

اثر تغذیه با آغوز گرمادهی شده بر میزان جذب ایمونوگلوبولین G و پروتئین تام سرم در گوساله‌های شیری تازه متولد شده

مصطفی مؤذنی^۱، آریا رسولی^{۲*}، محمد نوری^۲، مسعود قربانپور^۳، نادر مصوری^۴

(۱) دانش آموخته بیماری‌های داخلی دام‌های بزرگ، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(۲) گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(۳) گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

(۴) موسسه تحقیقات واکسن و سرم‌سازی رازی کرج، کرج، ایران

(دریافت مقاله: ۲۴ مهر ماه ۱۳۹۵، پذیرش نهایی: ۱۶ بهمن ماه ۱۳۹۵)

چکیده

زمینه مطالعه: یکی از روش‌های کاهش یا حذف باکتری‌های بیماری‌زای آغوز، استفاده از روش گرمادهی است. هدف: این مطالعه به منظور بررسی اثر گرمادهی آغوز گاو بر انتقال ایمنی غیر فعال در گوساله‌های نوزاد انجام پذیرفت. **روش کار:** ابتدا با جمع آوری ۹۶ L آغوز دوشش اول از گاوهای هولشتاین چند شکم‌زا، یک بانک آغوز همگن تهیه شد، سپس ۲۴ رأس گوساله نوزاد قبل از دریافت آغوز در ۴ گروه درمانی مورد مطالعه قرار گرفتند. به گروه اول آغوز خام (ع‌رأس)، به گروه دوم آغوز گرمادهی شده در دمای ۶۰°C به مدت ۳۰ min (ع‌رأس)، به گروه سوم آغوز گرمادهی شده در دمای ۶۰°C به مدت ۶۰ min (ع‌رأس) و به گروه چهارم آغوز گرمادهی شده در دمای ۶۰°C به مدت ۹۰ min (ع‌رأس) خوراندند. گوساله‌ها در نوبت اول ۲ L و در نوبت دوم نیز ۲ L آغوز را به ترتیب ۲ و ۱۲ ساعت بعد از تولد به وسیله بطری پستانک‌دار دریافت نمودند. به منظور شمارش باکتریایی تام و تعیین غلظت IgG آغوز، قبل و بعد از گرمادهی از بانک آغوز نمونه برداری شد. جهت بررسی غلظت سرمی پروتئین تام و IgG در ساعت‌های صفر (قبل از خوردن آغوز)، ۶، ۲۴، ۴۸، ۷۲ (پس از خوردن آغوز) از گوساله‌ها خون‌گیری به عمل آمد. **نتایج:** غلظت پروتئین تام و IgG سرم در گروه‌های مختلف درمانی اختلاف معنی‌داری با یکدیگر نداشتند، اما توان ظاهری جذب IgG در ساعت ۶ در گوساله‌هایی که آغوز گرمادهی شده دریافت نموده بودند در مقایسه با گروهی که آغوز خام دریافت نموده بودند به طور معنی‌داری بیشتر بود. **نتیجه‌گیری نهایی:** گرمادهی مخزنی آغوز در سطح گاوداری و در دمای ۶۰°C تا ۹۰ min تأثیری بر غلظت سرمی IgG نداشت.

واژه‌های کلیدی: گرمادهی، آغوز، گوساله، ایمونوگلوبولین، پروتئین تام

مقدمه

شیر بوده که نتایج قابل قبولی نداشته است (۱۵، ۱۹). استفاده از روش پاستوریزاسیون مخزنی (دمای ۶۳°C به مدت ۳۰ min) افزایش خفیف و استفاده از روش پاستوریزاسیون جریان مداوم (دمای ۷۲°C به مدت ۱۵) افزایش شدید غلظت آغوز را به دنبال داشته و هر دو روش باعث از بین رفتن حدود یک سوم میزان ایمونوگلوبولین G آغوز و در نتیجه کاهش میزان ایمونوگلوبولین سرم گوساله‌ای که از آن آغوز پاستوریزه تغذیه شده، می‌شود (۱۲، ۱۵، ۱۹). نتایج تحقیقات اخیر نشان می‌دهد مشکل تخریب و کاهش غلظت ایمونوگلوبولین G و افزایش غلظت آغوز را می‌توان با روش پاستوریزاسیون مخزنی با دمای کمتر و زمان طولانی‌تر بر طرف نمود (۴، ۷، ۱۱، ۱۴). خوراندن آغوز گرمادهی شده در دمای ۶۰°C به گوساله تازه متولد شده نیز نه تنها تأثیری بر غلظت ایمونوگلوبولین G و پروتئین تام سرم ندارد بلکه باعث افزایش توان ظاهری جذب ایمونوگلوبولین G می‌شود (۴، ۷).

