بررسی میزان صحت تشخیص آبستنی در گاو با استفاده از اندازه‌گیری عامل EPF

صمد مسافری[۱]*، وحید غفاری لاله[۲]، جعفر مجیدی[۳]، ایرج لطفی[۲]

۱. گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۲. دانش آموخته دامپزشکی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، تبریز، ایران
۳. گروه علوم پایه، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران
* *نویسنده مسئول مکاتبات* samad_mosaferi@yahoo.com
(دریافت مقاله: ۸٦/۲/٤، پذیرش نهایی: ۸٦/۸/۲۰)

چکیده

فاکتور اولیه آبستنی (EPF; Early Pregnancy Factor) یک پروتئین تعدیل کننده ایمنی می‌باشد که در سرم خون اکثر گونه‌های دام‌های اهلی در اوایل آبستنی قابل تشخیص می‌باشد. در این مطالعه، تشخیص آبستنی ٤۱ رأس گاو شیری متعاقب تلقیح مصنوعی بوسیله تشخیص فاکتور اولیه آبستنی در سرم خون با استفاده از تست ممانعت از تشکیل روزت (RIT; Rosette Inhibition Test) بررسی شده است. بر این اساس میزان فعالیت EPF در گاوهایی که ۱ الی ۳ و ٤ الی ۷ روز از تلقیح آن‌ها سپری شده بود، به‌وسیله تست RIT مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. آبستنی ٤۵ الی ٦۰ روز پس از تلقیح مصنوعی به‌طریق لمس راست روده‌ای مورد تأیید قرار گرفت. بر اساس نتایج به‌دست آمده میزان حساسیت، ویژگی، ارزش پیش‌گویی مثبت و منفی و صحت تست در تشخیص موارد مثبت آبستنی درگاوهایی که ۱ الی ۳ روز از تلقیح آن‌ها می‌گذشت به ترتیب برابر ۸۸/۸۸، ٦٦/٦٦، ۷۲/۷۲، ۸۵/۷۱ و ۷۷/۷۷ درصد و تیترهای به‌دست آمده در این دوره در گاوهای آبستن بالاتر از ۸ واحد و در گاوهای غیرآبستن کمتر از ٤ واحد بود و در مورد گاوهایی که ٤ الی ۷ روز از تلقیح آن‌ها سپری شده بود، به ترتیب برابر ۹۱، ۸۳/۸۳، ۸۳/۳۳، ۹۱ و ۸۷ درصد و تیترهای به‌دست آمده در این دوره در گاوهای آبستن بالاتر از ۸ واحد و در گاوهای غیرآبستن کمتر از ۵ واحد گزارش گردید. به‌طور کلی نتایج به‌دست آمده در این تحقیق نشان داد که اختلاف معنی‌داری بین تیتر RIT گاوهای آبستن و غیر آبستن متعاقب ۱ الی ۳ روز و نیز ٤ الی ۷ روز پس از تلقیح مصنوعی وجود دارد (P< ۰/۰۵).

مجله علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی تبریز، ۱۳۸٦، دوره ۱، شماره ۲، ۹۵-۸۹
کلمات کلیدی: تشخیص آبستنی، گاو، EPF

مقدمه

روش‌های مورد استفاده جهت تشخیص آبستنی در گاو شامل سنجش هورمون‌هایی نظیر پروژسترون، پروتئین مخصوص آبستنی (PSPB; Pregnancy Specific Protein B) و استرون سولفات و تکنیک‌های رایج دیگر مانند لمس راست روده‌ای و اولتراسونوگرافی می‌باشند که به‌صورت عملی در مدیریت تولید مثلی گله‌های شیری استفاده می‌شوند. با توجه به این‌که امروزه روش‌هایی که جهت تشخیص آبستنی گاو به‌کارمی‌روند معمولاً پس از جایگزینی جنین انجام می‌گیرند و به‌ندرت با استفاده از این روش‌ها تشخیص تفریقی بین باروری (Fertility) و آبستنی انجام می‌شود، بنابراین، این روش‌ها نمی‌توانند عواملی را که منجر به مرگ زودرس جنینی در اوایل آبستنی می‌شوند را شناسایی کنند. تشخیص آبستنی و عدم آبستنی پس از تلقیح (کمتر از ۲۱ روز پس از تلقیح) برای گاودار مهم می‌باشد. در نتیجه وجود یک روش آزمایشگاهی جهت ارزیابی رشد جنین و تشخیص آبستنی گاو با صحت بالا

