JVM Journal of Veterinary Microbiology

نشریه میکربیولوژی دامپزشکی/ دوره پانزدهم، شماره اول، ۱۳۹۸، پیاپی ۳۸: ۹۶-۸۱

مقایسه باکتری شناسی و ویژگی‌های ماکروسکوپی (کش آمدن و شفاف بودن) و میکروسکوپی (سرخسی شدن و نظم کریستال‌ها) ترشحات فحلی در گاوهای سالم و واکل

مجید محمدصادق*

دانشیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران

تاریخ ارسال:۱۳۹۶/۸/۲۸ تاریخ پذیرش: ۰۴/ ۱۰/ ۱۳۹۶

چکیده

دراین پژوهش ۴۲رأس گاو واکل (گروه آزمایشی) و۱۸رأس گاوسالم (گروه شاهد) آماده تلقیح هلشتاین فحل ازیکی ازدام‌پروری‌های خراسان رضوی فراهم شد. خون از ورید زیردمی اخذ وسرم آن‌ها پس ازجداسازی منجمد وهمراه با لیزابه فحلی به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه، غلظت استرادیول سرم به کمک روش RIA و دیگر مشخصات لیزابه با مشاهده مستقیم (کش‌آمدن و شفاف بودن) ویا به کمک میکروسکوپ (سرخسی‌شدن و نظم کریستال‌ها) و همچنین نتیجه کشت باکتری شناسی تعیین شد. نتایج نشان داد که میانگین کش‌آمدن (cm) (P=۰/۹, ۳/۳±۰/۳, ۳/۱±۰/۴, ۳/۲۵ ±۰/۳, ۳/۱۵ ±۰/۲)، میانه سرخس شدن ساده (P=۰/۳, ۳, ۲, ۳, ۲/۵)، میانه سرخسی شدن بررسی شده بافتوشاپ(P=۰/۱, ۴, ۴, ۳, ۳)، میانه منظم بودن کریستال‌ها (P=۰/۸۵, ۲, ۲, ۲, ۲)، میانه شفاف بودن لیزابه (P=۰/۰۶, ۲, ۲, ۲, ۱/۵, ۲) و میانگین غلظت استرادیول(pg/ml) (P=۰/۷، ۳ ± ۵/۳، ۱/۵ ± ۴، ۱/۷ ± ۴/۷، ۲/۴ ± ۸) به‌ترتیب ازچپ به راست درگروه واکل‌غیرآبستن(۳۴راس)، واکل‌آبستن(۸ راس)، سالم غیرآبستن (۱۰ راس) وسالم آبستن (۸ راس) بود. توزیع دام‌ها دردرجات مختلف شاخص‌های بررسی شده در لیزابه فحلی معنی‌دار نبود(P>۰/۰۵). آزمون اسپرمن تنها میان میزان سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ و گروه‌های آزمایشی و شاهد ارتباط معنی‌داریافت (P=۰/۰۱۷ , r=-۰/۳) به‌گونه‌ای‌که درجه ۳ سرخسی شدن (معادل سرخسی‌شدن ۴۰ تا ۶۰٪ لیزابه) برای باروری به‌ترین و درجات کم‌تر یا بیش‌تر از آن نامناسب تلقی شد. نتایج باکتری شناسی نشان داد که میان باکتری‌های جدا شده و درجات سرخصی شدن، کش آمدن، شفاف بودن و منظم بودن کریستال‌ها ارتباطی وجود نداشت (P>0.05) درحالیکه اشرشیا کلی، کلبسیلا، تروپرلا پیوژنز، استافیلوکوک های بتا همولتیک به طور معنی داری از گروه واکل‌ها بیشتر جدا شد (P=0.00) .از این مطالعه نتیجه‌گیری شد که از میان شاخص‌های بررسی شده تنها درجه متوسط سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ با میزان آبستن شدن و واکل نبودن دام‌ها ارتباط داشت.

کلمات کلیدی: سرخسی شدن، کش آمدن، شفاف بودن، منظم بودن کریستال لیزابه فحلی، استرادیول سرم، واکلی

**نویسنده مسئول: مجید محمد صادق*

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران. تلفن :۰۹۸۹۱۲۱۴۸۱۱۳۷+

پست الکترونیک: Dr.msadeg@gmail.com

مقدمه

باروری گاو تحت تأثیر عوامل متعددی (۱۸) مانند Body condition score (BCS) یا درجه توده بدنی (۲۷)، شرایط متابولیکی دام(۶)، میزان تولید شیر، حوادث پیرامون زایمان و عفونت‌های رحمی(۱۰)، شرایط مدیریتی- محیطی(۸)، فصل سال(۷) تعداد شکم زایش (۱۸)، ویژگی‌های ژنتیکی اسپرم یا جوانه گله (۲۷) قرار می‌گیرد. بر اساس یافته‌هایLoffler و سایرین در سال ۱۹۹۹ هنگامی‌که در زمان تلقیح نشانه‌های اندومتریت بالینی مانند چرک و یا نشانه‌های اندومتریت غیربالینی مانند زیاد بودن لیزابه و شل بودن رحم مشاهده شود از تلقیح اجتناب می‌کنند و فقط وقتی شرایط ظاهری دام فقدان بیماری‌های مؤثر بر باروری را نشان بدهد تلقیح انجام می‌شود زیرا دراین حالت عارضه واکلی ایجاد می‌شود که عواقب تأخیر در آبستنی و افزایش هزینه باروری را در بر خواهد داشت. درصورتی‌که گاو فحل در گله‌ای با میزان آبستنی (گیرایی) به ازای تلقیح ۶۰٪ بیش از چهار بار تلقیح گردد و آبستن نشود، عارضه را واکلی یا برگشت مکرر به فحلی می‌نامند (۳و۲۲). عوامل متعدد رحمی و هورمونی درایجاد واکلی موثر است. چنین عواملی در لیزابه فحلی نیز آثاری از خود بر جا می‌گذارند. بنابراین اگر در زمان جفت گیری یا تلقیح دام بتوان وجود عوامل نامناسب مؤثر بر باروری را یافت و نسبت به بهبود آن‌ها اقدام کرد سرعت بارور شدن گاو افزایش و هزینه تأمین اسپرم، تلقیح و یا هزینه‌های مربوط به تاخیر در آبستنی کاهش می‌یابد.