اخیراً در سطح برخی از گاوداری‌های ایران تمایل به خوراندن آغوز پاستوریزه به گوساله‌ها رواج یافته است و مشاهده شده است که برای این منظور اقدام به گرمادهی آغوز به روش‌های غیر استاندارد که در آن درجه حرارت و زمان تحت کنترل نمی‌باشد، می‌شود. بنابراین مطالعه حاضر بومی‌سازی تکنیک گرمادهی آغوز در گاوداری‌های ایران با استفاده از

گوساله به هنگام تولد فاقد ایمونوگلوبولین‌های مادری بوده و کاملاً به ایمونوگلوبولین‌های آغوز وابسته است (۱). هر چه میزان ایمونوگلوبولین‌های خون بعد از تولد سریع‌تر افزایش یابد حیوان بهتر می‌تواند با عوامل عفونی مقابله نماید (۲۱). مدیریت صحیح مصرف آغوز یکی از مهمترین فاکتورهای مدیریتی برای کاهش بیماری و افزایش سلامت گوساله می‌باشد (۱۰) و به کیفیت، کمیت و زمان مناسب اولین بار مصرف آغوز وابسته است (۳). آلوده نبودن آغوز به باکتری‌ها و غلظت ایمونوگلوبولین G، دو عامل تأثیر گذار بر کیفیت آغوز می‌باشند (۱۶). مطالعات نشان داده است که اگر گوساله‌ای آغوز با کیفیت نامناسب، حاوی غلظت ایمونوگلوبولین G کمتر از ۵۰ mg/mL و شمارش باکتریایی تام بیش از ۱۰۰۰۰۰ cfu/mL دریافت کند احتمال این که دچار اختلال در انتقال غیرفعال ایمنی گردد، افزایش می‌یابد (۱۶، ۱۷) که نتیجه آن افزایش خطر ابتلا به بیماری‌ها و مرگومیر، اثر منفی بر روی سلامت، شیردهی و طول عمر دام است (۲۰). یکی از روش‌های کاهش یا حذف باکتری‌های بیماری‌زای آغوز، استفاده از روش گرمادهی است (۱۴). تحقیقات اولیه در زمینه‌ی پاستوریزاسیون آغوز، بر اساس روش مرسوم و دمای استفاده شده برای پاستوریزاسیون



جدول ۱. غلظت ایمنوگلوبولین G (mg/mL) و شمارش باکتریایی تام (cfu/mL) آغوز خام یا پاستوریزه شده در دمای ۶۰°C به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه.

مدت زمان سپری شده از سیکل گرمادهی در دمای ۶۰°C بر حسب دقیقه				
۹۰	۶۰	۳۰	آغوز خام	
۴۶/۴	۵۲/۶	۵۶/۱	۵۸	ایمنوگلوبولین G
<×۱۰ ^۲	۱۰ ^۲	۷۰×۱۰ ^۲	۷/۷×۱۰ ^۵	شمارش باکتریایی تام

خورانده شد. در زمان‌های صفر (قبل از خوراندن آغوز) و ساعات‌های ۶، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ پس از تولد ۵ mL خون از ورید وداج، در لوله‌های بدون ماده ضدانعقاد اخذ گردید. نمونه‌های خون با ۳۰۰۰ rpm به مدت ۱۰ min سانتریفیوژ شده و سرم‌های حاصله در میکروتیوب‌های شماره‌گذاری شده تا زمان آزمایش در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند. در نمونه‌های سرم میزان ایمنوگلوبولین G و پروتئین تام اندازه‌گیری شد و توان ظاهری جذب ایمنوگلوبولین G (AEA=Apparent Efficiency of Absorption) نیز محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان ایمنوگلوبولین G تام سرم و آغوز و پروتئین تام سرم: جهت سنجش غلظت ایمنوگلوبولین G تام آغوز و سرم از کیت تجاری الایزا (Bio-X، بلژیک) و برای اندازه‌گیری میزان پروتئین تام سرم از کیت تشخیص کمی شرکت پارس آزمون بر اساس روش فتومتریک بر طبق روش بیوره استفاده شد. توان ظاهری جذب با اطلاع از میزان ایمنوگلوبولین G سرم بر حسب g/L، حجم سرم بر حسب L (حجم سرم به L = ۰/۰۸۹ × وزن گوساله در زمان تولد بر حسب Kg) و میزان ایمنوگلوبولین G آغوز بر حسب g/L و بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید (۱۸).

$$AEA \% = \left[\frac{\text{حجم آغوز به L (غلظت IgG آغوز)}}{\text{حجم سرم به L (غلظت IgG سرم)}} \right] \times 100$$

به منظور ارزیابی شمارش تام باکتری‌های مزوفیل از روش معمول کشت استفاده گردید. برای این کار پس از ذوب نمودن نمونه‌های آغوز منجمد، تمامی نمونه‌ها با نسبت ۱:۱۰ رقیق‌سازی شد و برای نمونه‌های گرمادهی نشده ۴ رقت و سایر نمونه‌ها ۳ رقت متوالی لگاریتمی تهیه شد. سپس از ۳ رقت آخر (رقت‌های ۱۰^{-۲} به بعد) از هر رقت در ۳ پلیت محیط کشت آگار مغذی کشت داده شد و پلیت‌ها به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در ۳۷°C انکوبه گردیدند و سپس با دستگاه پرگنه‌شمار پرگنه‌های رشد کرده شمارش شد و تعداد باکتریایی تام بر حسب cfu/mL (تعداد واحد تشکیل‌دهنده پرگنه در میلی‌لیتر) محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج با نرم افزار SAS (نسخه ۹/۱) مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. به منظور تحلیل اثر پاستوریزاسیون آغوز بر شمارش باکتریایی تام و ایمنوگلوبولین G آغوز و مقایسه توان ظاهری جذب ایمنوگلوبولین G در سرم گوساله‌های موجود در گروه‌های مختلف روش مدل خطی تعمیم یافته (GLM Procedure) آنالیز واریانس (ANOVA) و آزمون توکی (Tukey's multiple rang test) مورد