و قابل تکرار ضروری است. بیشتر فاکتورهای هورمونی مربوط به رشد اولیه جنین تنظیم کننده محیط رحمی بوده و قابل تشخیص در خون نیستند (۸). ولی با وجود این، یک دسته از فاکتورها وجود دارند که در جهت بقاء جنین عمل می‌کنند و قابل تشخیص در خون مادر می‌باشند، که EPF یکی از این فاکتورها می‌باشد. فاکتور اولیه آبستنی یک پلی‌پپتید با ویژگی‌های تنظیم کننده رشد و تعدیل کننده ایمنی است. این فاکتور اولین بار ۲۰ سال پیش توصیف شده است و به‌عنوان شاخص وجود آبستنی و شروع آبستنی و ادامه آبستنی مطرح می‌باشد (۱۰). در حال حاضر فاکتور EPF بزرگترین امید برای توسعه تست تشخیصی برای تشخیص آبستنی و عدم آبستنی می‌باشد. عامل EPF به‌دنبال مرگ جنینی در مدت چند ساعت کاهش می‌یابد، که بیانگر اختصاصی بودن EPF برای موارد آبستنی می‌باشد (۱۰). یکی از روش‌های رایج برای تشخیص فاکتور EPF روش RIT می‌باشد. این روش بر اساس ظرفیت لنفوسیت‌ها جهت تشکیل روزت پایه‌ریزی شده است.

مواد و روش‌کار

الف) جمع‌آوری نمونه‌ها

برای جمع‌آوری نمونه‌های مورد آزمایش، با مراجعه به گاوداری‌های صنعتی اطراف تبریز نمونه‌های سرم خون ٤١ رأس از گاوهای نژاد هلشتاین سالم جمع‌آوری گردید. از این تعداد، ۳۲ رأس گاو نژاد هلشتاین را به عنوان گروه تیمار و ۹ رأس به‌عنوان گروه شاهد (دام‌هایی که علائم فحلی داشته ولی تلقیح مصنوعی نگردیده‌اند) در نظر گرفته شد. از گاوهای گروه شاهد و گروه تیمار ٢٤ الی ٧٢ ساعت و ٤ الی ٧ روز به‌ترتیب پس از فحلی و تلقیح مصنوعی خونگیری به‌عمل آمد و سپس توسط سانتریفوژ با دور ۱۵۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه سرم آن‌ها جدا گردید. سرم‌های جدا شده، بوسیله پیپت پاستور به لوله‌های اپندروف منتقل شده و با درج شماره هر گاو بر روی لوله‌ها تا زمان آزمایش در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

جهت انجام آزمایش RIT، تهیه سوسپانسیون گلبول قرمز (SRBC) یک درصد و سلول‌های لنفوسیت دام غیرآبستن یا گاو نر ضروری است. برای این منظور در زمان آزمایش نمونه‌های خون تازه هپارینه گاو غیرآبستن و گوسفند تهیه گردید و برای انجام آزمایش به روش زیر به‌کار گرفته شد.

ب) جدا کردن لنفوسیت‌ها

برای این منظور خون تازه هپارینه گاو غیرآبستن به‌مقدار ۱۰ml تهیه گردید. پس از جمع‌آوری خون در لوله‌های آزمایش، ۳ الی ٦ میلی‌لیتر محلول فایکول ریخته و هم حجم آن خون هپارینه گاو غیرآبستن که به‌صورت ۱:۱ با محلول بافری فسفات (PBS) رقیق شده بود از کنار لوله‌ها به‌آرامی به آن اضافه گردید، به‌طوری‌که فاز خونی روی فایکول تشکیل گردید. سپس لوله‌ها در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد با دور ۱۵۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ گردیدند. سپس لایه لنفوسیتی تشکیل شده در لوله به آرامی بوسیله پیپت پاستور به دقت جمع‌آوری و به لوله آزمایش دیگری منتقل گردید.