در دام پرتولید یا تحت تأثیر استرس (حتی استرس گرما) اختلال در میزان استرادیول و یا تأخیر در ترشح آن در زمان فحلی که سبب کاهش مقادیر LH غلیانی و یا تأخیر در ترشح آن می‌شود(۹)، می‌تواند سبب تغییر در کمیت و کیفیت لیزابه فحلی شود. در موارد مشکوک به عفونت‌های رحمی بالینی؛ واژینوسکوپ (۲)، متریچک و بررسی ترشحات موجود در واژن با دست (۲۹و۳۰) و در موارد عفونت رحمی غیربالینی؛ سونوگرافی(۱۱)، بررسی سیتولوژی رحم (با سایتوبراش و یا لاواژ رحمی) (۲) و کشت نمونه رحمی(۳۴) از روش‌های امروزی بررسی عفونت‌های رحمی هستند که می‌توانند محققین و دام‌پروران را در مدیریت بهتر دام‌های مشکوک به عفونت یاری کنند (۲۸و۲۹). آزمایش‌های لکوسیت استراز، تعیین میزان پروتئین و pH لیزابه با نوارهای ادراری (Multistix 10 SG; Bayer Corporation, Elkart, IN, USA)، برای تشخیص آندومتریت تحت بالینی مورد ارزیابی قرارگرفته است (۵). جذب نوری مایعات لاواژ رحمی نیز برای تشخیص آندومتریت تحت بالینی مورد بررسی قرارگرفته است(۱۵). پاسکوتینی و همکاران در سال۲۰۱۷ از قرار دادن نوار کاغذی مخصوصی در داخل یک پیپت در زمان تلقیح برای بررسی لیزابه و جستجوی اندومتریت غیربالینی استفاده کرده اند(۲۴). در این مقاله سعی شده است ارتباط غلظت استرادیول سرم با شفاف بودن، کش آمدن و سرخسی شدن لیزابه فحلی از یک سو و ارتباط این شاخص‌ها با باروری از سوی دیگر، درگاوهای سالم و واکل بررسی و مقایسه شود.

مواد و روش کار

از یکی از دام‌پروری‌های خراسان رضوی ۴۲ رأس گاو فحل هلشتاین واکل به عنوان گروه آزمایشی و ۱۸ رأس گاو سالم آماده تلقیح به ظاهر سالم به عنوان گروه شاهد فراهم‌شد. طبق تعاریف موجود، گاو به ظاهر سالمی (بدون بیماری تولید مثلی وغیر تولید مثلی بالینی موثر بر باروری) که با میزان گیرایی اسپرم حدود ۵۵٪

در گله پس از ۴ بار تلقیح، آبستن نشده بود گاو واکل در نظر گرفته شد. با توجه به مشکل بودن تعریف دام غیرواکل، درزمان فحلی و تلقیح دام‌ها نخست از دام نمونه لیزابه تهیه وآزمایش‌های لازم برروی آن انجام شد. سپس باتوجه به عملکرد قبلی و نتیجه تلقیح فعلی، وقتی که با کم‌تر از ۳ تلقیح آبستن شدند سالم درنظر گرفته شد (۳ و ۲۲). برخی عوامل مخدوش‌گر مانند فصل سال، بیماری‌های مختلف تولیدمثلی و غیر تولیدمثلی و همزمان کردن سیکل استروس با هورمون‌ها که بر باروری مؤثرند در زمان انتخاب دام مدنظر قرار گرفتند و با حذف دام‌های مشکوک به ابتلابه هرنوع عارضه تولید مثلی یا غیر تولید مثلی، تمام گروه‌ها یکسان‌سازی شدند. دام‌های مبتلا به سخت زایی، جفت ماندگی وعفونت رحمی پس از زایمان برای پرهیز از اثر سوء این‌گونه عوارض بر باروری از مطالعه حذف شدند. دام‌هایی که فحلی آن‌ها با انواع روش‌های هورمنی ایجاد یا همزمان شده بود به منظور پرهیز از کاهش باروری ناشی از این گونه درمان‌ها از مطالعه حذف شدند. بنابراین دام‌های دارای فحلی خودبخودی در این مطالعه قرارداده شدند. به منظور پرهیز از اثر فصل برباروری، مطالعه در تمام گروه‌های دامی تنها در فصل خنک سال(پاییز و اوایل زمستان) انجام شد. باتوجه به نحوه انتخاب دام‌ها، روش نمونه‌گیری از نوع غیر تصادفی- طبقاتی بود. به عبارت دیگر نمونه‌ها در طول مدت مطالعه به‌گونه‌ای انتخاب شدند که دام‌های گروه واکل وسالم از نظر عوامل مخدوشگر مانند میزان تولید شیر، فصل سال، تعداد شکم زایش و دیگر عوامل مخدوشگر مشابه باشند. باوجود این، در ابتدای بررسی نتایج، یکسان بودن شاخص‌های مخدوشگر ذکرشده مورد بررسی قرار گرفت.در ادامه کارخون ورید زیر دمی دام اخذ و سرم آن پس از جدا شدن در دام‌پروری منجمد و به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه غلظت استرادیول سرم به کمک روش (E2-17-β Radio RIA immune assay kit; Specteria, Finland) تعیین شد. میزان کش آمدن، شفاف بودن و سرخسی شدن لیزابه در زمان تلقیح تعیین گردید. همچنین کشت باکتری شناسی از تمام لیزابه‌ها انجام شد.

