

## ارتباط بین تعداد سلول‌های سوماتیک و میزان آلودگی به ویروس اسهال و ویروسی گاوی در مخزن شیر گله‌های شیری شهرستان سمنان

جواد شفائی‌نوده<sup>۱</sup>، رضا نارنجی‌ثانی<sup>۲\*</sup>، حمید استاجی<sup>۳</sup>، اشکان جبلی‌جوان<sup>۴</sup> و حسن هاشم‌زاده<sup>۵</sup>

تاریخ دریافت: ۹۷/۴/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۸/۲/۲

### چکیده

بیماری اسهال ویروسی گاو یکی از عوامل ویروسی ایجاد ورم پستان در گاو و بروز خسارات اقتصادی در گله می‌باشد. این ویروس با آسیب به سرپستانک، مجاری پاپیلاری و سرکوب سیستم ایمنی می‌تواند سبب حساسیت بیشتر برای ابتلا به موارد ورم پستان باکتریایی شود. هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط بین تعداد سلول‌های سوماتیک و میزان آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاوی در مخزن شیر گله‌های شیری شهرستان سمنان می‌باشد. برای انجام این مطالعه از مخزن ذخیره‌ی شیر ۴۰ گله گاو شیری هلشتاین در شهرستان سمنان نمونه‌برداری صورت گرفت. جهت تأیید وجود ویروس اسهال ویروسی گاو در منبع ذخیره‌ی شیر از روش الایزا استفاده گردید. همچنین جهت شمارش سلول‌های سوماتیک شیر از دستگاه دلاوال و برای اندازه‌گیری درصد چربی و پروتئین به ترتیب از روش‌های ژرب و تیتراسیون فرمل استفاده گردید. تعداد سلول‌های سوماتیک مخزن ذخیره‌ی شیر در گله‌های اسهال ویروسی گاو منفی ( $10^3 \times 96 \pm 57$ ) و اسهال ویروسی گاو مثبت ( $10^2 \times 17 \pm 79$ ) اختلاف معنی‌داری نداشتند. همچنین درصد پروتئین، چربی و تعداد کل باکتری شیر در گله‌های مثبت و منفی اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که در منطقه‌ی مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین تیتراژ آنتی‌بادی بیماری اسهال ویروسی گاو در مخزن شیر گله‌ها و تعداد سلول‌های سوماتیک مخزن ذخیره‌ی شیر و کیفیت آن وجود ندارد.

**کلمات کلیدی:** اسهال ویروسی گاوی، سلول‌های سوماتیک، چربی شیر، پروتئین شیر

### مقدمه

در کنار عوامل باکتریایی که مهم‌ترین دلیل ورم پستان در گاو به شمار می‌روند ویروس‌ها نیز می‌توانند در ایجاد ورم پستان حائز اهمیت باشند (Hillerton and Berry 2005). از ویروس‌هایی که احتمال می‌رود به صورت غیر-مستقیم با ورم پستان در گاو شیری در ارتباط باشد، ویروس اسهال ویروسی گاو (BVDV) است (Wellenberg et al. 2002). این ویروس یک فاکتور مهم در بیماری‌های چند علیتی است. آسیب سرپستانک و مجاری پاپیلار (به عنوان سد طبیعی) و سرکوب ایمنی ایجاد شده توسط این ویروس

ورم پستان به معنی التهاب بافت پستان به علل مختلف است، که مهم‌ترین و محتمل‌ترین آن ورود میکروارگانیسم-ها از نوک پستان به داخل بافت پستان می‌باشد (Fadlelmoula et al. 2007). ورم پستان در گاو یکی از مهم‌ترین بیماری‌های تولیدی است که از نظر اقتصادی بر صنعت پرورش گاو شیری تأثیر زیادی می‌گذارد. این بیماری توسط تغییرات فیزیکی، شیمیایی و معمولاً باکتریایی شیر مشخص شده و در بافت غده‌ای پستان ایجاد آسیب می‌کند (Sharma et al. 2011).

<sup>۱</sup> دانشجوی دکتری عمومی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

<sup>۲\*</sup> استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

<sup>۳</sup> استادیار گروه پاتوبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

<sup>۴</sup> دانشیار گروه بهداشت مواد غذایی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه سمنان، سمنان، ایران

<sup>۵</sup> کارشناس اداره کل دامپزشکی استان سمنان، سمنان، ایران

rezasani\_vet@semnan.ac.ir (نویسنده‌ی مسئول)

گوساله‌ها می‌تواند موجب تضعیف سیستم ایمنی و در نتیجه افزایش احتمال ابتلا به دیگر عفونت‌ها گردد، هر چند این شواهد بحث برانگیز می‌باشند (Jolanta et al. 2014, Talebkhan et al. 2011). از نظر تئوری نیز ممکن است افزایش خطر ابتلا به ورم پستان را به همراه داشته باشد. در صورت افزایش ابتلا به ورم پستان در درگیری‌های اسهال ویروس گاو در سطح گله، تمام تغییرات شیر در بیماری ورم پستان از جمله تغییر در چربی و پروتئین قابل انتظار می‌باشد.

