اثر استفاده از آغوز خام و گرمادهی شده در دمای ٦٠ درجه به مدت ۳۰ دقیقه بر غلظت ایمونوگلوبولین G سرم و راندمان جذب ظاهری ایمونوگلوبولین G

محمد رفیعی[1*]، تقی قورچی[2] ، مصطفی مؤذنی[3]، عبدالحکیم توغدری[4]

۱- دانشجوی کارشناسی‌ارشد دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان- گروه تغذیه دام وطیور
۲- استاد تمام دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان- گروه تغذیه دام و طیور
۳- دانشجوی دکترا تخصصی دامپزشکی دانشگاه شهید چمران اهواز- گروه علوم درمانگاهی
۴- دانش آموخته‌ی دکترا دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان- گروه تغذیه دام و طیور

آدرس ایمیل نویسنده مسئول: mohammadrafiei89@gmail.com

چکیده

در این تحقیق اثر استفاده از آغوز گرمادهی نشده و گرمادهی شده بر میزان ایمونوگلوبولین G سرم وراندمان جذب ظاهری ایمونوگلوبولین G گوساله‌های تازه متولد شده‌ی نژاد هلشتاین مورد بررسی قرار گرفت. از ٤٠ راس گوساله‌ی نر نژاد هلشتاین با میانگین وزن ٤٣/٠٧ کیلوگرم و با وضعیت سلامت مشابه در دو گروه تیماری در قالب طرح کاملا تصادفی به مدت ٦٣ روز استفاده شد. گوساله-ها به دو گروه ۲۰ راسی تقسیم شد که شامل گروه شاهد (آغوز گرمادهی نشده) و گروه مورد مطالعه (آغوز گرمادهی شده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد) بود. در هر دو گروه، گوساله‌ها آغوز گرم شده بوسیله آب گرم را توسط بطری پستانک‌دار به مقدار ۱۰٪ وزن بدن در ٦ ساعت اول زندگی مصرف کردند. شمارش کل باکتری‌ها (TPC)، از مخزن آغوز قبل و بعد از نمونه‌گیری انجام شد. همچنین خونگیری در زمان تولد (ساعت صفر)، ساعت ٢٤ و ٧٢ پس از تولد جهت بررسی میزان ایمونوگلوبولین G و محاسبه‌ی راندمان جذب ظاهری ایمونوگلوبولین G انجام گرفت. براساس نتایج حاصله گرمادهی آغوز در دمای ٦٠ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه منجر به کاهش معنی‌دار در شمارش کل باکتری‌ها گردید. همچنین میزان ایمونوگلوبولین G سرم و راندمان جذب ایمونوگلوبولین G گوساله‌هایی که آغوز گرمادهی شده مصرف کرده‌اند در ساعت ٢٤ و ٧٢ پس از تولد بیش از گروه کنترل می‌باشد. علاوه بر این گرمادهی آغوز منجر به کاهش شمارش ایمونوگلوبولین G آغوز گردید که این کاهش فاقد تفاوت معنی‌دار می‌باشد.

واژه های کلیدی: گوساله – آغوز گرمادهی شده – ایمونوگلوبولین G.

