



## ARAŞTIRMA

F.Ü.Sağ.Bil.Vet.Derg.  
2011: 25 (2): 67 - 70  
<http://www.fusabil.org>

### İneklerin Sütündeki MDA, GSH Düzeyleri ile GSH-Px, CAT Aktiviteleri Üzerine Subklinik Mastitisin Etkisi

Mine ERIŞİR<sup>1</sup>  
Fatih Mehmet KANDEMİR<sup>2</sup>  
Murat YÜKSEL<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Elazığ, TÜRKİYE

<sup>2</sup>Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Erzurum, TÜRKİYE

<sup>3</sup>Fırat Üniversitesi,  
Veteriner Fakültesi,  
Doğum ve Jinekoloji  
Anabilim Dalı  
Elazığ, TÜRKİYE

Subklinik mastitis sık karşılaşılan mastitis formu olup süt üretiminde azalma ve süt kalitesinde düşme ile karakterizedir. Bu çalışmada subklinik mastitisin ineklerin sütündeki oksidan (malondialdehit, MDA) ve antioksidan (glutasyon, GSH; glutasyon peroksidaz, GSH-Px ve katalaz, CAT) durum üzerine etkisinin araştırılması amaçlandı. Araştırmanın materyalini, yaşları 4-8 arasında değişen, farklı ırklardan, toplam 40 baş inek oluşturdu. İneklerde mastitis teşhisi California Mastitis Testi (CMT) ve bakteriyolojik muayene ile yapıldı. Kontrol, CMT<sup>1</sup>, CMT<sup>2</sup>, CMT<sup>3</sup> olmak üzere dört grup oluşturuldu. Mastitis teşhisi konulan meme loblarından süt numunesi alınarak MDA ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri ölçüldü. MDA düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktivitelerinde istatistik açıdan önemli fark bulunmadı (P>0.05). Bununla birlikte, mastitisin derecesine bağlı olarak GSH-Px aktivitesinde istatistik olarak önemli olmayan azalma tespit edildi. Süt GSH düzeyinde mastitisin derecesine bağlı olarak saptanan azalma CMT<sup>3</sup> şiddetindeki mastitisde istatistik olarak önemli bulundu (P<0.001). GSH oksidatif hasardan dokuları korumada ve lökositler tarafından fagositozda etkilidir. CMT<sup>3</sup> şiddetindeki mastitisde sütte GSH düzeyinin önemli azalması antioksidanların bu aşamada yetersiz kalabileceğine işaret eder.

**Anahtar sözcükler:** Subklinik mastitis, malondialdehit, glutasyon, glutasyon peroksidaz, katalaz.

#### The Effect of Subclinical Mastitis on MDA, GSH Levels and GSH-Px, CAT Activities in Milk of Cows

Subclinical mastitis is one of the most observed mastitis forms in dairy cattle resulting in decreased milk production and quality. The aim of this study was to investigate the oxidant (malondialdehyde, MDA) and antioksidan (glutathione, GSH; glutathione peroxidase, GSH-Px; catalase, CAT) status in milk of cows with subclinical mastitis. A total of 40 cows, 4-8 ages and various breeds, were used as experimental material. Subclinical mastitis was diagnosed by California Mastitis Test (CMT) and bacteriological examination of milk samples. Four groups consisted of control, CMT<sup>1</sup>, CMT<sup>2</sup>, CMT<sup>3</sup> were designed. The milk samples from mammary lobes with mastitis were collected. MDA, GSH levels and GSH-Px, CAT activities in the milk were determined. No statistically significant difference was found MDA level and GSH-Px, CAT activities (P>0.05). However, with increasing mastitis degree, GSH-Px activity was decreased but not significantly. Decreasing in milk GSH levels with increasing mastitis degree was found statistically significant for CMT<sup>3</sup> mastitis (P<0.001). GSH is effective in protecting tissues from oxidative damage and in phagocytosis by leukocytes. Decreasing in milk GSH levels in CMT<sup>3</sup> mastitis degree indicates an insufficient of antioxidants in this mastitis degree.