یکی از شاخص‌های ارزیابی بهداشت و کیفیت شیر، شمارش تعداد سلول‌های سوماتیک شیر خام است. بخش عمده‌ای از آن را گلبول‌های سفید خون تشکیل داده و تعداد آن در حالت التهاب و بیماری افزایش چشم‌گیری می‌یابد. سلول‌های سوماتیک در شیر، شاخص ارزیابی سلامت غدد پستانی و کیفیت شیر به شمار می‌رود. کیفیت شیر تحت تأثیر عوامل محیطی و خصوصیات دام قرار می‌گیرد لذا حفظ کیفیت شیر خام به منظور حفظ جایگاه رقابتی در بازار فروش امری مهم به شمار می‌رود.

بنابراین هدف از انجام این مطالعه بررسی ارتباط بین تعداد سلول‌های سوماتیک و میزان آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاوی در مخزن شیر گله‌های شیری شهرستان سمنان می‌باشد.

### مواد و روش کار

تمام گاوداری‌های با تعداد بیش از ۱۰ رأس گاو با تعداد بین ۱۰ تا ۵۱ دام شیری و در مجموع ۷۲۳ دام شیری و ۱۵۲۳ گاو، که در منطقه‌ی سمنان قرار دارند برای انجام این طرح انتخاب گردیدند که در مجموع شامل ۴۰ فارم بودند. گاوها از نژاد هلستاین بودند. در طول مطالعه بر اساس گزارش مالکان دامداری، از تماس و مجاورت گاوهای خریداری شده جدید با گاوهای مورد بررسی جلوگیری گردید.

می‌تواند به حساسیت بیش‌تر برای موارد ورم پستان باکتریایی منجر گردند و عفونت‌های باکتریایی می‌توانند روند شدیدتری به خود بگیرند. در گاوهای آلوده به ویروس BVD می‌توان افزایش در تعداد سلول‌های سوماتیک شیر را انتظار داشت که نشان دهنده‌ی احتمال افزایش حساسیت به عفونت‌های پستانی به دلیل سرکوب سیستم ایمنی توسط ویروس BVD می‌باشد. چرا که در عفونت حاد با ویروس BVD تغییرات واضحی در عملکرد سیستم ایمنی رخ می‌دهد. همه‌ی انواع سلول‌های ایمنی به وسیله‌ی ویروس BVD عفونی می‌شوند و عملکردشان تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Jolanta et al. 2014, Talebkhan et al. 2011, et al. 2008).

ویروس BVD، عامل عفونت چند ارگانی در میزبان بوده، که البته با مشکلات سلامت پستان در گله‌های شیری نیز بی‌ارتباط نمی‌باشد (Berends et al. 2008). عفونت‌های ناشی از ویروس BVD در بسیاری از کشورها اتفاق افتاده و موجب ضررهای اقتصادی هنگفتی شده است، که عمدتاً ناشی از کاهش شیر، کاهش کارایی تولید مثلی گله، تأخیر در رشد، افزایش حساسیت به سایر بیماری‌ها از جمله ورم پستان، کتوز و جفت ماندگی و مرگ و میر بالا در میان گوساله‌ها بوده است (Houe 1999). ویروس BVD توانایی القای ضعف سیستم ایمنی به وسیله‌ی ایجاد نقص در پاسخ ایمنی سلولی را دارد (Potgeite 1988). اختلال عملکرد لنفوسیت‌ها و نوتروفیل‌ها، کاهش تعداد سلول‌های ایمنی در جریان و حاضر در بافت و عوامل استرس محیطی و یا مدیریتی همگی در سرکوب ایمنی مشارکت می‌کنند. جراحات ویروسی در گاوها بر تضعیف ایمنی به علت تخلیه لنفوئید و نوتروپنی اشاره می‌کند که این تضعیف سیستم ایمنی شرایط را برای باکتری‌های فرصت طلب موجود در فارم فراهم آورده و سبب بروز ورم پستان‌های تحت بالینی و بالینی می‌گردد. همچنین این بحث مطرح شده که برخی از واکسن‌های زنده تغییر یافته BVD در گوساله‌ها باعث تضعیف ایمنی می‌شوند و یا عفونت‌های همزمان را تقویت می‌کنند. عفونت پس از تولد

نمونه‌های شیر به میزان ۵۰ سی‌سی از هر کدام یک از مخازن شیر ۴۰ گله مورد مطالعه در فاصله‌ی نیم ساعت پس از شیردوشی صبح در ظروف استریل، به صورت استریل توسط سرنگ ۵۰ سی‌سی استریل از داخل مخزن شیر اخذ گردید و سریعاً در شرایط سرما و در کنار یخ به آزمایشگاه میکروبیولوژی مواد غذایی منتقل گردید و پس از اخذ نمونه جهت آزمایش‌های میکروبی و شیمیایی، باقی‌مانده‌ی نمونه‌ها برای بررسی آلودگی به ویروس BVD، پس از سانتریفیوژ و جداسازی سرم شیر در دمای ۲۰- درجه‌ی سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش الایزا نگهداری گردید.