میزان سرخسی‌شدن با قراردادن لیزابه روی لام و خشک‌کردن آن و سپس قرار دادن لام در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی ۴۰× هم به‌طور ساده با چشم و هم به کمک نرم‌افزار فتوشاپ بررسی شد. در بررسی بدون فتوشاپ برای تعیین میزان از یافته‌های Noonan و همکاران درسال۱۹۷۵استفاده شد و برحسب میزان فضای اشغال شده با کریستال‌ها در زیر میکروسکوپ سرخسی شدن به پنج گروه تقسیم شد: گروه ۱- عالی(>۸۰٪)، گروه۲- خوب(۸۰-۶۰٪)، گروه ۳- متوسط(۶۰-۴۰٪) گروه ۴- ضعیف (۴۰-۲۰٪) گروه ۵- منفی(<۲۰٪). در بررسی به کمک نرم افزار فتوشاپ نخست از میدان میکروسکوپی عکس گرفته شد و تصاویر وارد کامپیوتر شد. سپس میزان فضای قرار گرفته در قسمت سرخسی شدن با فضای خالی از آن به کمک نرم افزار فتوشاپ مقایسه شد و با استناد به Noonan و همکاران درسال۱۹۷۵میزان سرخسی شدن مشابه روش بررسی بدون استفاده از فتوشاپ طبقه بندی شد.

در بررسی میزان منظم بودن کریستال‌ها در زیر میکروسکوپ مطابق روش Noonan و همکاران در سال ۱۹۷۵مواردی که شکل کریستال کاملا واضح و راس اضلاع آن کاملا تیز بود درجه خوب، اگر راس اضلاع کاملا گرد و نامنظم بود درجه بد و حالت بین این دو مورد درجه میانی درنظر گرفته شد.

میزان کش آمدن لیزابه در بین دو انگشت شصت و نشانه بررسی و برحسب *سانتی‌متر* در پنج گروه تقسیم شد. درجه یک از ۰ تا ۵، درجه دو از ۵ تا ۱۰، درجه سه از ۱۰تا ۱۵، درجه چهار از ۱۵ تا ۲۰ و درجه پنج بیش‌تر از ۲۰*cm* در نظر گرفته شد. در درجه‌بندی میزان کش آمدن لیزابه از یافته‌های Mahesh و همکاران درسال ۲۰۱۰ استفاده شد.

تشخیص آبستنی دام‌ها به کمک سونوگرافی (Imago, ECM, France) در روز ۳۰ و با پراب *mHZ* ۵ بررسی شد.

آزمایش باکتری شناسی طبق معمول با کشت اولیه ۱۰ میلی لیتر از نمونه‌های لیزابه فحلی در محیط بلاد آگار و مک کانکی، در درجه حرارت ۳۷ درجه سانتیگراد و به مدت ۲۴ تا ۴۸ ساعت در شرایط هوازی انجام شد. تشخیص اولیه پرگنه‌های میکروبی بر اساس رنگ گرم، مورفولوژی پرگنه‌ها، الگوی همولیز انجام شد. سپس پرگنه خالص مورد نظر از هر باکتری شناسایی شده در محیط بلاد آگار یا مک کانکی و در پی آن در محیط TSI و SIM طی ۲۴ ساعت و درجه حرارت ۳۷ درجه سانتی‌گراد و در شرایط هوازی کشت به طور مجدد کشت داده شد و برای تشخیص نهایی از فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، کوآگولاز و اکسیداز و حضور لاکتوز در آن‌ها استفاده شد.

فرضیه اصلی پژوهش آن بود که میزان کش آمدن، شفاف بودن و سرخسی شدن لیزابه در موارد سالم از واکل و در موارد آبستن از غیرآبستن بیش‌تر است. توزیع دام‌ها در دام سالم و واکل مورد مطالعه به کمک آزمون Chi square و در صورت لزوم و Fisher exact مقایسه شد. به دلیل بیش‌تر بودن تعداد گروه‌های تحت مطالعه، تمام موارد مورد بررسی شده با مربع کای با آزمون Log linear نیز بررسی شدند. ارتباط متغیرهای اسمی و رتبه‌ای با آزمون Spearman correlation مورد بررسی قرار گرفت. برای بررسی نرمال بودن توزیع داده‌های کمی از آزمون One-Sample Kolmogorov-Smirnov استفاده شد. برای مقایسه متغیرهای کمی دارای توزیع نرمال در دو گروه از آزمون T Student- و در چند گروه از آزمون One-way analyse of variance استفاده شد. در مقایسه موارد بدون توزیع نرمال و در چندگروه از آزمون Kruskal-Wallis استفاده شد. میانگین در مواردی که تعداد دام‌ها در گروه‌ها برابر نبود به جای انحراف معیار(M±SD) همراه با خطای معیار(M±SE) ارائه شد. همچنین خطای نوع اول α برابر ۰/۰۵ و سطح معنی‌داری P<۰/۰۵ در نظر گرفته شد. متاسفانه خطای نوع دوم و تعداد نمونه‌ها در براساس فرمول آماری استاندارد فراهم نشد.

نتایج

میانه عوامل مخدوش‌گری که توزیع غیرنرمال داشتند مانندرجه BCS (واکل آبستن= ۲,۵، واکل غیرآبستن= ۲,۵، سالم آبستن=۲,۵ و سالم غیرآبستن=۲,۵)، (P=۰/۹) و تعداد شکم زایش (واکل آبستن=۲، واکل غیرآبستن=۱، سالم آبستن= ۱ و سالم غیرآبستن= ۲,۵)، (P=۰/۳) با آزمون کروسکال- والیس در تمام گروه‌ها بررسی شد و اختلاف آماری یافت نشد. در بررسی میانگین تولید شیر (واکل آبستن=۳۱، واکل غیرآبستن=۳۱، سالم آبستن=۳۱ و سالم غیرآبستن=۳۲) پس از اثبات نرمال بودن توزیع این صفت و استفاده از آزمون آنالیز واریانس، عدم اختلاف به اثبات رسید (P=۰/۳). از میان ۴۲ رأس گاو واکل ۳۴ راس غیرآبستن ماند و ۸ راس آبستن شد ولی از میان ۱۸ رأس گاو سالم ۱۰ راس غیرآبستن ماند و ۸ راس آبستن شد. در بررسی میزان کش‌آمدن لیزابه، توزیع دام‌ها دربین گاوهای واکل(آبستن و غیرآبستن) و سالم