**Keywords:** Subclinical mastitis, malondialdehyde, glutathione, glutathione peroxidase, catalase.

#### Giriş

Mastitis, memenin parankim dokusu, süt kanalları ve interstisyel dokusunun yangısı olarak bilinir. Mastitis genellikle laktasyon ile ilişkili olup, oluşum nedenine göre enfeksiyöz, travmatik veya toksik, seyrine göre klinik veya subklinik, süresine göre de akut veya kronik olarak sınıflandırılmaktadır. Mastitisin sebepleri, hazırlayıcı ve yapıcı sebepler olmak üzere ikiye ayrılır. Yapıcı sebeplerin en önemlileri mikroorganizmalardır. Dünyanın birçok ülkesinde ve tüm evcil hayvanlarda görülen bu hastalık, süt ineklerinde süt miktarında azalma, üretilen süt ve süt ürünlerinde kalite düşüklüğü nedeni ile önemli ekonomik kayıplara yol açar (1, 2).

Subklinik mastitis en sık karşılaşılan mastitis formudur. Memede makroskopik olarak yangı ve sütte gözle görülür bir değişiklik olmamasına rağmen süt üretiminde azalma ve süt kalitesinde düşmeye sebep olur (2). Subklinik mastitis diğer mastitislere oranla daha fazla şekillenmesi ve %3-26 oranında süt kaybına neden olmasından dolayı önemlidir (3).

Serbest radikal eşlenmemiş elektron taşıyan atom veya atom gruplarıdır (4). Serbest radikallerin zararlı etkilerinden korunmak için hücreler enzimatik ve nonenzimatik antioksidan savunma sistemlerini kullanırlar. Serbest oksijen radikalleri başlıca; superoksid dismutaz (SOD), glutasyon peroksidaz (GSH-Px), katalaz (CAT) gibi enzimatik ve glutasyon (GSH), α-tokoferol, karotenoidler ve C-vitamini gibi enzimatik olmayan çeşitli

#### Yazışma Adresi Correspondence

Fatih Mehmet KANDEMİR  
Atatürk Üniversitesi  
Veteriner Fakültesi  
Biyokimya Anabilim Dalı  
Erzurum - TÜRKİYE

fmk\_03@mynet.com

Geliş Tarihi : 17.12.2010  
Kabul Tarihi : 07.07.2011

antioksidanlarla uzaklaştırılabilir (5, 6). Serbest radikallerin artmış üretimi ve mevcut antioksidan moleküller arasındaki dengesizlik oksidatif strese sebep olur (7). Mastitisin teşhisi, meme ve sütün klinik muayenesi, sütün kimyasal, fiziksel, hücresel ve mikrobiyolojik muayenesi ile yapılabilmektedir. Ayrıca bu hastalığın kan ve vücut sıvılarında meydana getirdiği biyokimyasal değişiklikler de araştırılmıştır (8). Mastitisli ineklerin kanında oksidan ve antioksidan parametrelerin değişimi ile ilgili çeşitli araştırmalar yapılmasına rağmen (1, 9-13) mastitisin sütün oksidan (MDA) (9, 14) ve antioksidan (GSH, GSH-Px ve CAT) (10) durumunu nasıl etkilediği ile ilgili sınırlı sayıda çalışmaya rastlanılmıştır. Bu nedenle subklinik mastitisin ineklerin sütündeki oksidan (MDA) ve antioksidan (GSH, GSH-Px ve CAT) parametreleri nasıl etkilediğinin araştırılması amaçlanmıştır.

### Gereç ve Yöntem

Çalışmanın materyalini Fırat Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Kliniğine getirilen, yaşları 4-8 arasında değişen, farklı ırklardan, toplam 40 baş inek oluşturdu. İneklerde mastitis teşhisi California Mastitis Test (CMT) ve bakteriyolojik muayene ile yapıldı. Mastitis teşhisi konulan meme loblarının meme başı deliği çevresi, etil alkollü (%70) pamukla temizlendikten sonra, bu meme loblarından steril tüplere yaklaşık 5 ml süt numunesi alındı. Hayvanlardan alınan süt numuneleri, 2 saat içerisinde bakteriyolojik muayenelerin yapılması için, F.Ü. Veteriner Fakültesi Mikrobiyoloji laboratuvarına ulaştırıldı. Sütünde klinik olarak herhangi bir bozukluk bulunmayan fakat CMT ve mikrobiyolojik muayeneye pozitif cevap veren hayvanlar subklinik mastitisli grubu (n=30), negatif cevap verenler ise kontrol grubunu oluşturdu (n=10). CMT muayenesine göre subklinik mastitisli sütler CMT<sup>+1</sup> (n=10), CMT<sup>+2</sup> (n=10), CMT<sup>+3</sup> (n=10) olmak üzere 3 gruba ayrıldı.