شمارش تعداد سلول‌های پیکری شیر تانک، با استفاده از دستگاه شمارش‌گر سلولی دلاوال (دلاوال، تومبا، سوئد) شکل انجام پذیرفت. جهت شمارش کلی میکروبی ابتدا از نمونه‌های شیر، سریال رقت تهیه گشته، بر طبق دستورالعمل شماره ۵۴۸۴ مؤسسه‌ی استاندارد و تحقیقات صنعتی ایران نسبت به انجام کشت پورپلیت دو لایه در محیط کشت آگار استاندارد شمارش میکروبی در پلیت و گرم خانه گذاری در ۳۰ درجه‌ی سانتی‌گراد اقدام گردید. پس از گذشت زمان لازم برای نگهداری در گرم‌خانه (۴۸ ساعت)، پلیت‌ها از گرم‌خانه خارج شده و پلیت‌هایی که بین ۳۰ تا ۳۰۰ کلنی داشتند، جهت شمارش کلنی انتخاب، تراکم میکروبی نمونه‌های مورد آزمایش محاسبه و ثبت گردید (Yarabbi et al. 2016).

برای اندازه‌گیری چربی شیر از بوتیرومتری به روش دکتر ژریر (Fallah et al. 2010) استفاده گردید. بدین منظور ابتدا مقدار ۱۰ سی‌سی اسیدسولفوریک داخل چربی-سنج ریخته شد، سپس نمونه‌ی شیر بعد از این که کاملاً یکنواخت گردید و به دمای ۲۰ درجه‌ی سانتی‌گراد رسید، به مقدار ۱۱ سی‌سی به آهستگی داخل چربی سنج روی اسید ریخته شد. به صورتی که به آرامی از جدار گلولی چربی سنج جریان یافته و روی اسیدسولفوریک قرار گیرد و از ایجاد فعل و انفعال در حد فاصل اسیدسولفوریک و شیر جلوگیری شود. سپس یک میلی‌متر الکل آمیلیک نیز

به چربی سنج اضافه گردید. پس از بستن درب فشنگی، چربی سنج تا حل شدن تمام محتویات داخل چربی سنج به خوبی تکان داده شد. جهت جلوگیری از سوختن دست به علت گرمازا بودن واکنش فوق از پارچه استفاده می‌شود. پس از انجام عملیات فوق چربی سنج در داخل سانتریفوژ به صورت متقارن (زوج، زوج) قرار داده شد و به مدت ۵-۳ دقیقه، نمونه‌ها سانتریفوژ شدند و سپس مقدار درصد چربی بر روی ستون مدرج با دقت قرائت گردید (Kleyn et al. 2001).

برای اندازه‌گیری پروتئین شیر از روش تیتراسیون فرمل استفاده گردید. بدین منظور از دو تیتراسیون بهره گرفته شد. تیتراسیون اول به منظور خنثی کردن اسیدهای آزاد شیر و تیتراسیون دوم برای اندازه‌گیری پروتئین استفاده شد. ابتدا ۱۰ میلی‌لیتر شیر درون ارلن ریخته شد و چهار قطره فنل فتالین و یک میلی‌لیتر اگزالات پتاسیم (به منظور بلوکه کردن عوامل اسیدی) به آن اضافه گردید و با سود ۰/۱ نرمال تا ظهور رنگ صورتی کم‌رنگ تیتراسیون شد. سپس دو میلی‌لیتر فرمالین اضافه گردید و پس از دو دقیقه، تیتراسیون تا ظهور رنگ صورتی ادامه داده شد. نهایتاً میزان پروتئین شیر از طریق رابطه‌ی زیر محاسبه گردید (Pyne 1932).

$$2.55 = 1.7(1.5-0) = \text{pro} = (A-B) \times 1.7$$

برای بررسی وضعیت ابتلا به ویروس اسهال ویروسی گاو، از کیت تجاری الایزا SERELISA BVD p80 Ab Mono Blocking (Synbiotics, Lyon, France) جهت ردیابی آنتی‌بادی ویروس اسهال ویروسی گاو، بر اساس دستورالعمل شرکت سازنده استفاده گردید. به این ترتیب که نمونه‌های سرم شیر مربوط به مخازن شیر و کنترل‌های موجود در کیت در گوده‌های حساس شده با آنتی‌بادی ضد ویروس BVD (Ab1) افزوده می‌شدند. در درون گوده‌ها چنانچه در هر نمونه آنتی‌بادی (Ab2) وجود داشته باشد با آنتی‌بادی‌های کف گوده (Ab1) در اتصال به آنتی‌ژن (Ag) افزوده شده به رقابت می‌پردازند. پس از طی مدت زمان انکوباسیون، یک مرحله شستشو انجام می‌شد تا هر آن چه که غیر از اتصالات آنتی‌بادی‌های کف گوده با آنتی‌ژن

کلاس متفاوت بر اساس COD تقسیم گردیدند (Kampa et al. 2004). گله‌های کلاس صفر و یک (به ترتیب COD  $> 0/05$  و بین  $0/05$  و  $0/24$ ) دارای سطح بسیار پایین و پایین آنتی‌بادی در شیر مخزن بودند و از نظر حیوانات PI (عقون‌ت مقاوم)، منفی در نظر گرفته شدند. گله‌های کلاس ۲ و ۳ (به ترتیب COD بین  $0/25$  و  $0/54$  و  $0/55$ ) سطوح آنتی‌بادی متوسط و بالا را دارا بودند. حیوانات PI معمولاً در گله‌هایی وجود دارند که در کلاس سه باشند (Lindberg and Alenius 1999).