دستگاه تولید داخل را مورد بررسی قرار داد تا چالش‌های احتمالی موجود مورد تجزیه و تحلیل قرار گیرد. در این مطالعه اثر پاستوریزاسیون آغوز در دمای ۶۰°C در زمان‌های ۳۰، ۶۰ و ۹۰ بر شاخص‌های انتقال ایمنی غیرفعال (ایمنوگلوبولین G و پروتئین تام سرم) و توان ظاهری جذب ایمنوگلوبولین G بررسی شد.

مواد و روش کار

جمع‌آوری و گرمادهی آغوز: به منظور انجام این مطالعه ۹۶ L آغوز دوشش اول با غلظت ایمنوگلوبولین G بالاتر از ۵۰ mg/mL (ارزیابی شده توسط کلسترومتر) مربوط به ۲۶ گاو نژاد هلشتاین چند شکم‌زا، ظرف ۱h پس از زایمان جمع‌آوری و یک بانک آغوز همگن ایجاد گردید. برای این کار، ابتدا اقدام به جمع‌آوری آغوز و نگهداری در دمای ۲۰°C- شد تا حجم مورد نظر (۹۶ L) فراهم شود. سپس آغوز‌های منجمد در آب گرم ۳۷°C ذوب و با هم مخلوط شد تا ۹۶ L آغوز همگن (یکسان از نظر غلظت و میزان ایمنوگلوبولین G) ایجاد شود. پس از ایجاد بانک آغوز، ۲۴ L از آغوز‌های همگن شده بدون گرمادهی، ۲۴ L به مدت ۳۰ min در دمای ۶۰°C، ۲۴ L به مدت ۶۰ min در دمای ۶۰°C و ۲۴ L به مدت ۹۰ min در دمای ۶۰°C با استفاده از دستگاه پاستوریزاسیون مخزنی (شرکت شیر ماک و شرکت زوفا پرنیان پارس - ایران) گرمادهی شدند. در هر مورد در زمان‌های قبل و پس از گرمادهی به منظور بررسی غلظت ایمنوگلوبولین G و شمارش باکتریایی تام از مخزن آغوز نمونه‌گیری انجام شد. پس از پاستوریزاسیون، کلیه آغوز‌ها در بسته‌های ۲ لیتری تقسیم و پس از ثبت مشخصات تا زمان آزمایش در دمای ۲۰°C- ذخیره شدند.

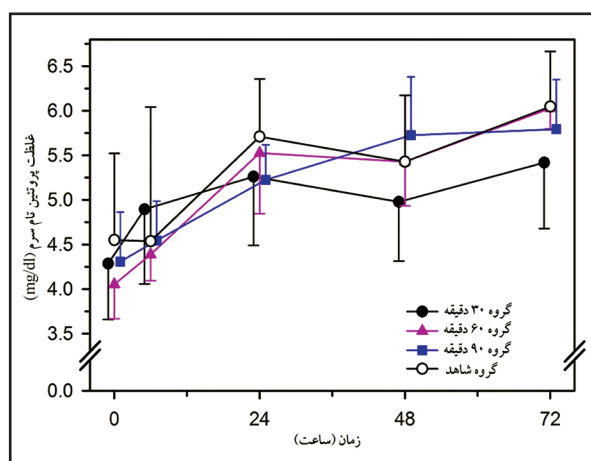
انتخاب گوساله و نمونه‌گیری: در این مطالعه از ۲۴ گوساله‌ی نر نژاد هلشتاین مربوط به مادرانی که در زمان زایمان آسان‌زایی داشتند و گوساله‌های آن‌ها دارای سلامت کامل بودند، استفاده شد. تمامی گوساله‌ها بلافاصله پس از تولد از مادران خود جدا شده و پس از ضد عفونی بند ناف، وزن‌کشی گردیدند. محدوده‌ی وزنی گوساله‌های مورد مطالعه ۴۵-۵۲ kg بود. گوساله‌ها تا سه روز در باکس‌های انفرادی آغوز‌خانه نگهداری شدند و در این سه روز با آغوز تغذیه گردیدند. گوساله‌ها در روز اول بر اساس گروه‌بندی ذیل و در روزهای دوم و سوم آغوز دوشش دوم و سوم را توسط بطری پستانک‌دار دریافت نمودند. گروه اول (شاهد)، شامل ۶ رأس گوساله که آغوز خام (غیر پاستوریزه) دریافت نمودند. گروه دوم (۶ رأس) آغوز پاستوریزه شده به مدت ۳۰ min در دمای ۶۰°C دریافت نمودند. گروه سوم، (۶ رأس) آغوز پاستوریزه شده به مدت ۶۰ min در دمای ۶۰°C دریافت نمودند و گروه چهارم (۶ رأس) آغوز پاستوریزه شده به مدت ۹۰ min در دمای ۶۰°C دریافت نمودند.