Alınan sütler 3000 g'de 10 dakika santrifüj edilerek üst kısımda biriken yağ uzaklaştırıldı. Geriye kalan sütte CAT ve GSH-Px aktivitesi ile MDA ve GSH seviyesi belirlendi.

MDA seviyesi Placer ve ark. (15)'nin metoduna göre tespit edildi. Oluşan MDA, tiyobarbitürük asitle (TBA) pembe renkli bir kompleks oluşturmakta ve bu çözeltinin absorbansı 532 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek lipid peroksidasyonun derecesi saptanmaktadır. MDA düzeyi nmol/ml olarak hesaplandı.

GSH-Px aktivitesi Beutler (16) metoduna göre ölçüldü. GSH-Px aktivitesi, NADPH oksidasyonunu takiben spektrofotometrik olarak 340 nm'de sistemin optik dansitesindeki düşüşten hesaplanır. GSH-Px aktivitesi U/g protein şeklinde hesaplandı.

GSH konsantrasyonu Beutler ve ark. (17) metoduna göre ölçüldü. GSH seviyesi, 5.5'-dithiobis-(2-nitrobenzoic acid) (Ellmann's solüsyonu) ile sülfhidril gruplarının sarı renk oluşturması ve bu rengin 412 nm'de ölçülmesi esasına dayanır. GSH seviyesi µmol/ g protein olarak verildi.

CAT aktivitesi Aebi (18)'nin bildirdiği metoda göre tespit edildi. Aktivite ölçümü ortamındaki H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin CAT vasıtasıyla suya dönüşümü sağlanırken meydana gelen absorbans azalmasının 240 nm'de ölçülmesi esasına dayanmaktadır. Harcanan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> miktarından CAT aktivitesi sonuçları k/g protein cinsinden verildi.

Protein miktarını ölçmede ise Lowry metodu (19) kullanıldı.

**İstatistiksel analiz:** Gruplar arasındaki farkın kontrolünde SPSS 12.0 paket programı kapsamında varyans analizi ve Duncan testinden faydalanıldı, sonuçlar ortalama ± standart hata olarak verildi.

### Bulgular

Subklinik mastitisli ineklerin sütündeki MDA ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri *Tablo 1*'de verildi. MDA düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktivitelerinde istatistiksel açıdan önemli fark bulunmadı (P>0.05). Bununla birlikte, mastitisin derecesine bağlı olarak GSH-Px aktivitesinde istatistik olarak önemli olmayan azalma tespit edildi. Süt GSH düzeyinde mastitisin derecesine bağlı olarak saptanan azalma CMT<sup>+3</sup> şiddetindeki mastitisde istatistiksel olarak önemli bulundu (P<0.001).

**Tablo 1.** Subklinik mastitisli ineklerin sütünde MDA ve GSH düzeyleri ile GSH-Px ve CAT aktiviteleri (Ort ± Std hata).

	Kontrol n:10	Mastitis CMT <sup>+1</sup> n:10	Mastitis CMT <sup>+2</sup> n:10	Mastitis CMT <sup>+3</sup> n:10	P
MDA (nmol/ml)	6.7±0.14	6.53±0.22	6.63±0.23	6.77±0.25	-
GSH (µmol/gr protein)	1.07±0.10 <sup>a</sup>	0.89±0.11 <sup>a</sup>	0.78±0.14 <sup>a</sup>	0.35±0.06 <sup>b</sup>	0.001
CAT (k/g protein)	3.32±0.36	3.28±0.32	3.14±0.57	3.45±0.67	-
GSH-Px (U/ g protein)	1.24±0.28	0.99±0.21	0.98±0.22	0.87±0.27	-

a,b: Aynı satırda farklı harfler içeren grup ortalamaları arası farklar önemlidir (p<0.05).

## Tartışma

Mastitis, süt veriminin düşmesine, sütün bileşiminin değişmesine ve ineklerin üretken ömürlerinin kısılmasına neden olmaktadır. Mastitise bağlı süt kayıplarının yaklaşık %70-80'i subklinik mastitisten kaynaklanmaktadır (20).