لازم به ذکر است نحوه‌ی محاسبه‌ی دانسیته‌ی چشمی بر اساس فرمول زیر می‌باشد (Kampa et al. 2004):  
 $COD = \text{دانسیته نوری کنترل منفی} (1/545) - OD \text{ نمونه‌ها}$   
 جهت تجزیه و تحلیل آماری نتایج گردآوری شده، از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. برای توصیف داده‌های کیفی، از نسبت فراوانی (درصد) و برای داده‌های کمی، از شاخص‌های میانگین و انحراف معیار استفاده شد. برای مقایسه‌ی میانگین متغیرهای کمی در گروه‌های وابسته، از روش One Way ANOVA و آزمون T و برای مقایسه بین گروه‌ها با داده‌های کیفی از آزمون Kruskal-wallis استفاده شد.

مقادیر تیتروسیروس اسهال و ویروسی گاوان اندازه‌گیری گردید و درصد گله‌هایی که در هر گروه قرار می‌گیرند در جدول ذیل آمده است (Table 1).

وجود دارد از درون گوده خارج شود. در مرحله‌ی بعد، آنتی‌بادی نشان‌دار شده با آنزیم HRP (HRP-Conjugate) به گوده‌ها افزوده می‌شد تا به اتصالات آنتی‌ژن و آنتی‌بادی کف گوده‌ها متصل شده و کمپلکس Ab1-Ag-HRP Conjugate تشکیل شود. قابل ذکر است که هر چه میزان آنتی‌بادی (Ab2) در نمونه‌های سرم شیر در مرحله‌ی اول بیش‌تر باشد، به دلیل اتصال به آنتی‌ژن‌ها و حذف آن‌ها پس از شستشو میزان کم‌تری از اتصالات Ab1-Ag-HRP Conjugate در کف گوده‌ها تشکیل خواهد شد. سپس یک مرحله شستشوی ثانویه جهت خروج تمامی ترکیبات متصل نشده به کف گوده از جمله کمپلکس‌های مربوط به نمونه‌ها (Ab2-Ag)، سوبسترا جهت ایجاد واکنش رنگی به گوده‌ها افزوده می‌شد و واکنش رنگی به صورت جذب نوری (Optical Density=OD) با دستگاه ELISA Reader (BIOTEK, ELX800) مورد خوانش قرار می‌گرفتند. دانسیته‌ی نوری اصلاح شده (COD) برای هر نمونه از مخازن شیر گله با کم کردن میزان دانسیته‌ی چشمی (OD) کنترل منفی محاسبه شد. نمونه‌های شیر زیر و بالای میزان حد آستانه  $0/25$  به ترتیب نمونه‌های منفی و مثبت در نظر گرفته شدند.

## نتایج

علاوه بر این، نتایج به دست آمده بر اساس سیستم تقسیم‌بندی سوئدی تقسیم‌بندی شده و نتایج گله‌ها به چهار

Table 1. Different percentage of farms with different Bovine viral diarrhea virus titer

| Corrected Optical Density                                     | 1-0    | 2    | 3          | P Value |
|---------------------------------------------------------------|--------|------|------------|---------|
| Herd number in each group / herd percentage in each group (%) | 12.5/5 | 10/4 | *77.5 / 31 | 0.006   |

\*Show significant difference between groups in a row ( $P < 0.05$ )

تعداد سلول‌های پیکری مخازن شیر اندازه‌گیری گردید و پس از محاسبه‌ی میانگین، بین گروه‌های مختلف از تیتروسیروس اسهال و ویروسی گاو مقایسه گردید. نتیجه‌ی این مقایسه در جدول ذیل آورده شده است (Table 2).

همان‌طور که در جدول آمده است، بین گروه‌های مختلف از تیتروسیروس اسهال و ویروسی گاو از نظر درصد گله‌های مبتلا اختلاف معنی‌دار وجود دارد (Table 1).

**Table 2. Average of bulk tank somatic cell count in different COD groups**

| Corrected Optical Density                          | 1-0          | 2            | 3            | P Value |
|----------------------------------------------------|--------------|--------------|--------------|---------|
| Average of bulk tank somatic cell count ( $10^3$ ) | 310.50±30.44 | 617.50±78.23 | 618.09±79.17 | 0.69    |

طبق بررسی انجام شده تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر، چربی شیر، میزان پروتئین شیر و تعداد کل باکتری شیر بین گاوهای مبتلا به ویروس اسهال ویروس گاوان و گاوهای سالم تفاوت معنی‌داری ندارد (Table3, Figure 1).