(آبستن و غیرآبستن) (نمودار۱) تفاوت معنی‌داری داشت (P=۰/۰۱) توزیع نسبی دام‌های گروه غیر واکل-آبستن در کش آمدن *cm* ۱۰-۱۵ (درجه ۳) از همه بیش‌تر (۴۰٪) بود ولی درگروه واکل– غیرآبستن در کش آمدن *cm*۱۵-۲۰ (درجه ۴) از همه بیش‌تر(٪ ۳۲/۴) بود. میان افزایش میزان کش‌آمدن و واکل شدن (r=+۰/۰۰۵, p=۰/۹) یا آبستن شدن(P=۰/۸ P=+۰/۰۲۵,) ارتباط معنی‌داری یافت نشد. بااین‌حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف کش‌آمدن لیزا به بررسی شد ولی تاثیر معنی‌داری یافت نشد (P>۰/۰۵). پس‌از اطمینان یافتن از نرمال بودن توزیع میزان کش آمدن لیزابه (برحسب *cm*)، این شاخص در بین گروه واکل غیرآبستن (۰/۲۳ ± ۳/۱۵)، واکل آبستن (۰/۳± ۳/۲۵)، سالم غیرآبستن (۰/۴±۳/۱۳) و سالم آبستن (۰/۳±۳/۳) با آزمون One-way analyse of variance مقایسه شد (جدول۱) و اختلافی مشاهده نشد(P=۰/۹).

توزیع دام‌ها درگروه‌های مختلف سرخسی‌شدن بررسی شده بدون فتوشاپ (نمودار ۲ و شکل ۱) اختلاف معنی‌داری داشت (P=۰/۰۰۷). بیش‌ترین درجه سرخشی شدن بررسی شده بدون فتوشاپ در گروه واکل غیرآبستن و سپس در گروه سالم غیرآبستن دیده شد به گونه‌ای که ۵۰٪ واکل‌های غیرآبستن و ۳۵/۵ ٪ سالم‌های غیرآبستن در گروه بیش‌ترین درجه سرخسی شدن قرار داشتند. در گروهی که سرخسی‌شدن نشان ندادند تنها ۴ راس(٪۱۱) از دام‌های واکل غیرآبستن قرار داشتند. باتوجه به داده‌های ذکرشده به نظر می‌رسد سرخسی‌شدن تغییرات خطی نداشت. از سوی دیگر بیش‌ترین میزان دام سالم آبستن(۶ راس، ۶۰٪) در گروه سرخسی‌شدن میانی و بیش‌ترین میزان دام واکل غیرآبستن (۱۳راس، ۳۸٪) در گروه سرخسی‌شدن خوب قرار داشت. با این حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها درگروه‌های مختلف سرخسی‌شدن لیزابه تعیین شده بدون فتوشاپ درگروه‌های مختلف واکلی- آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد (P>۰/۰۵). آزمون اسپیرمن ارتباط معنی‌داری بین باروری و سرخسی‌شدن نشان نداد (P=۰/۴۸). میانه درجه سرخسی‌شدن که توزیع نرمال نداشت دربین گروه واکل غیرآبستن (۲/۵)، واکل آبستن (۳)، سالم غیرآبستن (۲) و سالم آبستن (۳) با آزمون Kruskal-Wallis مقایسه شد (جدول۲) و اختلافی مشاهده نشد (P=۰/۳).

بررسی سرخسی‌شدن با فتوشاپ (نمودار ۳) نشان داد که هیچ یک از گروه‌های تحت مطالعه سرخسی‌شدن شدید بیش‌تر از ۸۰٪ را نشان ندادند. سرخسی‌شدن ۶۰ تا ۸۰٪ نیز در گروه واکل غیرآبستن بیش‌ترین توزیع نسبی (۵۰٪) را داشت. در کم‌ترین میزان سرخسی‌شدن که کم‌تر از ۲۰٪ بود دام‌های غیرآبستن از هر دو گروه واکل و سالم با توزیع نسبی ۴۰٪ قرار داشتند. Fisher exact test اختلاف توزیع دام در درجات مختلف سرخسی‌شدن را معنی‌دار دانست(P=۰/۰۱). با این حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف سرخسی‌شدن لیزابه تعیین شده با فتوشاپ درگروه‌های مختلف واکلی- آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد (P=۰/۰۵). در مقایسه میانه سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ(جدول۳) که در سالم آبستن و غیرآبستن برابر ۴ و در واکل آبستن و غیرآبستن برابر ۳ بود آزمون Kruskal-Wallis اختلافی نشان نداد(P=۰/۱). آزمونSpearman correlation میان درجات سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ و واکلی رابطه منفی معنی‌داری (P=۰/۳۰۷, P=۰/۰۱۷) نشان داد. به‌عبارت دیگر با افزایش درجه سرخسی‌شدن

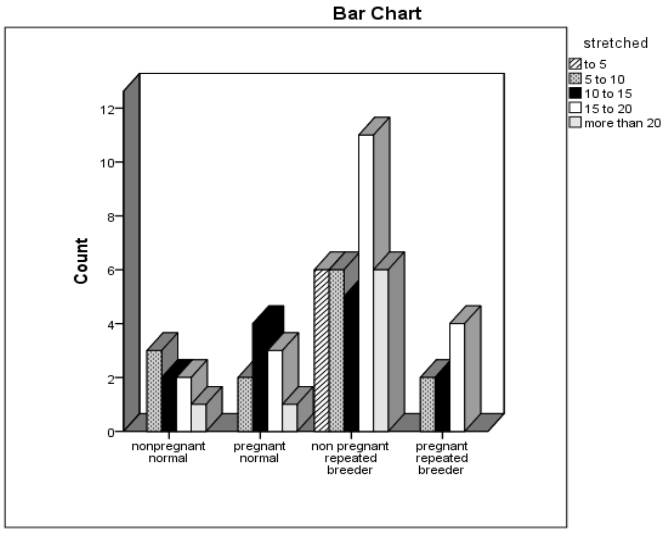
احتمال واکلی کاهش یافت. میان آبستن شدن و درجات سرخسی شدن بررسی شده با فتوشاپ ارتباط معنی‌داری یافت نشد (r=۰-/۰۵, P=۰/۶۵).