در مرحله بعد چند قطره آب مقطر جهت لیز کردن گلبول‌های قرمزی که احتمالاً همراه لنفوسیت‌ها برداشت شده بودند، به لوله اضافه گردید و بلافاصله ۵ میلی‌لیتر بافر PBS به آن اضافه شد. سپس به‌آرامی سلول‌ها را در بافر معلق کرده و به مدت ۵ دقیقه و سرعت ۱۵۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید و مایع رویی دور ریخته شد. در مرحله بعد دوباره از سلول‌های باقیمانده در ته لوله، هموژن تهیه گردید. مقدار کمی از مخلوط حاصل، جهت شمارش سلول‌ها به‌وسیله لام هموسیتومر نئوبار مورد استفاده قرار گرفت (۱، ۲، ۹ و ۱۱).

ج) شمارش لنفوسیت‌ها

در این مرحله، لنفوسیت‌های موجود در نمونه‌های خونی جمع‌آوری شده از گاو نر یا ماده غیرآبستن شمارش گردید. اساس آزمایش در این مرحله بر رقیق نمودن نمونه خون جمع‌آوری شده با محلول خاص و شمارش لنفوسیت‌ها در حجم معینی از آن استوار است. این محلول‌ها لنفوسیت‌ها را از

بقیه سلول‌ها و گلبول‌های خون جدا کرده سپس لیز نموده و از بین می‌برند. در این مرحله از محلول خاصی به‌نام مارکانو (Marcano Solution) استفاده گردید. این محلول‌ها باعث از بین رفتن گلبول‌های قرمز می‌شوند. در نهایت تعداد گلبول‌های سفید شمارش شده در لام نئوبار بر اساس فرمول زیر محاسبه گردید.

W.B.C = تعدادلنفوسیت‌های شمارش شده × ۵۰

به‌دلیل رقیق‌سازی، نتیجه به‌دست آمده در عکس رقت و سپس در 10^4 ضرب شد. حاصل این عدد تعداد لنفوسیت‌ها را در یک میلی‌لیتر نشان داد. در مرحله بعد بوسیله PBS غلظت این سلول‌ها به 2×10^7 سلول در هر میلی‌لیتر رسانده شد (۳).

د) طرز تهیه سوسپانسیون یک درصد گلبول‌های قرمز گوسفند

برای این منظور مقدار ۱۰ میلی‌لیتر خون هپارینه گوسفند نر به‌مدت ۱۰ دقیقه و با دور ۲۵۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس پلاسما و لایه بافی‌کوت به‌وسیله پیپت پاستور خارج و به گلبول‌های قرمز باقی‌مانده در ته لوله PBS اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰ سانتریفوژ شد. عمل شستشو ۳ بار تکرار گردید و در نهایت از گلبول‌های قرمز خالص ته لوله سوسپانسیون یک درصد گلبول‌های قرمز با استفاده از محلول بافر فسفات PBS، تهیه گردید.

ه) انجام تست ممانعت از تشکیل روزت

به‌دنبال تهیه لنفوسیت‌ها و سوسپانسیون یک درصد گلبول‌های قرمز به‌میزان کافی، ابتدا جهت انجام آزمایش شاهد در یک لوله آزمایش، ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رقیق‌کننده فسفات بافر و ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون لنفوسیت‌ها اضافه گشته و به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه گردید. به‌دنبال انکوباسیون ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون گلبول‌های قرمز اضافه و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد مجدداً انکوبه گردید. در ادامه به‌مدت ۵ دقیقه با سرعت ٤۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گشته و سپس ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد و در نهایت از گلوتارآلدئید ۱۰ درصد جهت فیکس کردن لنفوسیت‌ها و گلبول‌های قرمز گوسفند بر روی لام استفاده شد.