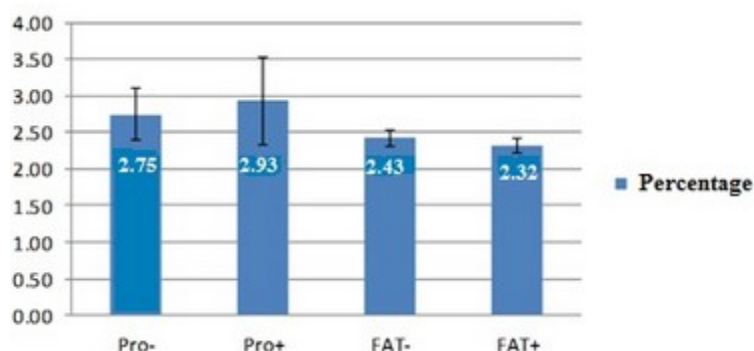
پس از اندازه‌گیری تعداد کل باکتری شیر و تعداد سلول‌های پیکری مخازن شیر همبستگی بین این دو فاکتور از نظر آماری بررسی گردید.

همان طور که مشاهده می‌شود بین گروه‌های مختلف تیترو ویروس اسهال ویروسی گاو، از نظر میانگین تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر اختلاف معنی‌داری وجود ندارد (Table 2).

تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر، چربی شیر، میزان پروتئین شیر و تعداد کل باکتری نمونه‌های شیر اندازه‌گیری گردید و بین گاوداری‌های مبتلا به ویروس اسهال ویروسی گاو و گاوداری‌های سالم مقایسه گردید (Table3, Figure 1).

**Table 3. Bulk tank somatic cell count and total bacterial count in positive and negative BVD farms**

| Measured parameters           | Bulk tank somatic cell count (ml)          | Total bacterial count (CFU/ml)           |
|-------------------------------|--------------------------------------------|------------------------------------------|
| Average in positive BVD farms | $618.08 \times 10^3 \pm 79.17 \times 10^3$ | $2.990 \times 10^7 \pm 3.68 \times 10^6$ |
| Average in negative BVD farms | $464.25 \times 10^3 \pm 57.96 \times 10^3$ | $3.315 \times 10^7 \pm 3.38 \times 10^6$ |
| P.Value                       | 0.36                                       | 0.29                                     |

**Figure 1. Average of amount of protein and fat in bulk tank in different group****Table 4. Correlation between total bacterial count and somatic cell count**

|                                                                  | Regression | P Value     |
|------------------------------------------------------------------|------------|-------------|
| Correlation between total bacterial count and somatic cell count | 0.773      | $P < 0.001$ |

همان طور که در جدول فوق ذکر شده است، از نظر آماری همبستگی معنی‌داری بین تعداد کل باکتری شیر و تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر وجود دارد.

## بحث

ورم پستان در گاو یکی از مهم‌ترین بیماری‌های تولیدی است که از نظر اقتصادی بر صنعت پرورش گاو شیری تأثیر زیادی می‌گذارد. ورم پستان تحت بالینی توسط آزمایش‌های رایج مانند آزمایش ورم پستان کالفرنیایی و شمارش سلول‌های سوماتیک و کشت باکتریایی از تمام کارتیوها ردیابی می‌شود. ویروس اسهال ویروسی گاو، عامل عفونت در چند ارگان میزبان بوده و با مشکلات سلامت پستان در گله‌های شیری نیز در ارتباط می‌باشد (Jolanta et al. 2014). بنابراین می‌توان در هنگام ابتلای گاوها به این ویروس انتظار بالا رفتن تعداد سلول‌های پیکری در مخزن شیر را داشت.

در سال ۲۰۰۴ یک مطالعه برای بررسی ارتباط بین باروری و آلودگی به اسهال ویروسی گاو صورت پذیرفت که در این مطالعه از اندازه‌گیری میزان آنتی‌بادی درون شیر با استفاده از الایزا برای بررسی آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو استفاده گردید (Robert et al. 2004). در این مطالعه همانند پژوهش حاضر اکثر گله‌های مورد مطالعه (۵۳/۳۷ درصد) با سطح آلودگی بالا گزارش شده‌اند.

همچنین در سال ۲۰۰۴ برای بررسی وضعیت آلودگی گله‌های تایلند به ویروس اسهال ویروسی گاو از الایزا استفاده گردید (Kampa et al. 2004). در این مطالعه ۷۳ درصد از گله‌های تحت بررسی در کلاس ۱-۳ قرار گرفته‌اند که مشابه تحقیق حاضر بیش‌ترین درصد آلودگی در این سه کلاس بوده است.

در سال ۲۰۱۴ طی یک مطالعه، ارتباط بین سلول‌های پیکری مخازن شیر و وضعیت آلودگی گله به ویروس اسهال ویروسی گاو بررسی شد. در این مطالعه از روش الایزا و RT-PCR بر روی شیر مخزن شیر گله برای ارزیابی وضعیت آلودگی گله به ویروس اسهال ویروسی گاو و از سیستم فوسوماتیک ۵۰۰۰ برای تعیین تعداد سلول پیکری شیر مخزن استفاده گردید و در نتیجه گزارش گردید که ارتباط معنی‌داری بین تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر و

ابتلا به ویروس اسهال ویروسی گاو مشاهده نگردید (Jolanta et al. 2014) که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد و همان گونه که در نتایج آمده است میانگین سلول‌های پیکری بین گاوهای سالم و درگیر دارای اختلاف معنی‌دار نمی‌باشد.

