., Kelsey, M., Peters, A.R., Solly, K. J., Relationship of calf antibody status to disease and performace. Vet. Rec. (122), 63-65, (1988).

4 . Donovan, G.A., Badinga, L., Collier, R.J., Wilcox, G. J., Braun, R.K. Factor influencing passive transfer in dairy calves. J. Of Dairy Scie. 69(3), 754-759, (1986).

5 . Fallon, R.J., Harte, F.J. A survey of factors affecting calf blood serum immunoglobulin level. Irish. J. Of Agri. Res. 26(1), 1-7, (1987).

6 . Gay, C.C., mcguire, T.C., Steven, M.P. Seasonal variation in passive transfer of immunoglobulin g1 to newborn calves. J.A.V.M.A., 183(5), 566-568, (1983).

7 . Mcguire, T.C., Pfeiffer, N.E., Weikel , J.M., Bartsch, R.C., Failure of colostral Imnmunoglobulin transfer in calves dying from infectious disease. J.A.V.M.A., 169(7), 713-718, (1976).

8 . Mohammed, H.O., Shearer, J.K., Brenneman, J.S. Transfer of immunoglobulins and survival of newborn calves. Cornell Vet. (81), 173-182, (1991).

9 . Perino, L.J., Wittum, T.E., Ross, G.S. Effect of various risk factors on plasma protein and serum immunoglobulin concentrations of calve 6 postpartum hours to 24. Am. J. Vet. Res. 170(8), 809-811, (1995).

10 . Slanina, L., Vajda, V., Birzej, J. Turbidimetric determination of immunoglobulins in calves and their clinical significance. Veterinastvi 26(9), 392-394, (1976).

11 . Stott, G.H., Wiersma, F., Menefee, B.E., Radwanski, F.R., Influence of environment on passive immunity in calves. J. Dairy Scie. 59(7), 1306-1311, (1976).

12 . Williams, P.E.V., Wright, C.L., Day, N. Mortality in groups of purchased friesian-croos calves. Br. Vet. J., 136(6), 561-566, (1980).

Seasonal variation of serum total protein and gammaglobulin levels of neonatal calves in a dairy farm of Tehran suburb

Mohri M.[1], Poorkabir M.A.[2], Hassani Tabatabai A.M.[3], Mokhber Dezfuly M.R.[4]

[1]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad - Iran.* [2]*Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.* [3]*Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.* [4]*Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran - Iran.*

To evaluate of passive immunity in neonatal dairy calves, 296 samples were obtained during one year (November 1994 to October 1995) and amounts of total protein and gammaglobulin were determined. All calves were Holstein - Friesian and under 7 days old and received colostrum by nipple bottle. The effect ofmonth and season of birth were studied and following results were obtained: Total protein:6.79± 0.69 g/dl (Mean+ SE), Gammaglobulin. 2.5 ± 0.49 g/dl (Mean + SE). Significant differene was seen between month and season for serum total protein with highest level on February and winter and lowest on Aprill and spring ($P<0.05$). The difference between months of year for gammaglobulin levels was significant ($P<0.05$) with highest amount on March and lowest on July. The difference between seasons for gammaglobulin levels was not significant but highest values was seen on winter and lowest on spring.

Key words: Neonatal Calves, Failure of passive transfer, Total protein, Gammaglobulin, Season.