مقدمه

اولین آغوز دوشیده شده از گاو حاوی مهمترین منابع غذایی، فاکتورهای غیر اختصاصی ایمنی، ایمونوگلوبولین‌ها و همچنین دیگر فاکتورهای ایمنی شامل لوکوسیت‌های مادری بوده که همه‌ی این موارد منجر به حفاظت گوساله‌ی تازه متولد شده در برابر بیماری‌های عفونی در هفته‌ها و ماههای اول زندگی می‌گردد (۱). علاوه بر این مزیت‌ها، آغوز می‌تواند به عنوان اولین منابع آلودگی برای گوساله از جمله مایکوباکتریوم آویوم پاراتوبرکلوزیس در ساعات اولیه‌ی زندگی در نظر گرفته شود (۲ و۳). همچنین پاتوژن‌های دیگری مانند مایکوپلاسما (٤)، اشرشیاکلای و سالمونلا (۵) در آغوز یافت می-شوند. جانسون و همکاران (۲۰۰۷) بیان کردند کاهش آلودگی باکتریایی منجر به کاهش رقابت بین پاتوژن‌ها و گیرنده‌های ایمونوگلوبولین‌های G شده که افزایش جذب ایمونوگلوبولین G در سرم را در پی دارد. بنابراین به نظر می‌رسد استفاده از فرایند گرمادهی آغوز یکی از راهکارهای ممکن برای کاهش یا از بین بردن و یا انتقال این عوامل بیماری‌زا به گوساله در ساعات اولیه‌ی زندگی می‌باشد. . تحقیقات اخیر نشان داده که حرارت دادن آغوز در دمای کمتر از دمایی که برای پاستوریزه کردن شیر استفاده می‌شود منجر به کاهش قابل توجهی در جمعیت باکتریای موجود در آغوز بدون تاثیر در مقدار ایمونوگلوبولین G (IgG) می‌گردد (۷). بنابراین هدف این تحقیق بررسی اثر حرارت دادن آغوز به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد بر جذب و اندمان ایمونوگلوبولین G می‌باشد.

مواد و روش‌ها

برای انجام این مطالعه اقدام به جمع‌آوری ۲۰۰ لیتر آغوز دوشش اول همگن شد. به این ترتیب که ابتدا اقدام به جمع‌آوری آغوزها و بلافاصله نگهداری آنها در دمای۲۰- درجه سانتیگراد شد تا حجم مورد نظر فراهم گردید. سپس آغوزهای منجمد، با آب گرم ذوب شده و به مدت ۱۰ دقیقه با هم مخلوط شده تا آغوز همگن (یکسان از نظر میزان ایمونوگلوبولین G) ایجاد شود. سپس نیمی از آغوز-های همگن شده به روش ۳۰ دقیقه در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد گرمادهی و مابقی آن به صورت آغوز خام یا حرارت ندیده جمع‌آوری و منجمد گردید. سپس کلیه آغوزها در ظروف ۱/۵ لیتری تا زمان انجام آزمایش در دمای۲۰- درجه سانتیگراد ذخیره شد. در هر مورد قبل از گرمادهی و پس از اتمام گرمادهی به روش ۳۰ دقیقه در دمای ٦۰ درجه سانتیگراد جهت بررسی شمارش کل باکتری‌ها، از مخزن آغوز نمونه‌گیری انجام شد. برای یکسان سازی داده‌های مربوط به کشت میکروبی از نتایج Log_{10} گرفته شده است (۷). در این مطالعه از ٤۰ رأس گوساله‌ی نر تازه متولد شده‌ی نژاد هلشتاین با وضعیت سلامت مشابه استفاده شد که بلافاصله پس از تولد و قبل از خوردن آغوز در یکی از گروه-های آزمایش زیر قرار گرفته و تا روز ٦۳ (روز شیرگیری) مورد بررسی قرار گرفتند. مصرف آغوز

برای هر گوساله ۱۰٪ وزن بدن در نظر گرفته شد. خونگیری در زمان تولد (ساعت صفر)، ساعت ۲٤ و ساعت ۷۲ جهت بررسی میزان ایمونوگلوبولین G (به روش SRID)، پروتئین تام سرم و محاسبه‌ی راندمان جذب ظاهری ایمونوگلوبولین G انجام گرفت. راندمان جذب ایمونوگلوبولین G از روش فرمول زیر محاسبه گردید (۸):

$$\text{راندمان جذب ایمونوگلوبولین G (٪)} = \frac{\text{میزان IgG سرم} \times ۰/۰۸۹}{\text{IgG آغوز} \times ۱۰٪ \text{ وزن تولد}}$$

این آزمایش در قالب طرح کاملا تصادفی با استفاده از ۲ تیمار آزمایشی انجام گرفت. جهت آنالیز دادها از از نرم افزار آماری SAS (۲۰۰۳) استفاده شده و داده‌ها با استفاده از رویه‌ی GLM آنالیز گردید. سطح معنی‌داری در این طرح ($P < ۰/۰۵$) در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

