



## ارزیابی دقت تشخیص ورم پستان تحت بالینی با استفاده از نوارهای تشخیص لاکتات دهیدروژناز

سیدسعیدرضا سجادی<sup>۱</sup>، بابک خرمیان<sup>۲</sup>، محمد عزیززاده<sup>۲</sup>، نیما فرزانه<sup>۲</sup><sup>۱</sup> دانش آموخته دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران  
<sup>۲</sup> گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۲۷ بهمن ماه ۱۳۹۹، تاریخ پذیرش: ۳۱ فروردین ماه ۱۴۰۰



10.22059/jvr.2020.298535.3027

<https://dorl.net/dor/20.1001.1.20082525.1400.76.2.13.3>

## چکیده

**زمینه مطالعه:** ورم پستان را می‌توان به شیوه‌های مختلفی از جمله تست‌های فیزیکی، آزمون‌های بالینی و آزمایشگاهی تشخیص داد.**هدف:** ارزیابی دقت تشخیص ورم پستان تحت بالینی با استفاده از نوارهای تشخیص لاکتات دهیدروژناز و همچنین ارزیابی این نوارها با در نظر گرفتن اثرات روزهای مختلف شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش.**روش کار:** در مطالعه حاضر ۱۰۶ رأس گاو هلشتاین به صورت تصادفی از بین گاوهای پر تولید و کم تولید انتخاب شدند. بر اساس نتیجه تست کالیفرنایی ورم پستان (CMT) از کارتیبه یا کارتیبه‌های مورد نظر ۲ نمونه شیر طبق اصول نمونه‌گیری انجمن ملی ورم پستان آمریکا (NMC) اخذ شد. یک نمونه برای کشت میکروبی در نظر گرفته شد و نمونه‌ی دیگر برای آزمایش لاکتات دهیدروژناز شیر (LDH) با استفاده از نوار تشخیصی و آزمایش شمارش سلول‌های سوماتیک (SCC) استفاده شد.**نتایج:** زمانی که کشت میکروبی به عنوان گلد استاندارد تشخیص ورم پستان تحت بالینی در نظر گرفته شد، حساسیت و ویژگی تست LDH به ترتیب ۶۸/۹ و ۵۴ درصد بود. نتایج مطالعه نشان داد که همبستگی بالایی بین LDH و SCC وجود دارد. از لحاظ آماری ارتباط معنی‌داری بین پاسخ نوار و نتیجه تست CMT مشاهده شد که با افزایش درجه CMT درجه پاسخ نوار LDH هم افزایش پیدا کرد. با بررسی اثر روز شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش مشخص شد زمانی که نتیجه تست نوار مثبت باشد، شانس این که دامی مبتلا به ورم پستان تحت بالینی باشد ۵/۵۹ برابر دامی است که نتیجه تست آن منفی باشد. LDH، SCC و CMT با روز شیرواری و تولید شیر رابطه معنی‌داری نداشتند ولی با افزایش تعداد زایش میزان هر سه شاخص افزایش معنی‌داری را نشان دادند.**نتیجه‌گیری نهایی:** نتایج مطالعه نشان داد که از لحاظ کارایی تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو به ترتیب SCC، CMT و استفاده از نوار سنجش LDH بهترین تست‌ها هستند.**کلمات کلیدی:** ورم پستان تحت بالینی، لاکتات دهیدروژناز، شمارش سلول‌های سوماتیک، آزمایش ورم پستان کالیفرنایی، گاو شیری

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: نیما فرزانه، گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

پست الکترونیکی: Farzaneh@um.ac.ir

## مقدمه

ورم پستان از پرهزینه‌ترین بیماری‌ها در صنعت دامپروری گاو شیری است، به نحوی که در حدود ۲۶ درصد کل هزینه بیماری‌ها در گله‌های صنعتی گاو شیری ناشی از این بیماری است. ورم پستان به دو شکل بالینی و تحت بالینی رخ می‌دهد. در اغلب گله‌ها ورم پستان تحت بالینی شایع‌ترین نوع بیماری است و سبب

بیشترین میزان خسارت می‌شود. تشخیص ورم پستان تحت بالینی به علت عدم وجود نشانه‌های قابل رویت سخت است، بنابراین برای تشخیص آن به تست‌های آزمایشگاهی و تست‌های در سطح گله نیاز است (۵،۱۱).

پرتولید و کم‌تولید انتخاب شدند و هر ۴ کارتیه پستان گاوها مورد آزمایش CMT قرار گرفت. بر اساس نتیجه CMT از کارتیه یا کارتیه‌های مورد نظر، ۲ نمونه شیر طبق اصول نمونه‌گیری NMC اخذ شد. یک نمونه برای کشت میکروبی در نظر گرفته شد و نمونه‌ی دیگر برای آزمایش LDH شیر با استفاده از نوار تشخیصی Udder check dipstick (PortaCheck Inc. USA) و آزمایش شمارش سلول‌های سوماتیک استفاده شد.