در مطالعه‌ای دیگر در سال ۲۰۰۸ تأثیر پاک بودن گله از ویروس اسهال ویروسی گاو بر باروری و سلامت پستان‌ها در گله‌های آلمان بررسی گردید. در این مطالعه نیز از روش RT-PCR بر روی نمونه شیر مخزن با ویژگی ۱۰۰ درصد و حساسیت ۱۰۰-۸۷ درصد، از RT-PCR بر روی نمونه‌های خون با ویژگی ۱۰۰ درصد و حساسیت ۱۰۰ درصد و از آنتی‌ژن الایزا با ویژگی ۹۹/۵ درصد و حساسیت ۹۹ درصد برای اطمینان از عدم آلودگی به ویروس اسهال ویروسی گاو استفاده گردید و هنگامی که همه‌ی گاوهای حداقل چهار ماهه از ویروس اسهال ویروسی گاو پاک بودند، دوبار در سال با بررسی پنج گاو تصادفی با سن هشت تا ۱۲ ماه با استفاده از الایزای آنتی‌بادی پایش شدند. در نتیجه گزارش گردید که پاک نمودن گله از ویروس اسهال ویروسی گاو موجب کاهش بروز ورم پستان و میزان سقط گردید (Berends et al. 2008). با توجه به این که ورم پستان عامل اصلی افزایش تعداد سلول‌های پیکری شیر می‌باشد و عوامل باکتریایی مهم‌ترین دلیل این امر هستند، بنابراین ممکن است عدم اختلاف معنی‌دار بین تعداد سلول‌های پیکری شیر مخزن گاوداری‌های آلوده و غیرآلوده در این مطالعه تأثیر مهم‌تر عوامل دیگر در بروز ورم پستان نسبت به این بیماری در آن‌ها باشد.

همچنین در سال ۲۰۰۵ در غرب فرانسه تفاوت تعداد سلول پیکری شیر با توجه به وضعیت ابتلا به ویروس اسهال ویروسی گاو بررسی گردید. در این مطالعه برای بررسی وضعیت اسهال ویروسی گاو از ردیابی آنتی‌بادی این ویروس در مخزن شیر توسط الایزا استفاده گردید و در پایان گزارش شد که وضعیت ابتلا به ویروس اسهال ویروسی گاو به طور معنی‌داری در ارتباط با تعداد سلول‌های پیکری مخزن شیر بود (Beaudeau et al. 2005) که

نتایج این مطالعه با نتیجه‌ی مطالعه‌ی ما هم‌خوانی ندارد. ممکن است این اختلاف به دلیل تفاوت در روش اندازه‌گیری تعداد سلول‌های پیکری باشد، همچنین عوامل متعددی بر تعداد سلول پیکری شیر تأثیر می‌گذارند که در مطالعات بعدی باید مد نظر قرار گیرند.

در مطالعه‌ای که در سوئد انجام پذیرفت تأثیر ویروس اسهال ویروسی گاو بر میانگین بازده سالیانه‌ی شیر و میانگین تعداد سلول پیکری شیر بررسی گردید و در نتیجه گزارش گردید که ابتلا به این ویروس بر هر دو متغیر تأثیر معنی‌داری داشت (Lindberg and Emanuelson 1997) که مطالعه‌ی ما نشان‌گر خلاف این نتیجه بود.

در سال ۲۰۰۶ طی مطالعه‌ای تأثیر ویروس لوسمی گاو، اسهال ویروسی گاو، مایکوباکتریوم پاراتوبرکولوزیس و تئوسپورا کنایوم بر چربی و پروتئین شیر اندازه‌گیری شد. در این مطالعه ۳۰ گاو از هر یک از ۳۴۲ گاوداری انتخاب شده نمونه‌ی سرم گرفته شد و از نظر وجود آنتی‌بادی علیه ویروس اسهال ویروسی گاو سنجیده شد. در نتیجه این مطالعه گزارش گردید که مثبت بودن نتیجه‌ی تست سرمی برای ویروس اسهال ویروسی گاو با کاهش چربی و پروتئین شیر در ارتباط است (VanLeeuwen et al. 2006) که همان طور که در بخش نتایج مطالعه‌ی حاضر ذکر شد اختلاف معنی‌داری بین چربی و پروتئین شیر بین گاوداری‌های آلوده و غیرآلوده وجود ندارد. دلیل این اختلاف می‌تواند تفاوت در تغذیه و کیفیت تولید گاوها و وجود آلودگی‌های دیگری که موجب ورم پستان می‌شوند، باشد.