نتایج مربوط به گرمادهی آغوز و شمارش کل باکتری‌ها در جدول زیر آمده است. بر این اساس با گرمادهی آغوز در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه شمارش کل باکتری‌ها از ۳/۹۱ به ۲/۰۱ cfu/ml کاهش یافته است ($P<۰/۰۵$). همچنین در طی این فرایند گرمادهی میزان ایمونوگلوبولین آغوز از ٦۰/۵۹ به ۵۷/۵٦ g/l کاهش می‌یابد، ولی این کاهش فاقد هر گونه تفاوت معنی‌دار می‌باشد. با کاهش شمارش باکتری‌ها در آغوز در طی فرایند گرمادهی آغوز در دمای ٦۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه جذب ایمونوگلوبولین G در سرم و درصد راندمان ظاهری جذب ایمونوگلوبولین G در ساعات ۲٤ و ۷۲ پس از تولد به طور معنی‌دار افزایش می‌یابد. گلسینگر و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند با کاهش شمارش کل باکتری‌ها و شمارش کل کلی‌فرم‌های آغوز، میزان جذب ایمونوگلوبولین G سرم و راندمان جذب ایمونوگلوبولین G افزایش می‌یابد. این افزایش میزان جذب، همسو با فرضیه‌ای است که جانسون و همکاران (۲۰۰۷) در مورد کاهش شمارش باکتری‌ها بیان کرده است. در مطالعه‌ای گودن و همکاران (۲۰۱٤) با مطالعه‌ای بر روی ۱۰۷٦ گوساله، به این نتیجه رسیدند بین شمارش کل باکتری‌ها و شمارش کل کلی‌فرم‌ها همبستگی مثبت وجود دارد. کرولی و همکاران (۱۹۷۷) به بررسی اثر رابطه‌ی بین میکروفلور دستگاه گوارش و جذب دستگاه گوراش پرداختند. در این مطالعه تغییرات میکروویلی‌ها، جذب ایلئومی و اتصال میکروبی را در زمان اضافه کردن *E. Coli* به آغوز گوساله‌ها مورد بررسی قرار دادند و به این نتیجه رسیدند زمانی که *E. coli* به آغوز اضافه شود جذب ایمونوگلوبولین کاهش می‌یابد که این کاهش به دلیل تخریب ساختمان میکرو-ویلی‌ها می‌باشد (۱۰).

میانگین پارامترهای سرم خون و آغوز بین در دو تیمار آغوز گرمادهی شده و نشده

پارامترهای سرم خون و آغوز	تیمارهای آزمایشی		میانگین خطای استاندارد SEM	سطح احتمال معنی دار شدن P-VALUE
	آغوز گرمادهی شده	آغوز گرمادهی نشده		
شمارش کل باکتری‌ها (TPC)، cfu/ml	۲/۰۱[b]	۳/۹۶[a]	۰/۳۸	۰/۰۰۰۲
ایمونوگلوبولین G (IgG) آغوز، g/L	۵۷/۵۶	۶۰/۵۹	۰/۴۲	۰/۲۲
ایمونوگلوبولین جی سرم (IgG)، g/L				
۲۴ ساعت پس از تولد	۱۵/۳۷[a]	۱۲/۵۲[b]	۰/۹۳	۰/۰۱
۷۲ ساعت پس از تولد	۱۲/۹۵[a]	۱۱/۳۷[b]	۰/۹۳	۰/۰۳
راندمان جذب ظاهری IgG (AEA[1])				
راندمان جذب ظاهری IgG در ساعت ۲۴	۲۳/۹۴[a]	۱۹/۲۹[b]	۰/۹۳	۰/۰۰۳
راندمان جذب ظاهری IgG در ساعت ۷۲	۲۰/۱۹[a]	۱۷/۵۰[b]	۰/۹۳	۰/۰۰۳

تیمارهای آزمایشی عبارتند از: آغوز گرمادهی شده (گرمادهی شده در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه) و آغوز گرمادهی نشده

حروف متفاوت در هر ردیف نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج می‌توان دریافت با استفاده از فرایند گرمادهی آغوز در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه می‌توان از انتقال آلودگی میکروبی از آغوز به گوساله‌های تازه متولد شده جلوگیری کرده و جذب ایمونوگلوبولین G را در ساعات اولیه‌ی تولد افزایش داد و منجر به بهبود سیستم ایمنی در ساعات اولیه شد.