نمونه‌های شیر در کنار یخ به آزمایشگاه حمل و فوراً کشت داده شدند. به طور خلاصه، نمونه‌ها با محیط هم‌دما شدند و در نهایت بعد از چند بار مخلوط کردن، ۰/۰۱ میلی لیتر از نمونه‌ها برداشته و هم‌زمان در محیط‌های بلاد آگار و مک کانکی آگار کشت داده شدند. محیط‌های کشت به انکوباتور ۳۷ درجه سانتیگراد منتقل گردیدند و بعد از ۲۴-۱۸ ساعت مورد بررسی قرار گرفتند. در لوله دیگر نوار LDH زده شد و مقدار اضافی شیر از روی نوار به وسیله‌ی تکان دادن ریخته شد و پس از ۲ دقیقه، نتیجه بر اساس تغییر رنگ نوار و در مقایسه با چارت موجود بر روی ظرف حاوی نوارها از منفی تا ۳ مثبت قرائت شدند و پس از آن شمارش سلول‌های سوماتیک شیر به وسیله‌ی دستگاه فوزوماتیک ۵۰۰۰ ساخت کشور دانمارک انجام گرفت.

جهت ارزیابی توانایی نوار در تشخیص ورم پستان تحت بالینی منحنی Receiver Operating Characteristic (ROC) رسم و سطح زیر منحنی گزارش شد. سطح زیر منحنی بین ۰/۷ و ۰/۸ fair و سطح زیر منحنی زیر ۰/۷ poor در نظر گرفته شد. سپس حساسیت و ویژگی تست نوار محاسبه و گزارش شد. حساسیت، قابلیت تست در تشخیص درست موارد بیمار (درصدی از بیماران واقعی که توسط تست به درستی مثبت تشخیص داده شده‌اند) و ویژگی، قابلیت تست در تشخیص درست موارد سالم (درصدی از دام‌های سالم واقعی که توسط تست به درستی منفی تشخیص داده شده‌اند) می‌باشد. برای بررسی رابطه پاسخ نوار و وضعیت واقعی ورم پستان تحت بالینی با کنترل اثر تعداد زایش، میزان تولید شیر و روز شیرواری از روش رگرسیون لوجستیک استفاده شد. رابطه پاسخ نوار و میزان SCC و نیز رابطه پاسخ نوار با پاسخ تست CMT توسط آزمون Spearman's correlation test مورد ارزیابی قرار گرفت و برای بررسی رابطه پاسخ نوار و نتیجه کشت از روش Chi-square test استفاده شد.

پاسخ سیستم ایمنی حیوانات به التهاب، افزایش تعداد گلبول‌های سفید در پستان است. این مکانیسم دفاعی به وسیله‌ی ترشح چند آنزیم از جمله لاکتات دهیدروژناز (LDH) گلبول‌های سفید را همراهی می‌کند. با افزایش شدت پاسخ التهابی، میزان این آنزیم نیز افزایش می‌یابد. افزایش غلظت لاکتات دهیدروژناز در شیر شاخصی مناسب برای از بین رفتن بافت و نشان دهنده‌ی آلودگی فعال است. LDH با تعداد سلول‌های سوماتیک (SCC) شیر در ارتباط است اما نکته‌ی مثبت LDH آن است که به راحتی تحت تأثیر شرایط دیگر مانند استرس، تغذیه و دوره‌ی شیرواری قرار نمی‌گیرد. میزان LDH غالباً زودتر از میزان SCC افزایش می‌یابد که شاخصی بسیار خوب برای تشخیص زود هنگام عفونت پستان است. اخیراً چند مدل از ماشین‌های شیردوشی میزان LDH را برای مراقبت از سلامت پستان به عنوان شاخصی از ورم پستان اندازه می‌گیرند (۷،۹).

آزمایش Uddercheck Dipstick (PortaCheck Inc. USA) روشی مؤثر جهت تشخیص میزان افزایش LDH در شیر است (۱۲). پد معرف دارای یک لایه ثابت به نام ال لاکتات است. در جریان یکسری واکنش‌های آنزیمی این ماده به وسیله‌ی لاکتات دهیدروژناز شیر اکسید شده، در حالی که هم‌زمان اندیکاتور نیتروترازولیوم آبی به فورمازان بنفش کاهش می‌یابد. غلظت نهایی رنگ فورمازان متناسب با غلظت لاکتات دهیدروژناز شیر است.

امروزه سیستم‌های تشخیص ورم پستان بسیار تخصصی شده‌اند. هم‌زمان با افزایش تمرکز بر کیفیت شیر، پیشرفت‌هایی نیز در زمینه تکنولوژی‌های تشخیص در سطح گله حاصل شده است. ارزیابی مؤثر بودن سیستم تشخیص بیماری با برآورد میزان حساسیت و ویژگی آن سیستم صورت می‌پذیرد. هدف از مطالعه حاضر ارزیابی دقت تشخیص ورم پستان تحت بالینی با استفاده از نوارهای تشخیص لاکتات دهیدروژناز است. همچنین برای اولین بار عملکرد و دقت ارزیابی ورم پستان تحت بالینی با استفاده از این نوارها با توجه به روزهای شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش کار

مطالعه حاضر بر روی ۱۰۶ رأس گاو شیری نژاد هلشتاین در دو واحد صنعتی در اطراف شهر مشهد با ۸۰۰ و ۵۰۰ رأس گاو دوشا انجام شد. گاوها به صورت تصادفی از بین گاوهایی

جدول ۱. نتایج کشت شیر در دو گاوداری.