مقایسه توزیع دام‌ها در درجات مختلف منظم بودن کریستال‌های سرخسی شکل(نمودار۴) با Fisher exact test اختلاف معنی‌داری نشان داد (P=۰/۰۱۹) به گونه‌ای که ۵۰٪ دام‌های سالم غیرآبستن و ۸۰٪ دام‌های سالم آبستن درجه میانی منظم بودن کریستال را داشتند. همچنین۴۷٪ دام‌های واکل‌غیرآبستن نیز درجه میانی منظم بودن را داشتند. در گروه واکل آبستن۳۷/۵ ٪ ازدام‌ها درجه خوب منظم بودن کریستال‌های سرخسی و ۳۷/۵ ٪ نیزدرجه بد را نشان دادند. از سوی دیگر بیش‌ترین میزان دام در درجه خوب منظم بودن کریستال‌های سرخسی (۵۸/۳ ٪) در واکل‌آبستن و بیش‌ترین میزان دام در درجه بد منظم بودن کریستال‌های سرخسی (۶۱ ٪) نیز در همان گروه قرار داشت. در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها درگروه‌های مختلف منظم بودن لیزابه درگروه‌های مختلف واکلی- آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد (P>۰/۰۵). به همین دلیل یافته باارزشی از بررسی این شاخص به دست نیامد. میانه درجه منظم بودن در تمام گروه‌های واکل و سالم برابر ۲ بود و اختلاف معنی‌داری یافت نشد(P=۰/۸۵) آزمون Spearman correlation میان درجه منظم بودن کریستال‌ها و گروه‌های محتلف مورد بررسی از نظر واکل بودن یا آبستن بودن ارتباطی نیافت (P=۰/۷).

در مقایسه اختلاف توزیع دام‌ها در گروه‌های دارای لیزابه شفاف یا کدر(نمودار۵) Fisher exact test اختلاف را معنی‌دار دانست (P=۰/۰۰۳). در گروه دارای لیزابه شفاف بیش‌ترین توزیع نسبی (۵۹/۲ ٪) مربوط به گروه واکل غیرآبستن بود. در گروه دارای لیزابه کدر نیز بیش‌ترین توزیع نسبی مربوط به همان گروه واکل غیرآبستن بود. در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها درگروه‌های مختلف شفاف بودن لیزابه درگروه‌های مختلف واکلی- آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد (P>۰/۰۵). میانه درجه شفاف بودن در همه موارد ۲ و تنها در گروه واکل آبستن ۱/۵ بود در حالیکه دراین قسمت درجه ۲ کدر و درجه ۱ شفاف درنظرگرفته شد. آزمون کروسکال- والیس اختلاف را معنی‌دار ندانست(P=۰/۰۶). آزمون اسپرمن نیز رابطه آماری معنی‌داری بین درجه شفاف بودن لیزابه و واکلی (P=۰/۴) یا آبستنی (P>۰/۵) نیافت.

آزمون One-Sample Kolmogorov-Smirnov توزیع مقادیر استرادیول- ۱۷- بتا در زمان تلقیح را نرمال دانست به عبارت دیگر فرضیه نرمال نبودن رد شد(P=۰/۲۷۸) غلظت استرادیول(*pg/ml*) دربین گروه واکل غیرآبستن (۲/۴ ± ۸)، واکل آبستن (۱/۷ ± ۴/۷)، سالم غیرآبستن (۱/۵± ۴)و سالم آبستن (۳±۵/۳) با آزمون آنالیزواریانس یک طرفه بررسی شد (جدول۴) و اختلافی یافت نشد (P=۰/۷). آزمون اسپیرمن میان غلظت استرادیول و شفاف بودن (P=۰/۸)، کش آمدن (P=۰/۴) و سرخسی‌شدن (P=۰/۰۵) لیزابه ارتباط آماری نشان نداد.

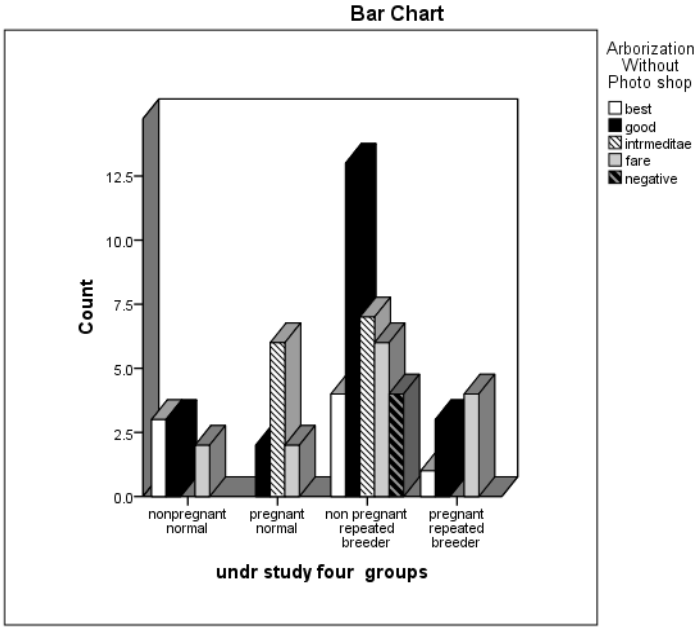
در مقایسه باکتری‌های جدا شده از درجات مختلف شفاف بودن، سرخی شدن و کش آمدن لیزابه فحلی (جدول ۵) آزمون آماری کروسکال-والیس اختلاف آماری مشاهده نکرد (P>0.05). با این حال مقایسه توزیع باکتری‌های جدا شده از گروه‌های مختلف دامی (جدول ۶) تحت بررسی با آزمون فیشر (در تکمیل آزمون مربع کای) اختلاف معنی‌داری نشان داد (P=0.00)