[1] Apparent efficiency of absorption

در پایان جا دارد از راهنمایی استاد ارجمندم آقای دکتر قورچی، حمایت‌های مالی آقای دکتر اهرابی مدیریت محترم شرکت زوفا پرنیان پارس و آقای مهندس نوید رفیعی میدیریت شرکت مهندسی دام ماک جهت حمایت این طرح کمال تشکر را داشته باشم.

منابع

1. Davis, C. L., and J. K. Drackley. 1998. The development, nutrition, and management of the young calf. 1st edition. 1998. Ames (IA): Iowa State University Press. p. 179–206.
2. Streeter, R. N., G. F. Hoffsis, and S. Bech-Nielsen, 1995. Isolation of Mycobacterium paratuberculosis from colostrum and milk of subclinically infected cows. Am J Vet Res. 56(10): 1322–4.
3. Sweeney, R. W. 1996. Transmission of paratuberculosis. Vet. Clin. North Am. Food Anim. Pract. 12:305–312.
4. Butler, J. A., S. A. Sickles, C. J. Johanns, and R. F. Rosenbusch. 2000. Pasteurization of discard mycoplasma mastitic milk used to feed calves: Thermal effects on various mycoplasma. J. Dairy Sci. 83:2285–2288.
5. Spier, S. J., B. P. Smith, J. S. Cullor, H. J. Olander, L. D. Roden, and G. W. Dilling. 1991. Persistent experimental *Salmonella Dublin* intramammary infection in dairy cows. J. Vet. Intern. Med. 5:341–350.
6. Johnson, J., S. Godden, and T. Molitor. 2007. The effect of feeding heat-treated colostrum on passive transfer of cellular and humoral immune parameters in neonatal dairy calves. J. Dairy Sci. 90:5189–98.
7. Elizondo-Salazar, J. A., and A. J. Heinrichs. 2008. Heat treating bovine colostrum. The Professional Animal Scientist; 24:530–538.
8. Quigley, J. D., A. Lago, C. Chapman, P. Erickson, and J. Polo. 2013. Evaluation of the Brix refractometer to estimate immunoglobulin G concentration in bovine colostrums. J. Dairy Sci. 96:1148–1155.
9. Gelsinger, S. L., S. M. Gray, C. M. Jones, and A. J. Heinrichs. 2014. Heat treatment of colostrum increases immunoglobulin G absorption efficiency in high-, medium-, and low-quality colostrum. J. Dairy Sci. 97:2355–2360.
10. Corley, L. D., T. E. Staley, L. J. Bush, and E. W. Jones. 1977. Influence of colostrum on trans epithelial movement of Escherichia coli O55. J. Dairy Sci. 60:1416-1421.

Effect of feeding raw and heat-treated colostrum in 60°C for 30 min on serum IgG concentration and apparent efficiency absorption IgG

The aim of this study was to investigate effects of feeding heat-treated and unheated colostrums on serum IgG concentration and apparent efficiency absorption (AEA) of immunoglobulin G in neonatal Holstein calves. Forty male Holstein calves with initial BW (40 to 45 kg) were fed either raw (n = 20) and heat-treated (in 60°C for 30 min) colostrum (n = 20), 10% of their birth BW in first 6 h of life. Total plate count were taken from colostrums before and after heating colostrums. Serum samples were collected from calves at 0 h (precolostrum), 24 and 72 h (postcolostrum) and were assayed for serum IgG and calculating AEA. According the results heat-treating colostrum in 60°C for 30 min tended to reducing TPC significantly. Serum IgG concentration and AEA in first 24 and 72 h of life were significantly greater in calves feeding heat- treated colostrums. Although heat- treating colostrum tend to decrease amount of IgG in colostrum but this difference weren't significantly.

Keywords: calves- Heat-treating colostrums- Immunoglobulin G.