گاوداری ۲ (تعداد= ۷۲)		گاوداری ۱ (تعداد= ۸۱)		
درصد	تعداد	درصد	تعداد	میگروارگانیزم
۶/۹۴	۵	۲۹/۶۲	۲۴	استافیلوکوکوس اورئوس
۴/۱۶	۳	۹/۸۷	۸	استرپتوکوکوس دیس گلاکتیه
۲/۷۷	۲	۴/۷	۶	استرپتوکوکس بوبریس
۵/۵۵	۴	۶/۱۷	۵	استافیلوکوکوس های کواگولاز منفی (CNS)
۴/۱۶	۳	۶/۱۷	۵	کورینه باکتریوم
۴/۱۶	۳	۶/۱۷	۵	باسیلوس
۲/۷۷	۲	۲/۴	۲	مخمر و قارچ
۴/۱۶	۳	۳/۶	۳	سایر موارد

جدول ۲. رابطه پاسخ نوار LDH و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش.

P value	O.R	S.E	$\beta$	
۰/۰۱۳	۴/۳۴۶	۰/۵۹۱	۱/۴۶۹	LDH مثبت
۰/۶۹۸	۱/۰۰۱	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	روزهای شیرواری
۰/۸۳۹	۱/۰۳۲	۰/۱۵۴	۰/۰۳۱	تعداد زایش
۰/۰۳۹	۰/۹۲۵	۰/۰۳۸	-۰/۰۷۸	میزان تولید

\* $\beta$ = regression coefficient. \*S.E= Standard error. \*O.R= Odds Ratio.

جدول ۳. رابطه نتیجه SCC و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش.

P value	O.R*	S.E*	$\beta$	
۰/۰۱۸	۴/۱۱۲	۰/۵۹۹	۱/۴۱۴	SCC>۲۰۰۰۰۰
۰/۹۷۲	۱/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	روزهای شیرواری
۰/۸۷۱	۱/۰۲۶	۰/۱۵۷	۰/۰۲۶	تعداد زایش
۰/۰۴۶	۰/۹۲۸	۰/۰۳۷	-۰/۰۷۴	میزان تولید

\* $\beta$ = regression coefficient. \*S.E= Standard error. \*O.R= Odds Ratio.

جدول ۴. رابطه پاسخ CMT و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش.

P value	O.R*	S.E*	$\beta$	
۰/۰۰۶	۷/۳۷۹	۰/۷۲۷	۱/۹۹۹	CMT مثبت
۰/۹۴۹	۱/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰	روزهای شیرواری
۰/۶۱۵	۱/۰۷۶	۰/۱۴۵	۰/۰۷۳	تعداد زایش
۰/۰۵۶	۰/۹۳۰	۰/۰۳۸	-۰/۰۷۲	میزان تولید

\* $\beta$ = regression coefficient. \*S.E= Standard error. \*O.R= Odds Ratio.

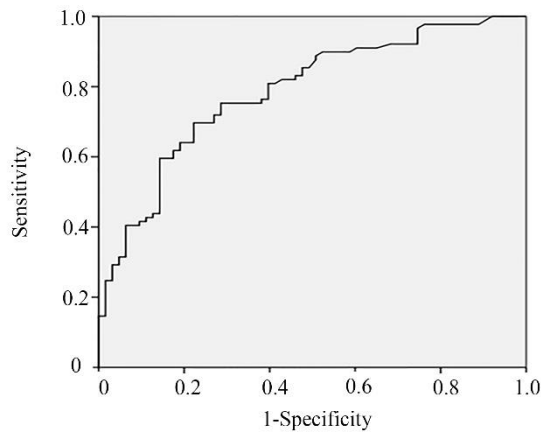
## نتایج

۳۲ (۴۰/۵۲ درصد) منفی، ۵۳ مورد (۳۴/۶۴ درصد) یک مثبت، ۳۲ مورد (۲۰/۹۱ درصد) دو مثبت و ۶ مورد (۳/۹۲ درصد) سه مثبت بود.

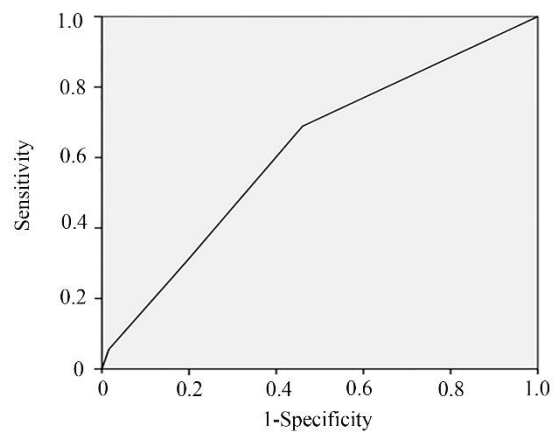
### حساسیت، ویژگی و منحنی ROC تست نوار LDH:

زمانی که کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد در نظر گرفته شد، حساسیت و ویژگی تست LDH به ترتیب ۶۸/۹ و ۵۴ درصد بود. رسم منحنی ROC نشان داد که نوار LDH از نظر استفاده برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی در رده poor قرار می گیرد (Area under curve=۰/۶۲) (نمودار ۱).