در تمام گروه‌ها، به هر گوساله در زمان‌های ۲ و ۱۲ ساعت بعد از تولد ۲ L و در کل ۴ L آغوز گرم شده در آب ۳۷°C توسط بطری پستانک‌دار

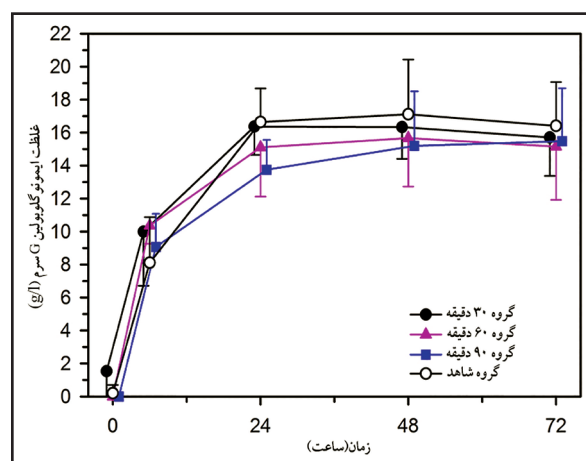


جدول ۲. توان ظاهری جذب IgG (AEA) در گوساله‌های تغذیه شده با آغوز خام یا پاستوریزه (۶۰°C به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه) و ۲۴ ساعت پس از تولد (%). حروف کوچک نامشابه در هر ستون نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار است.

۲۴ ساعت پس از تولد	۶ ساعت پس از تولد	
^a (۲۴/۸۶ - ۳۶/۷۵) ۳۰/۵۷± ۴/۲۷	^a (۱۸/۶۳ - ۴۴/۲۲) ۳۰/۱۴±۱۱/۲۱	گروه کنترل
^a (۲۵/۹۱ - ۳۵/۱۱) ۳۱/۳± ۳/۳۷	^b (۱۹/۷۹ - ۵۷/۳۶) ۳۷/۱± ۱۰/۶	گروه ۳۰ دقیقه
^a (۲۵/۷۴ - ۳۹/۹۴) ۳۰/۸± ۵/۴۵	^b (۳۸/۸ - ۴۶/۸۳) ۴۲/۵± ۳/۶۱	گروه ۶۰ دقیقه
^a (۲۳/۷۷ - ۳۴/۹۱) ۳۱/۴۶±۳/۹۵	^b (۳۷/۱۵ - ۵۴/۵۶) ۴۷/۲۷± ۷/۹۷	گروه ۹۰ دقیقه



نمودار ۲. غلظت سرمی پروتئین تام گوساله‌های نوزاد تغذیه شده با آغوز خام یا پاستوریزه (۶۰°C به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه).



نمودار ۱. غلظت سرمی IgG گوساله‌های نوزاد تغذیه شده با آغوز خام یا پاستوریزه (۶۰°C به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه).

کنترل و گروه‌های مختلف درمانی از نظر غلظت سرمی IgG و پروتئین تام اختلاف معنی داری وجود ندارد ($p > 0.05$). به عبارت دیگر استفاده از آغوز پاستوریزه شده در دمای ۶۰°C تا ۹۰ min تأثیری بر سطح IgG سرم گوساله‌ها نداشت.

محاسبه توان ظاهری جذب ۶h پس از تولد نشان داد که درصد توان ظاهری جذب IgG (AEA) در گوساله‌های دریافت کننده آغوز پاستوریزه شده به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه به ترتیب ۳۷/۱۵، ۴۲/۵۵ و ۴۱/۲۷٪ است که به طور معنی داری ($p < 0.05$) بیشتر از گروه شاهد (۳۰/۱۴٪) می‌باشد. درصد توان ظاهری جذب IgG در ۲۴ ساعت پس از تولد در گوساله‌های دریافت کننده آغوز پاستوریزه با گوساله‌های دریافت کننده آغوز خام تفاوت معنی داری نداشت ($p > 0.05$) (جدول ۲).