برای انجام آزمایش، در ابتدا سرم‌های جمع‌آوری شده در دمای ٥٦ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه غیرفعال شدند. سپس ۱۱ لوله آزمایش برای هر نمونه سرم خون انتخاب و رقت‌های ۱، ۲ :۱، ٤ :۱، ۸ :۱، ۱٦ :۱، ۳۲ :۱، ٦٤ :۱، ۱۲۸ :۱، ۲٥٦ :۱، ٥۱۲ :۱، ۱۰۲٤ :۱ و ۲۰٤۸ :۱ تهیه گردید. برای این منظور ۱۰۰ میکرولیتر از محلول PBS به هر لوله ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سرم غیرفعال شده به لوله اول اضافه گردید و به لوله دوم نیز ۱۰۰ میکرولیتر ریخته شد و بعد از مخلوط و رقیق کردن با PBS، ۱۰۰ میکرولیتر از لوله دومی برداشت کرده و به لوله سومی ریخته شد و همین‌طور تا لوله ۱۱ ادامه داده شد و از لوله آخری ۱۰۰ میکرولیتر به بیرون ریخته شد. سپس ۱۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون لنفوسیت‌ها به تمامی لوله‌ها اضافه گردید و به‌مدت ٦۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از انکوباسیون ۲۰۰ میکرولیتر از سوسپانسیون یک درصد گلبول‌های قرمز به هر لوله اضافه شد و به‌مدت ۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از این مرحله لوله‌ها به‌مدت ۵ دقیقه با دور ٤۰۰ سانتریفوژ گردیدند. سپس ۱۵ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شدند و در نهایت ۰/۰۳ میلی لیتر گلوتارآلدئید ۱۰ درصد اضافه و بر روی لام وضعیت تشکیل روزت بررسی شد و رقت‌ها و تیتر هر نمونه سرمی به‌دست آمد. لازم به‌ذکر است که فقط روزت‌هایی که اتصالات محکمی بین گلبول‌های قرمز و لنفوسیت‌ها داشتند مورد بررسی قرار گرفتند. تیترهای به‌دست آمده نیز با استفاده از لگاریتم پایه ۲ محاسبه شدند.

بر این اساس چنانچه در هر نمونه میزان تشکیل روزت کاهش قابل توجهی نسبت به شاهد داشت، دام آبستن و در صورتی‌که روزت به میزان زیادی تشکیل شده بود، دام غیرآبستن تلقی گردید. لازم به‌ذکر است که تشکیل روزت نشان‌دهنده میزان پایین EPF در نمونه مورد آزمایش می‌باشد، به‌طوری‌که این

میزان نتوانسته است از چسبیدن گلبول‌های قرمز گوسفند و لنفوسیت‌های گاوهای غیرآبستن جلوگیری کند و بالعکس. تمامی گاوهای گروه تیمار متعاقباً ٦٠ روز پس از تلقیح مصنوعی برای تأیید آبستنی به طریقه ملامسه راست روده‌ای مورد بازرسی قرار گرفتند.

و) آنالیز آماری

در این مطالعه سعی شده است حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی مثبت و منفی نتایج به‌دست آمده محاسبه شود. حساسیت یا میزان نتایج مثبت با استفاده از معادله $Sensitivity= 100 \times a/(a+d)$ محاسبه گردید. ویژگی یا میزان نتایج منفی با استفاده از معادله $Specifity = 100 \times c/(c+b)$ و ارزش پیشگویی مثبت یا احتمال تشخیص گاوهای آبستن از معادله $Predictive\ value^{+} = 100 \times a/(a+b)$ و ارزش پیشگویی منفی یا احتمال تشخیص گاوهای غیرآبستن از معادله $Predictive\ value^{-} = 100 \times c/(c+d)$ و صحت RIT (Accuracy) جهت تشخیص گاوهای آبستن با استفاده از معادله $(a+b)/[(a+b)+(b+d)]$ بر اساس جایگزینی داده‌های به‌دست آمده در جدول ۱ استخراج گردید.

جدول۱- نحوه استخراج نتایج تکنیک RIT بر اساس تعیین عامل EPF و تأیید آبستنی از طریق لمس راست روده‌ای

گاوهای غیرآبستن	گاوهای آبستن	نوع تشخیص
b(مثبت کاذب)	a (مثبت)	**EPF (+)**
c (منفی)	d (منفی کاذب)	**EPF (-)**

همچنین نتایج حاصل از RIT با استفاده از روش آماری Student T- test توسط بسته نرم‌افزاری SPSS نسخه ۱۲مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و نتایج حاصله به‌صورت انحراف معیار ± میانگین (Mean±SD) گزارش گردید.