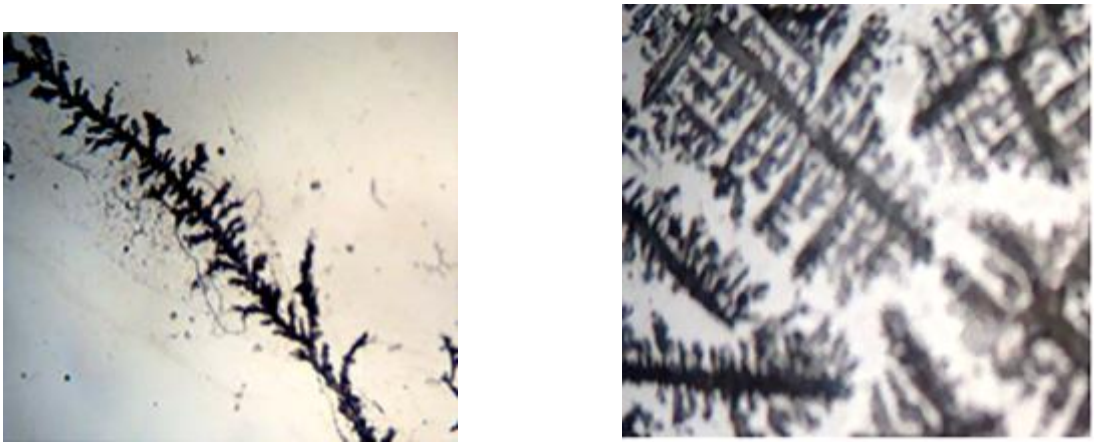
نمودار۱- مقایسه توزیع نسبی دام‌های واکل یا سالم آبستن و غیرآبستن در درجات مختلف کش آمدن لیزابه (P=۰/۰۱).

جدول (۱) مقایسه میانگین میزان کش آمدن لیزابه در گروه‌های مختلف (P=۰/۹).

گروه آزمایشی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار	کمینه	بیشینه
سالم غیرآبستن	۸	۳/۱۳	۱/۱۳	۰/۴	۲	۵
سالم آبستن	۱۰	۳/۳	۰/۹۵	۰/۳	۲	۵
واکل غیر آبستن	۳۴	۳/۱۵	۱/۴	۰/۲۳	۱	۵
واکل آبستن	۸	۳/۲۵	۰/۹	۰/۳	۲	۴
جمع	۶۰	۳/۱۸	۱/۲	۰/۱۶	۱	۵



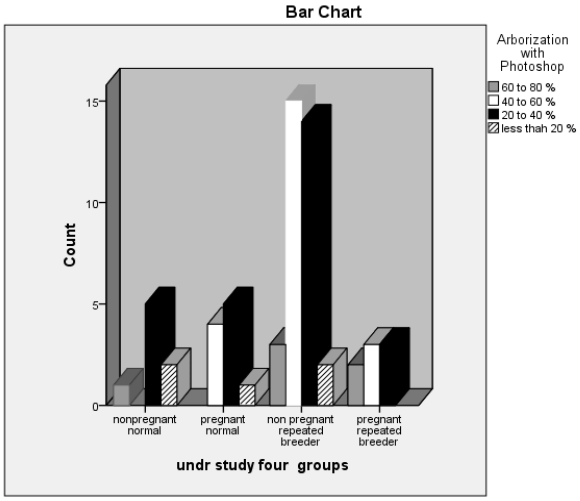
نمودار۲- مقایسه توزیع نسبی دام‌های واکل یا سالم آبستن و غیرآبستن در درجات مختلف سرخسی شدن بررسی‌شده بدون فتوشاپ (P=۰/۰۰۷).



شکل ۱- درجه شدید (راست۶۰×) و خفیف (چپ۴۰×) سرخسی‌شدن لیزابه فحلی (P=۰/۰۰۷) درزیر میکروسکوپ.

جدول (۲) مقایسه میانه و میانگین سرخسی‌شدن بررسی شده بدون فتوشاپ در بین گروه‌ها (P=۰/۳).

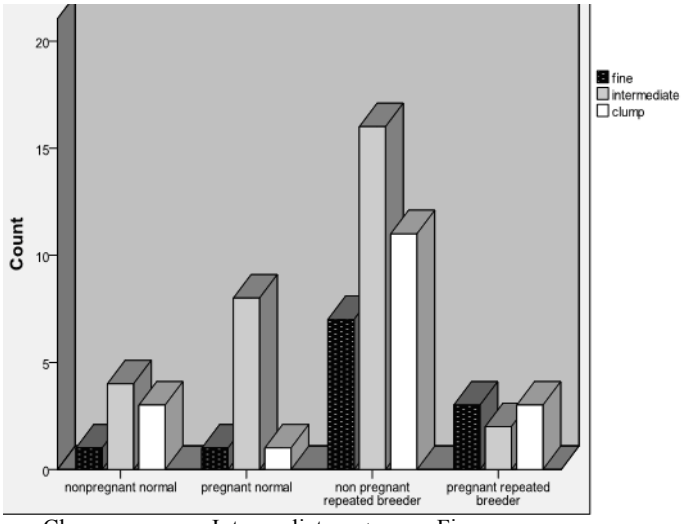
گروه	تعداد	میانگین	خطای معیار	میانه
سالم غیرآبستن	۸	۲/۱	۰/۴۴	۲
سالم آبستن	۱۰	۳	۰/۲۱	۳
واکل غیرآبستن	۳۴	۲/۸	۰/۲۱	۲/۵
واکل آبستن	۸	۲/۹	۰/۴۴	۳
جمع	۶۰	۲/۸	۰/۱۵	۳



نمودار۳- مقایسه توزیع نسبی دام‌های واکل یا سالم آبستن و غیرآبستن در درجات مختلف سرخسی شدن بررسی‌شده با فتوشاپ (ازکم‌تراز ۲۰ تا ۸۰٪ سرخسی‌شدن) (P=۰/۰۱)