بحث

آغوز تازه‌ای که به گوساله خورنده می‌شود در شرایط استاندارد باید شمارش باکتریایی تام کمتر از ۱۰۰۰۰۰ cfu/mL و شمارش کلی فرمی تام کمتر از ۱۰۰۰۰ cfu/mL باشد (۹). متأسفانه میانگین شمارش باکتریایی در آغوز مورد استفاده گوساله‌ها در گاوداری‌های صنعتی اغلب خیلی بیشتر از این حد استاندارد می‌باشد. در مطالعه‌ای ۴۳٪ از نمونه‌های آغوز جمع‌آوری شده از دامپروری‌های ایالات متحده دارای شمارش باکتریایی تام بیش از محدوده‌ی نرمال بودند (۱۶). آغوز خام مورد استفاده

استفاده قرار گرفت و جهت مقایسه میزان پروتئین تام و ایمونوگلوبولین G سرم ۲۴ گوساله‌ی موجود در ۴ گروه درمانی در زمان‌های مختلف و بررسی اثر متقابل زمان نمونه‌گیری بر گروه‌های درمانی از روش رگرسیون ساده خطی (PROC MIXED) استفاده شد. در تمامی موارد مقادیر p کمتر از ۰/۰۵ معنی دار تلقی گردید.

نتایج

شمارش باکتریایی تام آغوز قبل و بعد از گرمادهی در حرارت ۶۰°C در مدت زمان ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه در جدول ۱ آورده شده است. همان طور که ملاحظه می‌شود، شمارش باکتریایی تام از ۷۷۰۰۰۰ cfu/mL در آغوز خام، پس از ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه گرمادهی به ترتیب به ۱۰۵۰۰ cfu/mL، ۱۰۰۰۰ و کمتر از ۱۰۰۰ cfu/mL کاهش پیدا کرده است.

جدول ۱ غلظت IgG آغوز خام (۵۸ cfu/mL) و آغوز گرمادهی شده به مدت ۳۰ min (۵۶/۸ cfu/mL)، ۶۰ min (۵۲/۶ cfu/mL) و ۹۰ min (۴۶/۴ cfu/mL) را نشان می‌دهد. پاستوریزاسیون آغوز در دمای ۶۰°C به مدت ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه به ترتیب باعث کاهش IgG آغوز به میزان ۱/۹، ۵/۴ و ۱۱/۶ شده است.

نمودارهای ۱ و ۲ غلظت IgG و پروتئین تام سرم گوساله‌های دریافت کننده آغوز خام و آغوز پاستوریزه شده در دمای ۶۰°C در زمان‌های متفاوت (۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه) را نشان می‌دهد. بررسی آماری نشان داد که بین گروه



در دستگاه پاستوریزاسیون آغوز باشد. برای مثال نوسان دمایی در مطالعه Donahue و همکاران در سال ۲۰۱۲ حداکثر 0.54°C بود در حالی که در مطالعه حاضر نوسان حرارتی تا 1.9°C وجود داشت که سبب کاهش قابل توجه میزان IgG آغوز در زمان ۹۰ min شده است.

در مطالعه حاضر خوراندن آغوز پاستوریزه شده در دمای 60°C تا ۹۰ min به گوساله‌های نوزاد سبب کاهش غلظت IgG سرم در مقایسه با گوساله‌های دریافت کننده آغوز خام نگردید. مقایسه غلظت IgG سرم در گوساله‌های دریافت کننده آغوز گرمادهی شده (60°C تا ۹۰ min) و گوساله‌های دریافت کننده آغوز خام نشان داد که علی‌رغم اینکه به گوساله‌های هر دو گروه حجم یکسانی از یک نوع آغوز در مدت زمان مشابهی پس از تولد و به یک روش خوراندن شد، غلظت IgG سرم تفاوت معنی داری نداشت. به عبارت دیگر استفاده از آغوز پاستوریزه شده سبب نقصان در انتقال ایمنی غیرفعال نگردید. در این رابطه برخی از مطالعات اشاره به بهبود جذب ایمونوگلوبولین‌ها پس از پاستوریزاسیون آغوز می‌نمایند، به طوری که افزایش غلظت IgG سرم گوساله‌های دریافت کننده آغوز پاستوریزه در مقایسه با گوساله‌های دریافت کننده آغوز خام را گزارش کرده‌اند (۴،۵،۷). محققین معتقدند که گوساله‌های دریافت کننده آغوز پاستوریزه قادر به جذب نسبت بیشتری از کل IgG موجود در روده کوچک می‌باشند (۴،۵،۷). این نظریه توسط این واقعیت که گوساله‌های تغذیه شده با آغوز پاستوریزه به طور معنی داری توان ظاهری جذب (AEA) بیشتری داشتند، تأیید می‌شود (۷). در این رابطه هم اکنون چنین فرض می‌شود که آنتی‌بادی‌های آغوز قبل از جذب شدن، به پاتوژن‌های موجود در روده متصل می‌شوند (۷). در آغوز پاستوریزه شده با کاهش تعداد پاتوژن‌ها و به دنبال آن کاهش تعداد پاتوژن‌ها در روده، آنتی‌بادی آزاد بیشتری برای جذب وجود دارد. دلیل دیگر افزایش توان ظاهری جذب IgG، فقدان تداخل باکتریایی با رسپتورهای است که وظیفه‌ی جذب ایمونوگلوبولین‌ها را دارا می‌باشند. باکتری‌ها می‌توانند به رسپتورهای غیراختصاصی موجود بر روی آنتروسیست‌های نوزادان متصل شوند، در نتیجه تعداد رسپتورهای قابل دسترس برای جذب ایمونوگلوبولین‌ها کاهش می‌یابد (۷). در مطالعه حاضر نیز درصد توان ظاهری جذب ایمونوگلوبولین G، ۶ h پس از تولد در گوساله‌های دریافت کننده آغوز گرمادهی شده (گروه ۳۰ min، ۳۷/۱۵٪؛ گروه ۶۰ min، ۴۲/۵۵٪؛ گروه ۹۰ min، ۴۱/۲۷٪) به طور معنی داری ($p < 0.01$) بیشتر از گروه شاهد (۳۰/۱۴٪) بود که با یافته‌های سایر مطالعات مطابقت دارد (۴،۷)، ولی بی‌شابهت به مطالعات فوق، در این مطالعه میزان توان ظاهری جذب در ساعت ۲۴ پس از تولد تفاوت معنی داری را نشان نداد که علت آن را می‌توان به درصد جذب بالاتر ایمونوگلوبولین G در ساعات اولیه پس از تولد و تفاوت موجود در نوع مصرف آغوز در این مطالعه با سایر مطالعات دانست. در مطالعات دیگر تمامی آغوز دریافتی در ۲ h اول به گوساله خوراندن می‌شد (۴،۷)، در حالیکه در این مطالعه گوساله‌ها در