نتایج

در این مطالعه با جاگذاری داده‌های به‌دست آمده در جدول ۱، حساسیت، ویژگی، ارزش پیشگویی مثبت و منفی و میزان صحت تکنیک مورد استفاده در تشخیص گاوهای آبستن محاسبه شده است. حساسیت تست RIT در تشخیص صحیح گاوهای آبستن در نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده در روزهای ۱ الی ۳ پس از تلقیح ۸۸/۸۸ درصد گزارش گردید. ویژگی تست RIT که توانایی تکنیک RIT را در تشخیص گاوهای غیرآبستن نشان می‌دهد برابر ٦٦/٦٦ درصد، همچنین احتمال تشخیص آبستنی و عدم آبستنی یا ارزش پیشگویی مثبت و منفی تکنیک RIT به ترتیب ۷۲/۷۲ درصد و ۸۵/۷۱ درصد و میزان صحت تکنیک RIT در تشخیص گاوهای آبستن ۷۷/۷۷ درصد گزارش گردید. حساسیت، ویژگی، ارزش پیش‌گویی مثبت و منفی و صحت RIT برای نمونه‌های سرمی جمع‌آوری شده در روزهای ۷-٤ پس از تلقیح به‌ترتیب ۹۱ درصد، ۸۳/۳۳ درصد، ۹۱ درصد و ۸۷ درصد محاسبه گردید (جدول ۲).

جدول۲- حساسیت، ویژگی، ارزش پیش‌گویی مثبت و منفی و صحت تکنیک RIT

روزهای مورد آزمایش	تعداد حیوانات مورد آزمایش	T+	F+	T-	F-	Se	Sp	PV+	PV-	صحت
۱-۳	۱۸	۸	۳	٦	۱	۸۸/۸۸	٦٦/٦٦	۷۲/۷۲	۸۵/۷۱	۷۷/۷۷
٤-۷	۲۳	۱۰	۲	۱۰	۱	۹۱	۸۳/۳۳	۸۳/۸۸	۹۱	۸۷
مجموع	٤۱	۱۹	٤	۱٦	۲	۸٦/٤٦	۷۹/۱٦	۷۹/۱٦	۸٦/٤٦	۸۲/۳۸

همچنین با استفاده از آزمون T (T– test) و تیترهای به‌دست آمده، میانگین داده‌ها محاسبه گردید. در سرم‌های جمع‌آوری شده از گاوهای آبستن در روزهای ۳-۱ پس از تلقیح، تیتر RIT بیشتر از ۸ واحد بود. در حالی‌که این رقم در گاوهای غیرآبستن بین ۵-۳ بود. متوسط تیترRIT در گاوهای آبستن (۸/٦±۰/۲۲) به طور معنی‌داری بیشتر از گاوهای غیر آبستن (۳/۷۵±۰/٤۷) بود (P<۰/۰۵).

جدول۳- مقادیر تیتر RIT به تفکیک در گاوهای آبستن و غیرآبستن در بین روزهای ۳-۱ پس از تلقیح مصنوعی

وضعیت	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	میانگین± انحراف استاندارد میانگین
آبستن (n=۱۰)								۵	٤	۱			۸/٦±۰/۲۲
غیرآبستن (n=٤)			۲	۱	۱								۳/۷۵±۰/٤۷

جدول٤- مقادیر تیتر RIT به تفکیک در گاوهای آبستن و غیرآبستن در بین روزهای ۷-٤ پس از تلقیح مصنوعی

وضعیت	۱	۲	۳	٤	۵	٦	۷	۸	۹	۱۰	۱۱	۱۲	میانگین± انحراف استاندارد میانگین
آبستن (n=۱۲)								۵	٤	۱			۹/۲۵±۰/۱۷
غیرآبستن (n=٦)			٤	۲									۳/۳۳±۰/۲۱

تیتر RIT در مورد سرم‌های جمع‌آوری شده در روزهای ۷-٤ پس ازتلقیح در موارد آبستن ۹/۲۵±۰/۱۷ و در موارد غیر آبستن ۳/۳۳±۰/۲۱ بود (P<۰/۰۵). اختلاف معنی‌داری بین تیتر RIT گاوهای آبستن و غیر آبستن در روزهای ۱ الی ۳ و ٤ الی ۷ بعد از تلقیح وجود داشت (P< ۰/۰۵). بر اساس تیترهای به‌دست آمده در طول ۲ دوره زمانی فوق و تأیید وضعیت آبستنی پس از انجام لمس راست روده‌ای در روزهای ٤۵ الی ٦۰ آبستنی می‌توان عنوان کرد که تیترهای بالای ۸ واحد نمایانگر آبستنی و

تیترهای زیر ٤ واحد بیانگر غیرآبستن بودن دام می‌باشد.