همان طور که گزارش شد در کشورهایی که تعداد سلول‌های سوماتیک شیر به شدت کنترل می‌شود و کاهش

می‌یابد، تأثیر عوامل غیر اصلی مانند ویروس اسهال ویروسی گاو، بر تعداد سلول‌های سوماتیک شیر بسیار واضح است، در صورتی که در منطقه‌ی مورد گزارش این مطالعه و یا در مناطقی چون منطقه‌ی مورد مطالعه، که تعداد سلول‌های سوماتیک شیر به دلیل وجود عوامل اصلی که همان باکتری‌ها هستند بالا است، ویروس BVD تأثیر چندانی بر تعداد سلول‌های سوماتیک تانک شیر ندارد.

در مورد تعداد کل باکتری‌های شیر همان طور که در Table 3 نشان داده شده است، ارتباط معنی‌داری بین تعداد کل باکتری‌های شیر و تعداد سلول‌های پیکری وجود ندارد. نتایج این مطالعه با نتیجه‌ی مطالعه‌ی دیگر (Herlekar et al. 2013) همسو می‌باشد.

همان طور که در Figure 1 نشان داده شده است بین درصد چربی و پروتئین شیر مخزن گله‌های BVD مثبت و BVD منفی ارتباط معنی‌داری یافت نگردید. از طرف دیگر بین تعداد سلول‌های پیکری در مخازن شیر BVD مثبت و BVD منفی نیز ارتباط آماری معنی‌داری مشاهده نگردیده است، بنابراین نمی‌توان انتظار تغییر قابل توجهی در میزان پروتئین و چربی مخازن نیز داشت. محققان مطالعه‌ی حاضر پیشنهاد می‌کنند که برای بررسی تغییرات ناشی از ویروس BVD در چربی و پروتئین شیر بهتر است گاوها به صورت انفرادی مورد بررسی قرار بگیرند و تغییرات مخازن ذخیره‌ی شیر احتمالاً به دلیل ادغام شیرهای گاوهای BVD مثبت و BVD منفی تغییرات چندانی ندارند.

بنابراین با نتایج به دست آمده از این پژوهش استدلال می‌گردد که در منطقه‌ی مورد مطالعه ارتباط معنی‌داری بین بیماری اسهال ویروسی گاو و تعداد باکتری موجود در شیر و کیفیت شیر تأثیر وجود.

## تشکر و قدردانی

نویسندگان این پژوهش از اداره‌ی کل دامپزشکی استان سمنان بابت همکاری در انجام این مطالعه قدردانی می‌نمایند.

## تعارض منافع

نویسندگان این مطالعه اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارد.

## منابع مالی

تشکر ویژه از اداره‌ی کل دامپزشکی استان سمنان و همچنین دانشگاه سمنان بابت حمایت مالی از نویسنده مسئول مقاله جهت انجام پایان‌نامه دکتری حرفه‌ای انجام می‌شود.

## منابع

- Beaudeau, F.; Fourichon, C.; Robert, A.; Joly, A. and Seegers, H. (2005). Bulk milk somatic cell counts and bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infection in 7252 dairy herds in Brittany (western France). *Preventive Veterinary Medicine*, 72(1): 163-167.
- Berends, I.M.G.A.; Swart, W.A.J.M.; Frankena, K.; Muskens, J.; Lam, T.J.G.M. and Van Schaik, G. (2008). The effect of becoming BVDV-free on fertility and udder health in Dutch dairy herds. *Preventive Veterinary Medicine*, 84 (1-2): 48-60.
- Fadlelmoula, A.; Fahr, R.D.; Anacker, G. and Swalve, H. H. (2007). The management practices associated with prevalence and risk factors of mastitis in large scale dairy farms in Thuringia-Germany 1: environmental factors associated with prevalence of mastitis. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 1(4): 619-624.
- Fallah, A.A.; Saei-Dehkordi, S.S. and Rahnama, M. (2010). Enhancement of microbial quality and inactivation of pathogenic bacteria by gamma irradiation of ready-to-cook Iranian barbecued chicken. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(10): 1073-1078.
- Herlekar, D.A.; Shashikant, C.S.; Gurjar, A.A. and Jayarao, B.M. (2013). Presence of viral and bacterial organisms in milk and their association with somatic cell counts. *Journal of dairy science*, 96(10): 336-346.
- Hillerton, J.E. and Berry, E.A. (2005). Treating mastitis in the cow – a tradition or an archaism. *Journal of Application Microbiology*, 98 (6): 1250-1255.
- Houe, H. (1999). Epidemiological features and economic importance of bovine virus diarrhoea virus (BVDV) infections. *Veterinary Microbiology*, 64 (2-3): 89-107.
- Jolanta, G.; Magdalena, L.; Monika, G.; Lukasz, B.; Aleksandra, K.; Miroslaw, P. and Polakb, J.R. (2014). Bulk tank milk somatic cell counts in dairy herds with different bovine viral diarrhoea virus status in Poland. *Preventive Veterinary Medicine*, 116 (1-2): 183-187.
- Kampa, J.; Stahl, K.; Moreno-López, J.; Chanlun, A.; Aiumlamai, S. and Alenius, S. (2004). BVDV and BHV-1 infections in dairy herds in northern and northeastern Thailand. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 45(4): 181-192.
- Kleyn, D.H.; Lynch, J.M.; Barbano, D.M.; Bloom, M.J. and Mitchell, M.W. (2001). Determination of fat in raw and processed milks by the Gerber method: collaborative study. *Journal of AOAC International*, 84(5): 1499-1508.
- Lindberg, A. and Emanuelson, U. (1997). Effect of bovine viral diarrhoea virus infection on average annual milk yield and average bulk tank milk somatic cell counts in Swedish dairy herds. *Epidemiology Sante animal*, 31(32): 10-11.
- Lindberg, A.L. and Alenius, S. (1999). Principles for eradication of bovine viral diarrhoea virus (BVDV) infections in cattle populations. *Veterinary Microbiology*, 64(2): 197-222.
- Potgeiter, L.N.D. (1988). Immunosuppression of cattle as a result of bovine viral diarrhoea infection. *Agriculture Practice*, 9(5): 7-14.
- Pyne, G.T. (1932). The determination of milk-proteins by formaldehyde titration. *Biochemical journal*, 26(4): 1006.
- Robert, A.; Beaudeau, F.; Seegers, H.; Joly, A. and Philipot, J.M. (2004). Large scale assessment of the effect associated with bovine viral diarrhoea virus infection on fertility of dairy cows in 6149 dairy herds in Brittany (Western France). *Theriogenology*, 61(1): 117-127.
- Sharma, N.; Singh, N.K. and Bhadwal, M.S. (2011). Relationship of somatic cell count and mastitis: an overview. *Asian-Australia Journal of Animal Science*, 24(3): 429-438.
- Talebkhani Garoussi, M.; Haghparast, A.R. and Rafati, M.S. (2011). The prevalence of bovine viral diarrhoea virus in persistently infected cows in industrial dairy herds in suburb of Mashhad-Iran. *International Journal of Veterinary Research*, 5(4): 198-203.
- Talebkhani Garoussi, M.; Haghparast, A.R. and staji, H. (2008). Prevalence of bovine viral diarrhoea virus antibodies in bulk tank milk of industrial dairy cattle herds in suburb of Mashhad-Iran. *Preventive Veterinary Medicine*, 84: 171-176.