در مطالعه کنونی دارای شمارش باکتریایی تام 770000 cfu/mL بود که پس از ۳۰، ۶۰ و ۹۰ دقیقه حرارت در دمای 60°C به ترتیب به 10500 ، 1000 و کمتر از 100 cfu/mL کاهش یافت، یعنی هر ۳۰ حرارت شمارش باکتریایی تام را حدود یک log کاهش داده است. تحقیقات اخیر نشان داده‌اند که استفاده از درجه حرارت پایین‌تر و مدت زمان بیشتر (60°C به مدت ۶۰ min) در پاستوریزاسیون مخزنی آغوز جهت حفظ فعالیت IgG و قوام آغوز کافی است، ضمن اینکه پاتوژن‌های مهم را حذف کرده یا به میزان قابل توجهی کاهش می‌دهد (۱۱،۱۴). Godden و همکاران در سال ۲۰۰۶ مخازن ۳۰ لیتری آغوز دوش اول گاو را با مایکوپلاسما بویس، لیستریا مونوسیژنوز، شریشا کلی، سالمونلا انتریتیدیس و مایکوباکتریوم آویوم تحت گونه پاراتوبر کولوزیس (MAP) تلقیح و در دمای 60°C به مدت ۱۲۰ min حرارت دادند و هر ۱۵ min جهت کشت نمونه برداری کردند (۱۱). کلیه پاتوژن‌ها به استثنای MAP پس از ۳۰ min و MAP پس از ۶۰ min به سطح غیر قابل تشخیص کاهش یافتند (۱۱). Johnson و همکاران در سال ۲۰۰۷ با حرارت دادن آغوز در دمای 60°C به مدت ۶۰ min شمارش باکتریایی تام و شمارش کلی فرمی تام را گزارش کردند (۷). بنابراین مطابق با یافته‌های سایر مطالعات می‌توان گرمادهی در دمای 60°C به مدت ۳۰ min را برای کاهش بار باکتریایی موجود در آغوز استفاده نمود (۲،۸،۱۰،۱۳).

در مطالعه حاضر کاهش میزان IgG آغوز پس از گرمادهی به مدت ۳۰ و ۶۰ دقیقه جزئی و پس از گذشت ۹۰ min چشمگیر بود. تحقیقات اولیه در خصوص پاستوریزاسیون آغوز با استفاده از درجه حرارت و مدت زمان مرسوم برای پاستوریزاسیون شیر انجام شد که با نتایج قابل قبولی از حفظ غلظت IgG همراه نبود. برای مثال زمانی که آغوز را در دمای 72°C به مدت ۱۵ s و 63°C به مدت ۳۰ min حرارت دادند به ترتیب کاهش ۲۵٪ و ۱۲/۳٪ در میزان IgG آغوز مشاهده نمودند (۱۵،۱۹). به دلیل مشکلات موجود در پاستوریزاسیون آغوز به روش مشابه با شیر، مطالعات بعدی با استفاده از درجه حرارت پایین‌تر انجام شد. Godden و همکاران و McMartin و همکاران در سال ۲۰۰۶ با پاستوریزاسیون آغوز در دمای 60°C به مدت ۱۲۰ min هیچگونه تغییری در غلظت IgG آغوز مشاهده نکردند. در مطالعات دیگری نیز نشان داده شد پاستوریزاسیون آغوز در دمای 60°C در مدت زمان ۳۰ min و ۶۰ min هیچ تغییر معنی داری در غلظت IgG آغوز ایجاد نمی‌کند (۴،۷). برخی مطالعات نیز با نتایج متفاوتی همراه بوده‌اند. Elizondo-Salazar و همکاران در سال ۲۰۱۰ نشان دادند که گرمادهی آغوز در دمای 60°C به مدت ۳۰ min سبب تخریب IgG۱ شد. با این وجود میزان IgG۲ دچار نقصان نگردید (۶). همچنین Gelsing و همکاران در سال ۲۰۱۴ کاهش معنی دار غلظت IgG آغوز پس از پاستوریزاسیون در دمای 60°C به مدت ۳۰ min را گزارش نمودند (۸). ممکن است دلیل وجود اختلاف در نتایج مطالعات مختلف نوسان حرارتی