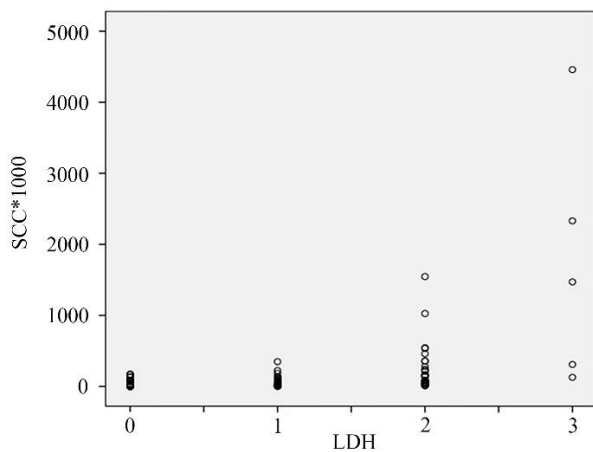
نتایج ردیابی ورم پستان بالینی و آزمایش CMT در دو گاوداری مورد مطالعه نشان داد که از مجموع ۱۵۳ کارتیه مورد آزمایش تعداد و درصد موارد طبیعی، خفیف (Trace)، یک، دو و سه به ترتیب ۲۷ (۱۷/۶۴ درصد)، ۱۲ (۷/۸۴ درصد)، ۵۰ (۳۲/۶۷ درصد)، ۳۷ (۲۴/۱۸ درصد) و ۲۵ (۱۶/۳۳ درصد) بود. همچنین ۲ مورد (۱/۳ درصد) ورم پستان بالینی مشاهده شد. در کشت میکروبی ۹۰ مورد (۵۸ درصد) مثبت و ۶۳ مورد (۴۲ درصد) منفی بود (جدول ۱). نتیجه نوار LDH شامل ۶۲ مورد



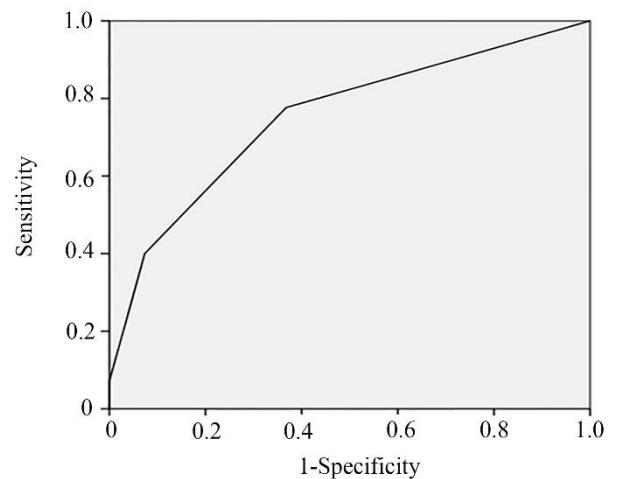
نمودار ۲. منحنی ROC مربوط به SCC براساس نتیجه تست کشت.



نمودار ۱. منحنی ROC مربوط به LDH براساس نتیجه کشت.



نمودار ۴. رابطه پاسخ نوار LDH و میزان SCC در تشخیص ورم پستان تحت بالینی.



نمودار ۳. منحنی ROC مربوط به CMT براساس نتیجه کشت.

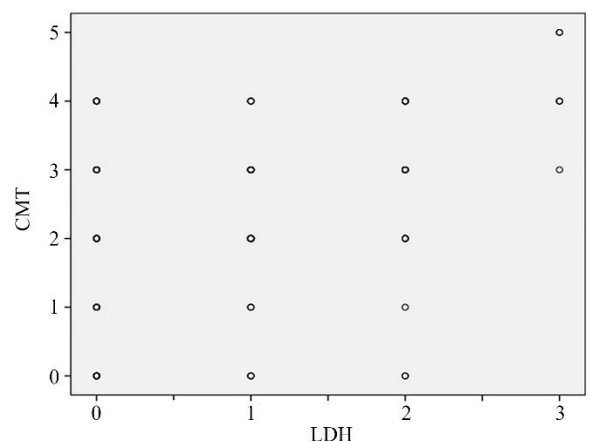
ورم پستان تحت بالینی در رده Fair قرار می‌گیرد (Area under curve = ۰/۷۹) (نمودار ۲). زمانی که کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد در نظر گرفته شد، حساسیت و ویژگی تست SCC به ترتیب ۷۴/۴ و ۷۱/۴ درصد بود.

#### حساسیت، ویژگی و منحنی ROC تست CMT:

رسم منحنی ROC نشان داد CMT از نظر استفاده برای تشخیص ورم پستان تحت بالینی در رده Fair قرار می‌گیرد (Area under curve = ۰/۷۷) (نمودار ۳).