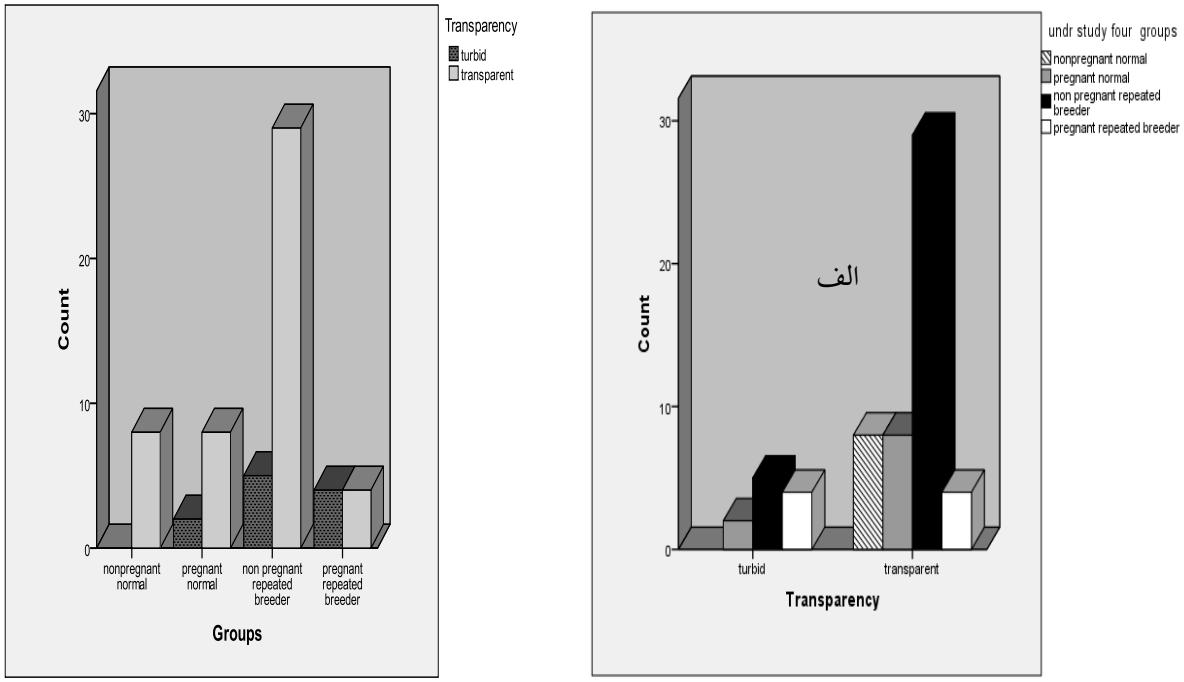
جدول (۳) مقایسه میانه و میانگین سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ در بین گروه‌های مختلف دامی (P=۰/۱)

گروه	تعداد	میانگین	خطای معیار	میانه
سالم غیرآبستن	۸	۴	۰/۳۳	۴
سالم آبستن	۱۰	۳/۷	۰/۲۱	۴
واکل غیرآبستن	۳۴	۳/۴	۰/۱۲	۳
واکل آبستن	۸	۳/۱	۰/۳	۳
جمع	۳۴	۳/۵	۰/۱	۴



درجه خوب=Fine ,درجه میانی=Intermediate ,درجه ضعیفClump

نمودار(٤) مقایسه توزیع نسبی دام در درجات مختلف منظم بودن کریستال‌های لیزابه (P=۰/۰۱۹).



ب الف

نمودار۵ - (الف- راست) مقایسه توزیع دام‌های واکل یا سالم آبستن و غیرآبستن در لیزابه فحلی شفاف و غیر شفاف (ب- چپ) مقایسه توزیع دام‌های دارای لیزابه شفاف یا کدر در بین چهار گروه دامی (واکل یا سالم، آبستن یا غیرآبستن) (P=۰/۰۰۳).

جدول (٤) مقایسه غلظت استرادیول در بین گروه‌های مختلف دامی (P=۰/۷) .

گروه	تعداد	میانگین	خطای معیار	میانه
سالم غیرآبستن	۴	۴	۱/۵	۴/۳
سالم آبستن	۳	۵/۳	۳	۴/۵
واکل غیرآبستن	۱۱	۸	۲/۴	۴/۵
واکل آبستن	۲	۴/۷	۱/۷	۴/۷
جمع	۲۰	۶/۵	۱/۵	۴/۵

جدول (۵) مقایسه باکتری‌های جدا شده از درجات مختلف شفاف بودن، سرخی شدن و کش آمدن لیزابه فحلی(P>0.05).

	شاخص‌های بررسی لیزابه فحلی			
نتیجه کشت باکتری	کش آمدن	سرخی شدن چشمی	سرخی شدن میکروسکوپس	کیفیت سرخی شدن
بدون کشت	۳	۳	۴	۲
آلوده	۴	۲	۳	۲
تروپرلا پیوژنز	۳/۵	۳	۳/۵	۲/۵
اششریشیا کلی	۴	۳	۳/۵	۲
استافیلوکوک بتا هموالتیک	۳	۴	۴	۲
کلبسیلا	۲	۲	۳	۱
جمع	۳	۳	۴	۲

جدول (٦) مقایسه توزیع باکتری‌های جدا شده از گروه‌های مختلف دامی(P=0.00)

گروه	نتیجه کشت باکتری شناسی						جمع
	باکتری جدا نشد	آلودگی	*تروپرلا پیوژنز*	*اشریشیا کلی*	*استاف بتاهموالتیک*	*کلبسیلا*	
غیرآبستن-سالم	۲	۶	۰	۰	۰	۰	۸
آبستن-سالم	۶	۴	۰	۰	۰	۰	۱۰
غیرآبستن-اکل	۱۰	۱۱	۰	۵	۶	۲	۳۴
آبستن-واکل	۱	۲	۲	۱	۱	۱	۸
جمع	۱۹	۲۳	۲	۶	۷	۳	۶۰

بحث و نتیجه گیری

با توجه به اینکه کش آمدن لیزابه در گروه‌های مختلف تفاوت معنی‌داری داشت و میزان دام سالم آبستن بیش‌تر از همه در گروه کش آمدن ۱۰*cm*-۱۵(درجه ۳) قرار داشت این درجه از کش‌آمدن را باید به‌ترین درجه درنظرگرفت. از سوی دیگر میزان دام واکل‌غیرآبستن بیش‌تر از همه در گروه ۲۰*cm*- ۱۵ درجه (درجه ۴) قرار داشت به همین دلیل این درجه از کش آمدن را باید بدترین درجه دانست. همچنین گروه کش آمدن کم‌تر از ۵ و بیش‌تر از۲۰*cm* باید از همه حالت‌های کش‌آمدن نامناسب‌تر در نظر گرفته شد زیرا با میزان دام واکل غیرآبستن بیش‌تری روبرو بود. بااین‌حال یافت نشدن ارتباط معنی‌دار میان کش آمدن و واکلی نشان از ساده و خطی نبودن تغییرات میزان کش آمدن لیزابه داشت. درنهایت چون میانگین میزان کش آمدن در گروه واکل و سالم تفاوتی نداشت و تعداد نمونه‌ها در گروه‌های واکل و سالم بررسی شده با آزمون مربع کای برابر نبود می‌توان برای تفاوت‌های یافت شده اعتبارچندانی قائل نشد.