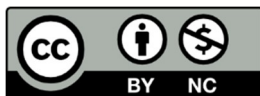
VanLeeuwen, J.A.; Tiwari, A.; Plaizier, J.C. and Whiting, T.L. (2006). Seroprevalences of antibodies against bovine leukemia virus, bovine viral diarrhea virus, Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis, and Neospora caninum in beef and dairy cattle in Manitoba. The Canadian Veterinary Journal, 47(8): 783-786.

Wellenberg, G.J.; Van Der Poel, W.H.M., and Van Oirschot, J.T. (2002). Viral infections and bovine mastitis: a review. Veterinary Microbiology, 88(1): 27-45.

Yarabbi, H.; Mortazavi, S.A. and Shafafi Zenoian, M. (2016). Prediction of Antibiotics Residues in Raw Milk by Using Binary Logistic Regression Model. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research, 2: 287-296.

Received: 09.07.2018

Accepted: 22.04.2019



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

## Relationship between bulk tank milk somatic cell count and bovine viral diarrhea status in dairy farms in Semnan

Shafaei Novdeh, J.<sup>1</sup>; Narenji Sani, R.<sup>2</sup>; Staji, H.<sup>3</sup>; Jebelli Javan, A.<sup>4</sup> and Hashemzadeh, H.<sup>5</sup>

Received: 0.9.0.7.2018

Accepted: 22.04.2019

### Abstract

Bovine viral diarrhea is one of the viral causes of mastitis in cattle and the economic losses of herds. This virus can make cattle more susceptible to bacterial causes of mastitis by damage to tits, papillary ducts, and immune suppression. The study aimed to examine the relationship between bovine viral diarrhea virus (BVDV) infections on bulk tank milk somatic cell counts (BTMSCC) in Semnan province. Forty dairy farms supplying milk to a dairy in Semnan province were recruited for this study. Bulk milk ELISA test was used to determine the BVDV infection status. Also, a delaval somatic cell counter was used to count the total somatic cell and Gerber and Formel titration method used for evaluating fat and protein percent of milk, respectively. The BTMSCC mean values for the BVDV seronegative ( $464.25 \times 10^3$  cells/ml; SD:  $57.96 \times 10^3$ ) and seropositive ( $618.08 \times 10^3$  cells/ml; SD:  $79.17 \times 10^3$ ) herds did not differ significantly. The percentage of protein and fat showed no significant difference between seropositive and seronegative. In conclusion, no statistically significant effect of BVDV infection on BTMSCC was found.

**Key words:** BVD, Somatic Cell Count, Milk Fat, Milk Protein

---

1- DVM Student, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

2- Assistant Professor, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

3- Assistant Professor, Department of Pathobiology, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

4- Associate Professor, Department of Food Hygiene, Faculty of Veterinary Medicine, Semnan University, Semnan, Iran

5- Expert of Semnan Provincial Veterinary Service, Semnan, Iran

**Corresponding Author:** Narenji Sani, R., E-mail: Rezasani\_vet@semnan.ac.ir