Günümüzde mastitisin tanısında sütün mikrobiyolojik inceleme ve somatik hücre sayımı dışında kullanılan bazı biyokimyasal parametreler vardır. Yangı sırasında süte özgü birçok enzimin aktivitesinde değişiklikler görülür. Süt sentezi ile bağlantılı enzimler azalırken yangı reaksiyonu ile ilgili enzimler artış gösterir (2). Mastitisli ineklerin kanında enzimatik antioksidanların azaldığı (CAT, GSH-Px, SOD) bildirilmektedir (9, 10, 21, 22). Yarım ve Salmanoğlu (10), subklinik mastitisli ineklerin sütünde de GSH-Px ve SOD aktivitesini düşük bulmuşlardır. Mevcut çalışmada da subklinik mastitisli ineklerin sütündeki CAT aktivitesinin değişmediği fakat sütteki GSH-Px aktivitesinin sağlıklılara göre düşük düzeyde tespit edilmiş ancak bunun istatistiksel olarak önemsiz olduğu saptanmıştır. Bu azalma enzimin substratı olan GSH'un sütteki seviyesinin mastitisin derecesine bağlı olarak azalmasıyla ilişkili olabilir. Atroshi ve ark. (23), mastitis olgularında yangıya bağlı olarak meydana gelen serbest radikallerin etkisi sonucu antioksidan kullanımının arttığını bunun sonucunda da enzimlerin düzeylerinin azaldığını belirtmişlerdir.

Mastitisli ineklerin kanında enzimatik olmayan antioksidan parametrelerin değişimi ile ilgili çeşitli araştırmalarda vitamin A, E ve C, β-karoten, GSH, Se düzeylerinin sağlıklı ineklerden düşük olduğu saptanmıştır (1, 9, 11, 12, 21, 23-25). Bizim çalışmamızda da mastitis sonucu sütte GSH düzeyinde önemli azalmanın olduğu tespit edildi. Sütte aşırı miktarlarda nötrofil, makrofaj, lenfosit, eozinofil ve meme dokusunun çeşitli epitel hücrelerinin bulunması, meme bezinin yangısından dolayı mikroorganizmalara meme dokusunun cevabı olarak göz önünde tutulur (26). Mastitis enfeksiyonlarında yangıya ve somatik hücre sayısındaki (SHS) artışa bağlı olarak kanda lökosit sayısında artış meydana gelmektedir. Mastitiste memede doku hasarı sonucu sütün kalitesi bozulmakta, bölgede lökositlerden makrofajlar ve nötrofillerin sayısı artmaktadır. Enfeksiyon etkeninin meme kanalını enfekte etmesi nedeni ile süte geçen lökosit ve epitel hücrelerinden enzimlerin serbest hale geçmesi sütteki enzim seviyesini yükseltmektedir (27, 28). Lökositler, özellikle aktif olan fagositler meme hastalıklarında gereken performansı artırmak için antioksidanlara ihtiyaç duyar. Lökositlerin fonksiyonlarını geliştirmek için

antioksidanların gücü, bunların hastalıklı memelerdeki yararlı etkilerini kısmen açıklayabilir (29). Mevcut çalışmada, mastitis sonucu sütte GSH düzeyinde azalma lökositlerin antioksidan olarak GSH'ı kullanmalarıyla ilişkilendirilebilir. Plazma GSH konsantrasyonu da ineklerdeki somatik hücre sayısı negatif korelasyon göstermekte (30, 31) olup GSH'un oksidatif hasardan dokuları korumada ve lökositler tarafından fagositozda etkili olduğu bildirilmektedir (22). Buna paralel olarak mastitis sonucu sütün total antioksidan kapasitesi, vitamin E ve Se düzeylerinin düştüğünü bildiren çeşitli çalışmalar mevcuttur (9, 23, 25, 26). Nitekim yapılan araştırmalarda, antioksidanların azalmasının mastitis riskini artırabileceği ve antioksidan takviyesinin ise bunun önlenmesinde önemli olduğu belirtilmektedir (9, 23, 24, 32).

GSH-Px enzimi nötrofiller ve makrofajların aktivitelerinde olumlu yönde etkide bulunur (23). Lökositlerin aktiviteleri için gerekli olan GSH-Px enziminin fagositoz sırasında lökositler tarafından kullanılması sonucu GSH-Px enzim aktivitesi azalmaktadır (33). GSH'un düzeyinde mastitis seviyesine bağlı olarak görülen azalma, GSH'u substratı olarak kullanan enzimlerden biri olan GSH-Px enzim aktivitesinin de azalmasına sebep olmuştur. Bu CMT<sup>+3</sup> şiddetindeki mastitiste sütte antioksidanların yetersiz kalabileceğinin açık göstergesidir.