References

1. Bush, L.J., Staley, T.E. (1980) Absorption of colostral immunoglobulins in newborn calves. *J Dairy Sci.* 63: 672-680.
2. Donahue, M., Godden, S.M., Bey, R., Wells, S., Oakes, J.M., Sreevatsan, S., Stabel, J., Fetrow, J. (2012) Heat treatment of colostrum on commercial dairy farms decreases colostrum microbial counts while maintaining colostrum immunoglobulin G concentrations. *J Dairy Sci.* 95: 2697-2702.
3. Elizondo-Salazar, J.A., Heinrichs, A.J. (2008) Heat treating bovine colostrum. *The professional animal scientist.* 24: 530-538.
4. Elizondo-Salazar, J.A., Heinrichs, A.J. (2009) Feeding heat-treated colostrum to neonatal dairy heifers: effects on growth characteristics and blood parameters. *J Dairy Sci.* 92: 3265-73.
5. Elizondo-Salazar, J.A., Heinrichs, A.J. (2009) Feeding heat-treated colostrum or unheated colostrum with two different bacterial concentrations to neonatal dairy calves. *J Dairy Sci.* 92: 4565-4571.
6. Elizondo-Salazar, J.A., Jayarao, B.M., Heinrichs, A.J. (2010) Effect of heat treatment of bovine colostrum on bacterial counts, viscosity, and immunoglobulin G concentration. *J Dairy Sci.* 93: 961-967.
7. Johnson, J.L., Godden, S.M., Molitor, T., Ames, T., Hagman, D. (2007) Effects of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of immune and nutritional parameters in neonatal dairy calves. *J Dairy Sci.* 90: 5189-5198.
8. Gelsinger, S.L., Gray, S.M., Jones, C.M., Heinrichs, A.J. (2014) Heat treatment of colostrum increases immunoglobulin G absorption efficiency in high-, medium-, and low-quality colostrums. *J Dairy Sci.* 97: 2355-2360.
9. Godden, S.M. (2008) Colostrum management for dairy calves. *Vet Clin Food Anim.* 24: 19-39.
10. Godden, S.M., Haines, D.M., Konkol, K., Peterson, J. (2009) Improving passive transfer of immunoglobulins in calves. II: Interaction between feeding method and volume of colostrums fed. *J Dairy Sci.* 92: 1758-1764.

زمان‌های ۲ و ۱۲ ساعت بعد از تولد آغوز را دریافت نمودند. نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد که گرمادهی مخزنی آغوز در سطح گاوداری در دمای 60°C تا 90°C تأثیری بر غلظت سرمی IgG ندارد و تداخلی در انتقال غیر فعال ایمنی ایجاد نمی‌نماید. بنابراین در صورتی که هدف از گرمادهی آغوز کاهش کلی بار باکتریایی آغوز باشد می‌توان گرمادهی را در مدت زمان کوتاه‌تر و در صورتی که هدف از بین بردن پاتوژن‌های مقاوم باشد می‌توان گرمادهی را در مدت زمان طولانی‌تر انجام داد.

تشکر و قدردانی

نویسندگان از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر حمایت مالی و از مدیریت و پرسنل محترم مجتمع کشت و دامپروری فکا که شرایط انجام این تحقیق را فراهم نمودند، صمیمانه سپاسگزاری می‌نمایند.

11. Godden, S., McMartin, S., Feirtag, J., Stabel, J., Bey, R., Goyal, S., Metzger, L., Fetrow, J., Wells, S., Chester-Jones, H. (2006) Heat treatment of bovine colostrums II. Effects of heating duration on pathogen viability and immunoglobulin G. *J Dairy Sci.* 89: 3476-3483.
12. Godden, S.M., Smith, S., Feirtag, J.M., Green, L.R., Wells, S.J., Fetrow, J.P. (2003) Effect of on-farm commercial batch pasteurization of colostrum on colostrum and serum immunoglobulin concentrations in dairy calves. *J Dairy Sci.* 86: 1503-1512.
13. Godden, S.M., Smolenski, D.J., Donahue, M., Oakes, J.M., Bey, R., Wells, S., Sreevatsan, S., Stabel, J., Fetrow, J. (2012) Heat-treated colostrum and reduced morbidity in preweaned dairy calves: Results of a randomized trial and examination of mechanisms of effectiveness. *J Dairy Sci.* 95: 4029-4040.
14. McMartin, S., Godden, S.M., Metzger, L., Feirtag, J., Bey, R., Stabel, J., Goyal, S., Fetrow, J., Wells, S., Chester-Jones, H. (2006) Heat treatment of bovine colostrums I. Effects of temperature on viscosity and immunoglobulin G level. *J Dairy Sci.* 89: 2110-2118.
15. Meylan, M., Rings, M.D., Shulaw, W.P., Kowalski, J.J., Bech Nielsen, S., Hoffsis, G.F. (1996) Survival of *Mycobacterium paratuberculosis* and