#### حساسیت و ویژگی تست CMT: حساسیت و ویژگی

تست CMT در صورتی که نتیجه CMT به صورت ۲ حالت منفی (N, T) و مثبت (۱، ۲ و ۳) و کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد در نظر گرفته شد به ترتیب ۹۳/۳ درصد و ۵۰/۸ درصد بود. همچنین حساسیت و ویژگی تست CMT



نمودار ۵. رابطه پاسخ نوار LDH و نتیجه تست CMT در تشخیص ورم پستان تحت بالینی.

#### حساسیت، ویژگی و منحنی ROC تست SCC: رسم

منحنی ROC نشان داد که SCC از نظر استفاده برای تشخیص

SCC، LDH و CMT با روز شیرواری و تولید شیر رابطه معنی‌داری نداشتند ولی با افزایش تعداد زایش میزان هر سه شاخص افزایش معنی‌داری را نشان دادند.

### بحث

از آنجایی که ورم پستان از مهم‌ترین بیماری‌ها در سطح گله‌های گاو شیری است لذا تشخیص دقیق و سریع آن اهمیت بیشتری پیدا کرده و نیاز به روش تشخیصی مناسب برای این بیماری کاملاً ضروری است. هدف از مطالعه حاضر بررسی کارایی استفاده از نوارهای LDH در تشخیص ورم پستان تحت بالینی و همچنین بررسی ارتباط آن در گروه‌های مختلف بر اساس میزان تولید و مرحله شیرواری بود. محققین در مطالعه حاضر به دنبال آن بودند که در صورت کارایی بیشتر این روش نسبت به روش‌های تشخیصی CMT، SCC و کشت و با توجه به صرفه جویی در هزینه، وقت و امکان تشخیص سریع‌تر نسبت به سایر تست‌ها روش تشخیصی مناسبی را جهت استفاده در سطح دامداری ارائه کنند.

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که استفاده از نوار تشخیصی LDH در مقایسه با روش تشخیص گلد استاندارد مشتمل بر کشت مثبت و SCC بیشتر از ۲۰۰۰۰۰ دارای حساسیت ۷۵/۴ درصد و ویژگی ۵۳/۶ درصد است که میزان حساسیت مشابه نتیجه‌ی به دست آمده در مطالعه Chagunda و همکاران در سال ۲۰۰۶ بود که در دو گروه شامل گاوهای سالم و گاوهای مبتلا به ورم پستان میزان NAGase و LDH را به وسیله‌ی فلورومتر اندازه‌گیری کردند و نشان دادند که رابطه‌ی SCC و LDH در گاوهای مبتلا به ورم پستان بالینی بسیار قوی‌تر از این رابطه در گاوهای سالم و حساسیت تست LDH بالاتر از تست NAGase است (حساسیت تست LDH ۷۳ درصد و ویژگی آن ۹۲ درصد بود) (۲). تفاوت در میزان ویژگی با مطالعه حاضر می‌تواند به خاطر نوع دسته بندی متفاوت و در نظر گرفتن SCC بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ هزار باشد در حالی که در مطالعه حاضر SCC بیشتر از ۲۰۰۰۰۰ در نظر گرفته شد.

همچنین نتایج مطالعه حاضر نشان داد که رابطه معنی‌داری بین تست LDH و میزان SCC وجود دارد و با افزایش میزان SCC درجه پاسخ تست LDH هم افزایش پیدا کرد ( $P < 0/001$ ) (۴). این نتیجه مشابه صورت گرفته توسط Hiss و همکاران در سال ۲۰۰۷ و Chagunda و همکاران در سال ۲۰۰۶ بود (۲، ۶).

در صورتی که نتیجه CMT به ۲ حالت منفی (N) و مثبت (T)، ۱، ۲ و ۳) و کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد در نظر گرفته شد به ترتیب ۹۵/۶ درصد و ۳۴/۹ درصد بود.

**رابطه پاسخ نوار و میزان SCC:** رابطه معنی‌داری بین پاسخ نوار و میزان SCC مشاهده شد. با افزایش میزان SCC درجه پاسخ نوار هم افزایش پیدا کرد ( $r=0/6$ ) ( $P < 0/001$ ) (نمودار ۴).

**رابطه پاسخ نوار و نتیجه تست CMT:** رابطه معنی‌داری بین پاسخ نوار و نتیجه تست CMT مشاهده شد. با افزایش درجه CMT درجه پاسخ نوار هم افزایش پیدا کرد ( $r=0/44$ ) ( $P < 0/001$ ) (نمودار ۵).

**رابطه پاسخ نوار و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش:** زمانی که پاسخ نوار به ۲ حالت منفی و مثبت در نظر گرفته شد، با کنترل اثر روز شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش، دامی که از نظر نتیجه تست نوار LDH مثبت بود شانس این‌که مبتلا به ورم پستان تحت بالینی باشد ۴/۳۵ برابر دامی بود که نتیجه تستش منفی بود ( $P=0/013$ ) ( $OR=4/35$ ) (جدول ۲). در نمونه‌هایی که نتیجه تست نوار LDH، ۱ یا بالاتر بود (مثبت)، درصد مواردی که در کشت، باکتری محیطی ( $P=0/009$ ) یا واگیردار ( $P=0/029$ ) جدا شد به صورت معنی‌داری بالاتر از نمونه‌هایی بود که نتیجه‌ی تست نوار LDH صفر بود.