Meme bezi yangılarında fagositik hücrelerin yangı yerine göçü sonucu aktivitelerine bağlı olarak daha fazla oksijen kullanılmasıyla lipid peroksidasyonu oluşmakta ve lipid peroksidasyonunun bir ürünü olan MDA düzeyi artmaktadır (34). Mastitiste plazma MDA düzeyinin arttığını bildiren araştırmalara (9, 11, 13, 14) rağmen Dündar ve ark. (14)'nın tespit ettiği gibi bu çalışmada da mastitiste süt MDA düzeyinin değişmediği saptanmıştır. Zıt olarak, inek ve buffalolarda subklinik ve klinik mastitiste süt MDA düzeyinin arttığı bildirilmiştir (9, 13). Diğer taraftan Kızıl ve ark. (12) ile Ranjan ve ark. (35), subklinik mastitiste değil de klinik mastitiste kan lipid peroksidasyon düzeyinin önemli artış gösterdiğini belirtmişlerdir.

Mastitise karşı direnç ve immün sistemin artırılması için meme bezi hastalıklarında antioksidanlar çok önemlidir (32). Subklinik mastitis sonucu sütteki MDA düzeyinin değişmediği, fakat antioksidan özelliğe sahip GSH seviyesinde önemli azalmanın olduğu belirlenmiştir. Subklinik mastitisin süt üretiminde azalma ve süt kalitesinde düşmeye sebep olduğu bilinmektedir. Antioksidan kapasitede görev alan GSH'un sütte azalması, subklinik mastitiste sütün kalitesinin düşmesinde etkili diğer bir faktör olabilir.

## Kaynaklar

1. Kaya I, Guven A. Mastitisli ineklerde kan vitamin A, β-karoten ve vitamin E düzeylerinin belirlenmesi. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2008; 14: 57-61.
2. Yağcı IP. Koyunlarda subklinik mastitis: Etiyoloji, epidemiyoloji ve tanı yöntemleri. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2008; 14: 117-122.
3. Sandholm M, Mattila T. Biochemical aspects of bovine mastitis. Isr J Vet Med 1986; 42: 405-415.
4. Machlin LJ, Bendich A. Free radical tissue damage: protective role of antioxidant nutrients. FASEB J 1987; 1: 441-446.

5. Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E. Oxidative stress, antioxidants and animal function. J Dairy Sci 1993; 76: 2812-2823.
6. Stahl W, Sies H. Antioxidant defense: vitamins E and C and carotenoids. Diabetes 1997; 46: 14-18.
7. Miller JK, Brzezinska-Slebodzinska E, Madsen FC. Oxidative stress, antioxidants, and animal function. J Dairy Sci 1993; 76: 2812-2823.
8. Yuksel M, Kandemir FM, Devenci H, Ozdemir N. Sağlıklı ve subklinik mastitisli ineklerde kan serumu ALP, ALT ve glukoz düzeyleri üzerine çalışma. Atatürk Üniversitesi Vet Bil Derg 2009; 4: 163-168.
9. Simsek H, Aksakal M. Subklinik mastitisli ineklerde kan ve sütte lipid peroksidasyon ve bazı antioksidanlar üzerine E vitamininin etkisi. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2005; 52: 71-76.
10. Yarim G, Salmanoglu B. Subklinik mastitisli süt ineklerinde meme içi levamizol uygulanmasında süt ve kanda glutatyon peroksidaz, süperoksit dismutaz, alkalin fosfat ve immunoglobulin G düzeyleri. Ankara Üniv Vet Fak Derg 2002; 49: 89-94.
11. Devenci HA, Guven A. Mastitisli ineklerde kan MDA ve GSH düzeylerinin araştırılması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2008; 14: 63-66.
12. Kızıl O, Akar Y, Saat N, Kızıl M, Yuksel M. The plasma lipid peroxidation intensity (MDA) and chain-breaking antioxidant concentrations in the cows with clinic or subclinical mastitis. Revue Méd Vét 2007; 158: 529-533.
13. Kumar M, Kumar R, Sharma A, Jain VK. Investigations on prevalence and oxidative stress aspects of mastitis in buffaloes. Ital J Anim Sci 2007; 6: 978-979.
14. Dundar Y, Eryavuz A, Aslan R, Ucar M. Malondialdehyde and glucose-6 phosphate dehydrogenase levels in healthy and subclinical mastitic cows. Yüzüncü Yıl Üniv Sağ Bil Derg 2000; 6: 84-86.
15. Placer ZA, Cushman LL, Johnson BC. Estimation of product of lipid peroxidation (malonyldialdehyde) in biochemical systems. Anal Biochem 1966; 16: 359-364.
16. Beutler E. Red cell metabolism. In: Beutler E (Editor). A manual of biochemical methods. New York: Grunef and Strotan 1975: 67-69.
17. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. J Lab Clin Med 1963; 61: 882-888.
18. Aebi H. Catalase in vitro. Method Enzymol 1984; 105: 121-126.
19. Lowry OH, Rosenbrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurements with the folin phenol reagent. J Biol Chem 1951; 193: 265-275.
20. Gurbulak K, Canooglu E, Abay M, Atabay O, Bekyurek T. İneklerde subklinik mastitisin farklı yöntemlerle saptanması. Kafkas Üniv Vet Fak Derg 2009; 15: 765-770.
21. Atroshi F, Parantainen J, Sankari S, Osterman T. Prostaglandins and glutathione peroxidase in bovine mastitis. Res Vet Sci 1986; 40: 361-366.
22. Erskine RJ, Eberhart RJ, Hutchinson LJ, Scholz RW. Blood selenium concentrations and glutathione peroxidase activities in dairy herds with high and low somatic cell counts. J Am Vet Med Assoc 1987; 190: 1417-1421.
23. Atroshi F, Tyopponen J, Sankari S, Kangasniemi R, Parantainen J. Possible roles of vitamin E and glutathione metabolism in bovine mastitis. Internat J Vit Nutr Res 1987; 57: 37-43.
24. Musal B, Ulutaş Pa, Turkyılmaz S. Blood vitamin C, vitamin A,  $\beta$ -carotene, ceruloplasmin, glutathione and malondialdehyde concentrations in cows with subclinical mastitis treated with intramammary antibiotics. Revue Méd Vét 2007; 158: 633-640.
25. Batra TR, Singh K, Ho SK, Hıdıroglu M. Concentration of plasma and milk vitamin E and plasma  $\beta$ -carotene of mastitic and healthy cows. J Vit Nutr Res 1991; 62: 233-237.
26. Atakisi O, Oral H, Atakisi E, et al. Subclinical mastitis causes alterations in nitric oxide, total oxidant and antioxidant capacity in cow milk. Res Vet Sci 2010; 89: 10-13.
27. Prin-Mathieu C, Le RY, Faure GC, Laurent F, Béné MC, Moussaoui F. Enzymatic activities of bovine peripheral blood leukocytes and milk polymorphonuclear neutrophils during intramammary inflammation caused by lipopolysaccharide. Clin Diagn Lab Immunol 2002; 9: 812-817.
28. Zargham KM, Muhammed G, Umar A, Ali KS. A preliminary comparison of plasma fibrinogen concentrations, leukocyte numbers and erythrocyte sedimentation rate as non-specific indicators of inflammatory conditions in buffalo (*Bubalis bubalis*). Vet Res Commun 1997; 21: 265-271.
29. Erskine RJ. Nutrition and mastitis. Update on bovine mastitis. Vet Clin North Am: Food Anim Pract 1993; 9: 551-556.
30. Erskine RJ, Eberhart VMD, Grasso MS, Scholz RW. Induction of *Escherichia coli* mastitis in cows fed selenium deficient or selenium-supplemented diets. Am J Vet Res 1989; 50: 2093-2099.
31. Ndiweni N, Field TR, Williams MR, Booth JM, Finch JM. Studies on the incidence of clinical mastitis and blood levels of vitamin E and selenium in dairy herds in England. Vet Rec 1991; 129: 86-88.
32. Mohamed HE. Antioxidants status and degree of oxidative stress in mastitic and healthy camel (*Camelus dromedarius*). Res J Anim Sci 2007; 1: 92-94.
33. Serfass RE, Ganther HE. Effects of dietary selenium and tocopherol on glutathione peroxidase and superoxide dismutase activities in rat. Phago-Life Sci 1976; 19: 1139-1144.
34. Mayer SJ, Wterman AE, Keen PM, Craven N. Oxygen concentration in milk of healthy and mastitic cows and implications of oxygen tension. J Dairy Sci 1988; 55: 513-519.
35. Ranjan R, Swarup D, Naresh R, Patra RC. Enhanced erythrocytic lipid peroxides and reduced plasma ascorbic acid, and alteration in blood trace elements level in dairy cows with mastitis. Vet Res Commun 2005; 29: 27-34.