- preservation of immunoglobulin G in bovine colostrums under experimental conditions simulating pasteurization. *Am J Vet Res.* 57: 1580-1585.
16. Morrill, K.M., Conrad, E., Lago, A., Campbell, J., Quigley, J., Tyler, H. (2012) Nationwide evaluation of quality and composition of colostrums on dairy farms in the United States. *J Dairy Sci.* 95: 3997-4005.
 17. Priestley, D., Bittar, J.H., Ibarbia, L., Risco, C.A., Galvão, K.N. (2013) Effect of feeding maternal colostrum or plasma-derived or colostrum-derived colostrum replacer on passive transfer. *J Dairy Sci.* 96: 3247-3256.
 18. Quigley, J. D., Lago, A., Chapman, C., Erickson, P., Polo, J. (2013) Evaluation of the Brixrefractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrums. *J Dairy Sci.* 96: 1148-1155.
 19. Stabel, J.R., Hurd, S., Calvente, L., Rosenbusch, R.F. (2004) Destruction of *Mycobacterium paratuberculosis*, *Salmonella* spp., and *Mycoplasma* spp. in raw milk by a commercial on-farm high-temperature, short-time pasteurizer. *J Dairy Sci.* 87: 2177-2183.
 20. Swan, H., Godden, S., Bey, R., Wells, S., Fetrow, J., Chester-Jones, H. (2007) Passive transfer of immunoglobulin G and preweaning health in holstein calves fed a commercial colostrum replacer. *J Dairy Sci.* 90: 3857-3866.
 21. Weaver, D.M., Tyler, J.W., Vanmetre, D.C., Hostetler, D.E., Barrington, G.M. (2009) Passive transfer of colostrum immunoglobulins in calves. *J Vet Internal Med.* 14: 569-577.



Effect of feeding heat treated colostrum on absorption of immunoglobulin G and serum total protein in neonatal dairy calves

Moazeni, M.¹, Rasooli, A.^{2*}, Nouri, M.², Ghorbanpoor, M.³, Mosavari, N.⁴

¹Post Graduate Student, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

²Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

³Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran

⁴PPD Tuberculin Department, Razi Vaccine & Serum Research Institute, Karaj, Iran

(Received 15 October 2016, Accepted 4 February 2017)

Abstract:

BACKGROUND: Heat treatment of colostrum has been suggested as a control measure to eliminate or reduce the transfer of colostrum-borne pathogens to dairy calves. **OBJECTIVES:** The aims of this study were to determine the effects of on-farm heat treatment of bovine colostrum on colostral bacterial counts and IgG concentration and evaluation of passive transfer of immunity in neonatal dairy calves. **METHODS:** Ninety-six L of first milking colostrum was collected from Holstein cows and pooled to create a uniform batch. Twenty-four calves were enrolled in 4 treatment groups before suckling occurred and fed raw colostrum (n=6), heat-treated colostrum at 60 °C for 30 min (n=6), heat-treated colostrum at 60 °C for 60 min (n=6) and heat-treated colostrum at 60 °C for 90 min (n=6). Colostrum samples were collected before and after heat treatment and cultured for total bacterial count and analyzed for total IgG concentration. For the first and second feeding 2 L of colostrum was bottle fed by 2 and 12 h of age respectively. Serum samples were collected from calves at 0 h (precolostrum) and 6, 24, 48, 72 h (postcolostrum) and analyzed for serum total protein and IgG concentrations. **RESULTS:** Heat treatment of colostrum at 60 °C for 30 and 60 min reduced total bacterial count, yet maintained colostrum IgG concentration compared to the control. There was no difference between treatment groups when examining serum total protein and IgG concentrations, but apparent efficiency of IgG absorption was significantly greater at 6 h in calves that were fed heat-treated colostrum compared to calves fed raw colostrum. **CONCLUSIONS:** There was no effect of on-farm batch heat treatment of colostrum at 60 °C till 90 min on serum concentration of IgG.

Keyword: colostrum, heat treatment, immunoglobulin G, total protein, calves

Figure Legends and Table Captions

Table 1. IgG concentration and total bacterial count of unheated or heat treated (60 °C for 30, 60 or 90 min) colostrum.

Table 2. Apparent efficiency of absorption (AEA) of IgG in calves fed unheated or heat treated (60 °C for 30, 60 or 90 min) colostrum 6 and 24 h after birth (%).

Graph 1. Serum IgG concentration in neonatal calves fed unheated or heat treated (60 °C for 30, 60 or 90 min) colostrum.

Graph 2. Serum total protein concentration in neonatal calves fed unheated or heat treated (60 °C for 30, 60 or 90 min) colostrum.



*Corresponding author's email: a.rasooli@scu.ac.ir, Tel: 061-33738342, Fax: 061-33360807

J. Vet. Res. 72, 2, 2017