بحث و نتیجه‌گیری

در مطالعه حاضر وجود فاکتور اولیه آبستنی با توجه به فعالیت معنی‌داری که در تیترهای گاوهای آبستن و غیرآبستن در دو گروه از نمونه‌های جمع‌آوری شده در روزهای ۳-۱ و ۷-٤ پس از تلقیح وجود داشت، تایید می‌شود. مطالعات قبلی نیز نشان دادند که فعالیت EPF در اوایل آبستنی به دنبال تلقیح مصنوعی در گوسفند و گاو قابل شناسایی است. RIT، نه تنها برای تشخیص آبستنی مفید است، بلکه برای تشخیص مرگ و میر رویان‌ها نیز مناسب می‌باشد. در مطالعه حاضر، مشاهده شد که تیتر RITدر موارد آبستن بالا بود (بیشتر از ۸ واحد)، در حالی‌که در دام‌های غیرآبستن تیتر RIT پایین (کمتر از ٤ واحد) بود. با توجه به‌اینکه نتایج نمونه‌های جمع‌آوری شده پس از ٦۰-٤٥ روز مورد تأیید قرار گرفت، لذا احتمال وجود فاکتور اولیه آبستنی در دام‌های آبستن در اکثر موارد مورد تایید قرار گرفتند، هر چند که ۳ مورد در نمونه‌های جمع‌آوری شده در روزهای ۳-۱ و ۲ مورد در نمونه‌های جمع‌آوری شده در روزهای ۷-٤ پس از تلقیح به‌صورت کاذب آبستن تشخیص داده شده بود که احتمالاً علت کاذب بودن تشخیص می‌تواند در اثر از بین رفتن رویان در زمان اندازه‌گیری و یا پس از جمع‌آوری نمونه‌ها باشد. در انسان حضور EPF، ۲ الی ۵ روز پس از لقاح گزارش شده است و در گردش خون زن‌های آبستن تا حدود هفته آخر آبستنی باقی می‌ماند اما همیشه قبل از زایمان از خون محو می‌شود (۷). حضور EPF در ١٦ ساعت پس از لقاح تا ثلث دوم آبستنی در گردش خون مادیان اثبات شده است ولی پس از آن دیگر نمی‌توان آن را در خون مادیان جستجو کرد (۷). در میش EPF ۷۲ ساعت پس از لقاح گزارش شده است که در بعضی موارد به‌مدّت یک ماه و در بعضی موارد تا ٤ ماه پس از گذشت آبستنی در خون قابل جستجو است (۸). گزارشات موجود در مورد گاو نشان می‌دهد که EPF در کمتر از ٢٤ ساعت پس از لقاح در خون دام آبستن قابل جستجو است و بلافاصله پس از جمع‌آوری جنین در برنامه انتقال جنین در دام‌های دهنده میزان آن کاهش می‌یابد و تا یک هفته بعد به حدّ منفی می‌رسد. امروزه امکان تشخیص EPF با استفاده از تکنیک ELISA امکان‌پذیر شده است (٦). در مطالعاتی که در انسان برای شناسایی EPF از طریق آزمایش RIT انجام گرفته، حساسیت آزمایش برای موارد تهدید به سقط ۷۸/۹ درصد، ویژگی آن ۹۵/٦ درصد، ارزش پیشگویی مثبت ۹۳/۸ درصد و ارزش پیشگویی منفی ۸٤/٦ درصد گزارش شده است (۱۰). در مطالعه انجام گرفته در دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران بر روی تلیسه‌های آبستن و غیرآبستن نشان داده شده است که اگر در رقت ۳۲ :۱ روزت تشکیل گردد، دام آبستن و در غیر این صورت، دام غیرآبستن قلمداد می‌شود. در این ارتباط با انجام آزمایش‌هایی روی دام‌های آبستن و غیرآبستن در رقت‌های ١٦ :۱ و ٦٤ :۱ متوجه شدند که در رقت ١٦ :۱ در کلیه دام‌های آبستن و غیرآبستن روزت مهار و در رقت ٦٤ :۱ در کلیه دام‌های آبستن و غیرآبستن روزت تشکیل می‌شود. علت این دو پدیده به این صورت بیان شده است که در رقت ١٦ :۱ مهارکننده‌های دیگر موجود در سرم در حدّ بالایی وجود دارند و تشکیل روزت را مهار می‌کنند و در رقت ٦٤ :۱ غلظت EPF به‌حدّی کم می‌شود که حتی در دام‌های آبستن روزت به میزان زیادی تشکیل می‌گردد. در این مطالعه حساسیت RIT برای تشخیص آبستنی ۸۵ درصد و ویژگی آن ٢٦ درصد تعیین شده است. این محققان عنوان کردند که تشخیص آبستنی با شناسایی EPF از طریق آزمایش E.Rosette در ۷۲-٢٤ ساعت پس از تلقیح در رقت ۳۲ :۱ ارزش تشخیصی ندارد و به‌علت پایین بودن حساسیت و ویژگی این تست و معنادار نبودن آن، روش مزبور برای تشخیص آبستنی گاو در زمان ذکر شده توصیه نمی‌گردد (٤). به‌طور کلی، نتایج بررسی حاضر نشان داد که آزمایش RIT روش خوبی جهت تشخیص دام‌های آبستن از غیر آبستن قبل از بروز فحلی در گاو می‌باشد.