**رابطه نتیجه SCC و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش:** زمانی که نتیجه SCC به دو حالت منفی و مثبت در نظر گرفته شد، با کنترل اثر روز شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش، دامی که تعداد SCC بیشتر از ۲۰۰۰۰۰ داشت، شانس این‌که مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بوده باشد ۴/۱۱ برابر دامی بود که نتیجه تستش منفی بود ( $P=0/018$ ) ( $OR=4/11$ ) (جدول ۳).

**رابطه پاسخ CMT و نتیجه کشت با کنترل میزان تولید شیر، روز شیرواری و تعداد زایش:** در صورتی که نتیجه CMT به دو حالت منفی (N, T) و مثبت (۱، ۲ و ۳) در نظر گرفته شد، با کنترل اثر روز شیرواری، میزان تولید و تعداد زایش، در دامی که نتیجه CMT مثبت بود شانس این‌که مبتلا به ورم پستان تحت بالینی باشد ۷/۳۸ برابر دامی بود که نتیجه تستش منفی بود ( $P=0/006$ ) ( $OR=7/38$ ) (جدول ۴).

پستان استفاده نشد بلکه از لگاریتم مثبت و منفی این تست استفاده شد که این مورد توانست بر دقت کار طی تقسیم بندی گاوها بیافزاید و خود دلیلی بر افزایش میزان حساسیت و ویژگی تست بعد از دقت در دسته بندی گاوها باشد (۳).

Guha و همکاران در سال ۲۰۱۲ مطالعه‌ای را بر روی عناصر کمیاب و LDH در شیر گاومیش انجام دادند. در این مطالعه میزان LDH توسط کیت تجاری اندازه‌گیری شد و نشان داد که در گروه دارای ورم پستان تحت بالینی و به ویژه آن‌هایی که درگیر با عفونت استرپتوکوکی بودند میزان LDH بیشتر بود. حساسیت LDH در تشخیص ورم پستان تحت بالینی ۳۴ درصد و ویژگی آن ۹۲ درصد بود (۴).

Kalantari و همکاران در سال ۲۰۱۳ در مطالعه‌ای به دنبال یافتن جایگزین برای SCC و کشت در تشخیص ورم پستان تحت بالینی، ۱۴۵ رأس گاو را که از لحاظ بالینی سالم بودند جدا نموده و بر اساس نتیجه کشت و میزان SCC در دو گروه تقسیم کردند. بر این اساس ۷۷ رأس گاو با کشت مثبت و SCC بالاتر از ۱۰۰۰۰۰ در گروه ورم پستان تحت بالینی و بقیه گاوها (۷۸ رأس) در گروه سالم قرار گرفتند. آنزیم‌های ALP و LDH در خون و شیر این گاوها با استفاده از کیت‌های تجاری اندازه‌گیری شد. میانگین فعالیت آنزیم‌ها در گاوهای مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بیشتر بود و LDH دارای حساسیتی به میزان ۹۴/۱ درصد و ویژگی ۹۴/۸ درصد بود (۸).

مطالعه Kalanatri و همکاران در سال ۲۰۱۳ در میزان حساسیت و ویژگی با نتایج مطالعه حاضر متفاوت بود که احتمالاً به علت تفاوت در دسته بندی گاوها (در مطالعه Kalanatri و همکاران در سال ۲۰۱۳ از SCC بیشتر از ۱۰۰۰۰۰ استفاده شد در صورتی که در مطالعه حاضر از SCC بالاتر از ۲۰۰۰۰۰ استفاده شد) و همچنین اندازه‌گیری توسط کیت‌های تجاری و دستگاه اسپکتروفتومتر بود (۸).

هدف از مطالعه حاضر مقایسه برخی از روش‌های ردیابی ورم پستان تحت بالینی در سطح گله بود. نتایج حساسیت و ویژگی تست‌ها به این صورت بود که با در نظر گرفتن کشت به عنوان روش تشخیص گلد استاندارد، حساسیت تست SCC، LDH و CMT به ترتیب ۷۴، ۶۹ و ۹۳/۳ درصد بود. همچنین ویژگی این تست‌ها به ترتیب ۷۱، ۵۴ و ۵۰/۸ درصد بود. از لحاظ کارایی

در مطالعه Hiss و همکاران در سال ۲۰۰۷ میزان LDH به وسیله دستگاه آنالیزور اندازه‌گیری شد و نشان داد که میزان LDH در نمونه‌هایی که از نظر کشت مثبت بودند از میزان آن در نمونه‌هایی با کشت منفی بیشتر بود که نشان دهنده وجود همبستگی قوی بین میزان LDH و SCC بود. در مطالعه حاضر حساسیت و ویژگی تست LDH به ترتیب ۸۰ و ۸۷ درصد بود (۶).

در مطالعه حاضر نشان داده شد که رابطه معنی‌داری بین پاسخ تست تشخیصی نوار LDH و نتیجه تست CMT وجود دارد. با افزایش درجه CMT درجه پاسخ نوار هم افزایش پیدا کرد ( $P < 0.001$ ) ( $r = 0.44$ ) که این نتیجه مشابه مطالعات صورت گرفته توسط سایر محققین بود (۱۰، ۱۱).

در سال ۲۰۰۹ مطالعه بر روی ۶۰ رأس گاو شیری سالم و مبتلا به ورم پستان تحت بالینی در سه دامداری ارومیه انجام گرفت و فعالیت LDH در مطالعه توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. نتایج این مطالعه نشان داد که میانگین LDH در شیرهای اخذ شده از گاوهای دارای ورم پستان تحت بالینی بالاتر از میزان آن در شیرهای اخذ شده از گاوهای سالم بود. در این مطالعه میزان LDH در خون نیز اندازه‌گیری شد که تفاوتی بین گروه سالم و گروه دارای ورم پستان تحت بالینی مشاهده نشد (۱۰).

در مطالعه دیگری که بر روی ۷۲ رأس گاو انجام گرفت (۳۵ رأس گاو CMT مثبت که SCC آن‌ها بیشتر از ۵۰۰۰۰۰ بود در گروه ورم پستان تحت بالینی و بقیه در گروه گاوهای سالم)، فاکتورهای مختلفی از جمله سدیم، کلر، آلومین و LDH اندازه‌گیری شد. در گروه ورم پستان تحت بالینی میزان LDH شیر بالاتر از گروه کنترل بود در حالی که میزان آن در خون دو گروه تفاوتی نداشت (۱).

Friggens و همکاران در سال ۲۰۰۷ در ۲۵۳ رأس گاو کاملاً سالم و مبتلا به ورم پستان تغییرات LDH را بررسی کردند. پروفایل این دو گروه در یک بازه ۶۰ روزه مبنی بر عدم وجود سابقه‌ی درمانی و نوع انحراف میزان SCC در تقسیم بندی گاوها مورد استفاده قرار گرفت و با اندازه‌گیری میزان LDH به این نتیجه رسیدند که حساسیت این تست در تشخیص ورم پستان بالینی ۹۲ درصد و ویژگی آن ۹۷ درصد است. در این مطالعه یک پروفایل دو ماهه برای تقسیم بندی گاوها استفاده شد و از یک عدد ثابت SCC برای تفریق دو دسته گاوهای سالم و مبتلا به ورم

صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. بودجه انجام طرح از دانشگاه فردوسی مشهد و با کد ۳/۳۳۵۴۱ در تاریخ ۱۳۹۳/۱۱/۱۲ تأمین گردید.

### تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

تشخیص ورم پستان تحت بالینی در گاو تست‌های SCC، CMT و استفاده از نوار سنجش LDH به ترتیب بهترین روش‌ها هستند.

### سپاسگزاری

از آقای مهندس سید علی کارگر و خانم دکتر نیلوفر تشکری در پلی‌کلینیک تخصصی دانشکده دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد که در اجرای این طرح و تصحیح مقاله همکاری داشتند

### References

1. Batavani, R., Asri, S., Naebzadeh, H. (2007). The effect of subclinical mastitis on milk composition in dairy cows. *Iran J Vet Res*, 8(3), 205-11. <http://doi.org/10.22099/ijvr.2007.925>
2. Chagunda, M., Friggens, N., Rasmussen, M.D., Larsen, T. (2006). A model for detection of individual cow mastitis based on an indicator measured in milk. *J Dairy Sci*, 89(8), 2980-98. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72571-1](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72571-1)
3. Friggens, N., Chagunda, M., Bjerring, M., Ridder, C., Hojsgaard, S., Larsen, T. (2007). Estimating degree of mastitis from time-series measurements in milk: a test of a model based on lactate dehydrogenase measurements. *J Dairy Sci*, 90(12), 5415-27. <http://doi.org/10.3168/jds.2007-0148>
4. Guha, A., Gera, S., Sharma, A. (2012). Evaluation of milk trace elements, lactate dehydrogenase, alkaline phosphatase and aspartate aminotransferase activity of subclinical mastitis as an indicator of subclinical mastitis in riverine buffalo (*Bubalus bubalis*). *Asian Austral J Anim*, 25(3), 353. <http://doi.org/10.5713/ajas.2011.11426>
5. Gussmann, M., Steeneveld, W., Kirkeby, C., Hogeveen, H., Farre, M., Halasa, T. (2019). Economic and epidemiological impact of different intervention strategies for subclinical and clinical mastitis. *Prev Vet Med*, 166, 78-85. <https://doi.org/10.1016/j.prevetmed.2019.03.001>
6. Hiss, S., Mueller, U., Neu-Zahren, A., Sauerwein, H. (2007). Haptoglobin and lactate dehydrogenase measurements in milk for the identification of subclinically diseased udder quarters. *Vet Med-Czech*, 52(6), 245.
7. Jassim, H., Abdul-Wadood, I. (2019). Efficacy of reliable milk and blood biomarkers for diagnosing clinical and subclinical bovine mastitis. *Adv Anim Vet Sci*, 7(10), 898-903. <http://dx.doi.org/10.17582/journal.aavs/2019/7.10.898.903>
8. Kalantari, A., Safi, S., Foroushani, A.R. (2013). Milk lactate dehydrogenase and alkaline phosphatase as biomarkers in detection of bovine subclinical mastitis. *Ann Biol Res*, 4(2), 302-7.
9. Khatun, M., Bruckmaier, R., Thomson, P., House, J., García, S. (2019). Suitability of somatic cell count, electrical conductivity, and lactate dehydrogenase activity in foremilk before versus after alveolar milk ejection for mastitis detection. *J Dairy Sci*, 102(10), 9200-12. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15752>
10. Mohammadian, B. (2011). The effect of subclinical mastitis on lactate dehydrogenase in dairy cows. *Int J Anim Vet Adv*, 3(3), 161-3.
11. Subramanian, T., Senthilkumar, T.M.A., Vijayarani, K., Meenakshisundaram, S., Venkataramanan, R. (2019). Incidence and factors affecting subclinical and clinical mastitis in selected organised dairy farms located in tamil nadu. *J Anim Res*, 9(2), 303-9. <http://doi.org/10.30954/2277-940X.02.2019.14>
12. Viguier, C., Arora, S., Gilmartin, N., Welbeck, K., O'Kennedy, R. (2009). Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends Biotechnol*, 1, 27(8), 486-93. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2009.05.004>