فهرست منابع

۱. پناهی‌راد، م. (۱۳۷۰): ایمنی شناسی خون و روش‌های آن، چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی، تهران، صفحات: ۹٤-۹۰.

۲. قراگزلو، م. ج. (۱۳۷۷): ایمونولوژی و ایمونوپاتولوژی حیوانات اهلی، (ترجمه)، تألیف: لورل، جی. گرشوین، استون، ک. ریچارد، جی. اولسون. ترجمه :. چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی، تهران، صفحات: ۲۷۰-۲٦۰.

۳. مفاخر، م. و رفیع‌زاده، ع. (۱۳۸۱): آزمایشات کاربردی خونشناسی، چاپ اول، انتشارات دانشگاه علوم پزشکی اهواز، اهواز، صفحات: ۳٤-۲٦، ۱٦۱-۱۵۵، ۳۱۵-۳۱۱.

٤. وجگانی، م. بررسی حساسیت و ویژگی تست تشخیص EPF در تشخیص آبستنی تلیسه‌ها، دانشگاه تهران، پایان‌نامه شماره ۱۲.

5. Cheng, S.J. and Zheng, Z.Q. (2004): Early pregnancy factor in cervical mucus of pregnant women. American Journal of Reproductive Immunology. 51: 102-105.
6. Gordan, I. (1996): Controlled Reproduction in Cattle and Buffaloes. Cab International, pp: 185.
7. Mc Comb, P., Morton, H. and Cavanagh, A.C. (1998): Early pregnancy factor. Progress in multiple sclerosis research.
8. Moron, H. and Clunie, G.J.A. (1979): A test for early pregnancy factor in sheep. Research in Veterinary Science. 26: 261-262.
9. Ohnoma, K., Ito, K., Miayake, Y., Takahashi, J. and Yasudw, Y. (1996): Detection of pregnancy factor (EPF) in mare sera. Journal Reproductive Development. 42: 23-28.
10. Shahant, S.K. Moniz, A. Bordekar, A.D., Gupta, S.M. and Naik, K. (1994): Early pregnancy factor as a marker for assessing embryonic viability in theceatend and missed abortions. Gynecology Col. Obstetric Investigation. 37(2): 73-76.
11. Takagi, M., Nishimuray, K., Oguri, N., Ohnuma, K., Ito, K., Takahashi, J., et al. (1998): Measurement of early pregnancy factor activity for monitoring the viability of the equine embryo. Theriogenology. 50: 255-262.