## Evaluating the Accuracy of the Diagnosis of Subclinical Mastitis Using Lactate Dehydrogenase-Based Dipsticks

Seyed Saeid-Reza Sajadi<sup>1</sup>, Babak Khoramian<sup>2</sup>, Mohammad Azizzadeh<sup>2</sup>, Nima Farzaneh<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Graduated from the Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

<sup>2</sup> Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

doi [10.22059/jvr.2020.298535.3027](https://doi.org/10.22059/jvr.2020.298535.3027)

Received: 31 February 2021, Accepted: 20 April 2021

### Abstract

**BACKGROUND:** Mastitis could be detected in various ways, including physical, on-farm, and laboratory tests.

**OBJECTIVES:** The present research aimed to evaluate the accuracy of the diagnosis of mastitis using lactate dehydrogenase (LDH)-based dipsticks and to assess these dipsticks with regard to the effects of different lactation days, the amount of milk production, and parity.

**METHODS:** In the present study, 106 Holstein dairy cows were randomly selected between high and low-yielding cows. Based on the results of California Mastitis Test (CMT), two milk samples were collected from considered quarter(s) regarding National Mastitis Council (NMC) instructions. One milk sample was considered for bacteriologic culture and the other one for testing LDH in milk utilizing dipsticks and somatic cell count (SCC).

**RESULTS:** Considering bacteriologic culture as a gold standard method for the diagnosis of subclinical mastitis, the sensitivity and specificity of LDH test were 68.9 % and 54 %, respectively. The results revealed a high correlation between SCC and LDH. A statistically significant relationship was observed between the response of dipstick and CMT results; with the increase in the CMT score, the score of LDH dipstick increased. By investigating the effects of lactation days, the amount of milk production, and parity, it was determined that the chance of having subclinical mastitis in cows with positive dipstick result was 5.59 times greater than that in cows with negative dipstick result. There were no significant relationships among SCC, LDH, and CMT with lactation days and milk production; meanwhile, with the increase in parity, the three above-mentioned variables showed significant increase.

**CONCLUSIONS:** The results of the present study indicated that the best methods for subclinical mastitis detection were SCC, CMT, and LDH based dipsticks, respectively.

**Keywords:** Subclinical Mastitis, Lactate Dehydrogenase, Somatic Cell Count, California Mastitis Test, Dairy Cows

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: Farzaneh@um.ac.ir Tel/Fax: 051-33805629/051-36579105

### How to cite this article:

Sajadi, S., Khoramian, B., Azizzadeh, M., Farzaneh, N. (2021). Evaluating the Accuracy of the Diagnosis of Subclinical Mastitis Using Lactate Dehydrogenase-Based Dipsticks. J Vet Res, 76(2), 260-267. <https://doi.org/10.22059/jvr.2020.298535.3027>

### Figure Legends and Table Captions

**Table 1.** The results of milk culture in two dairy farms.

**Table 2.** Relationships between LDH-based dipsticks and culture results according to milk production, DIM, and parity.

**Table 3.** Relationships between SCC and culture results according to milk production, DIM, and parity.

**Table 4.** Relationships between CMT and culture results according to milk production, DIM, and parity.

**Graph 1.** Receiver operating characteristic (ROC) curve for LDH using culture as the gold standard.

**Graph 2.** Receiver operating characteristic (ROC) curve for SCC using culture as the gold standard.

**Graph 3.** Receiver operating characteristic (ROC) curve for CMT using culture as the gold standard.

**Graph 4.** Comparison of LDH-based dipsticks and SCC for detection of subclinical mastitis.

**Graph 5.** Comparison of LDH-based dipsticks and CMT for detection of subclinical mastitis.