در بررسی سرخسی شدن لیزابه با چشم، اختلاف توزیع دام درگروه‌های مختلف واکل(آبستن و غیرآبستن) و غیرواکل (آبستن و غیرآبستن) معنی‌دار بود و بیش‌ترین میزان دام سالم آبستن(۶ راس معادل۶۰٪) در گروه سرخسی‌شدن میانی و بیش‌ترین میزان دام واکل غیرآبستن (۱۳راس، ۳۸٪) در گروه سرخسی‌شدن خوب قرار داشت. بنابراین می‌توان درجه سرخسی‌شدن میانی (درجه ۳) را به‌ترین و درجه سرخسی‌شدن خوب را بدترین درجه درنظر گرفت. با این حال با توجه به اینکه تغییر میزان سرخسی‌شدن در دیگر گروه‌های دامی با الگوی ثبیتی تغییر نمی‌کرد و از سوی دیگر میانه درجه سرخسی‌شدن تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها نداشت و ارتباط آماری میان درجه سرخسی‌شدن و واکلی یا آبستنی یافت نشد یافته‌های مربوط به این شاخص را نیز می‌توان کم اهمیت دانست.

در مقایسه میانه سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ که در دام‌های سالم (آبستن و غیرآبستن) برابر ۴ و در دام‌های واکل (آبستن و غیرآبستن) برابر ۳ بود با وجود معنی‌دار نبودن اختلاف‌ها از دیدگاه آماری، به نظر می‌رسد با افزایش داده‌ها شاید این شاخص در بین واکل و سالم‌ها اختلاف معنی‌داری بیابد و بتوان از این شاخص در تشخیص عارضه واکلی استفاده کرد. باتوجه به این‌که بین درجات سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ و واکلی رابطه منفی معنی‌داری یافت شد درظاهر باید نتیجه گرفت با افزایش درجه سرخسی‌شدن احتمال واکلی کاهش یافت ولی سرخسی‌شدن ۶۰ تا ۸۰٪ در گروه واکل غیرآبستن بیش‌ترین توزیع نسبی (۵۰٪) را داشت که نشان می‌دهد افزایش شدید میزان سرخسی‌شدن صفت مطلوبی تلقی نمی‌شود. در کم‌ترین میزان سرخسی‌شدن (کم‌تر از ۲۰٪) دام‌های غیرآبستن از هردو گروه واکل و سالم با توزیع نسبی۴۰٪ قرار داشتند که نشان می‌دهد کم‌ترین میزان سرخسی‌شدن نیز صفت مناسبی نیست و با غیرآبستن بودن دام‌ها همراه بوده است. بیش‌ترین توزیع نسبی دام سالم آبستن در گروه سرخسی‌شدن ۴۰ تا ۶۰٪ قرار داشت، به‌همین دلیل می‌توان نتیجه گرفت این درجه از سرخسی‌شدن به‌ترین درجه سرخسی‌شدن بررسی شده با فتوشاپ است. علت استفاده از نرم افزار فتوشاپ در بررسی میزان سرخسی شدن کاهش احتمال خطای انسانی در بررسی سرخسی شدن بود. با توجه به تناقض‌های موجود در ارزیابی میزان سرخسی شدن با آزمون‌های مختلف، از ارزش این شاخص نیز کاسته می‌شود. به دلیل تایید نشدن تفاوت آماری توزیع دام‌ها در درجات مختلف سرخسی شدن با آزمون لوگاریتم خطی از یک سو و فقدان ارتباط میان احتمال آبستن نشدن و درجات سرخسی شدن از سوی دیگر برای وجود ارتباط منفی معنی‌دار میان احتمال واکلی و درجه سرخسی شدن نمی‌توان ارزش زیادی قائل شد.

در بررسی منظم بودن شکل کریستال‌های سرخسی شکل یافته باارزشی به‌دست نیامد به‌ویژه آن‌که میانه درجه منظم بودن در بین گروه‌ها تفاوت معنی‌داری نداشت. میزان۵۰٪ دام‌های سالم غیرآبستن و ۸۰٪ دام‌های سالم آبستن درجه میانی منظم بودن را نشان دادند ولی۴۷٪ دام‌های واکل غیرآبستن (بیش‌ترین در این گروه) نیز درجه میانی منظم بودن را داشتند. از سوی‌دیگر بیش‌ترین میزان دام گروه خوب از نظر منظم بودن کریستال‌ها (۵۸,۳٪) در واکل آبستن و بیش‌ترین میزان دام گروه بد از نظر منظم بودن کریستال‌ها (۶۱٪) نیز در همان گروه قرار داشت. ارتباط آماری معنی‌داری نیز میان درجه منظم بودن شکل کریستال‌ها و واکلی یا ابستنی یافت نشد.

سرخسی شدن به دلیل تشکیل کریستال املاح در لیزابه فحلی است (۹ و۱۷) و افزایش غلظت استرادیول قادراست سبب افزایش احتباس سدیم و املاح مرتبط با آن در مایعات بدن شود (۱۱و ۱۵) به‌همین‌دلیل انتظار می‌رفت میان میزان سرخسی شدن لیزابه و غلظت استرادیول سرم گاو ارتباط آماری یافت شود. خطی نبودن رابطه در میان سرخسی‌شدن و باروری نیز مشاهده شد که ناشی از پیچیده بودن این رابطه است و میزان کاربرد آن را کاهش می‌دهد.

در بررسی میزان شفاف بودن لیزابه مشخص شد در گروه دارای لیزابه شفاف بیش‌ترین توزیع نسبی (۵۹,۲٪) مربوط به گروه واکل غیرآبستن بود البته در گروه دارای لیزابه کدر نیز بیش‌ترین توزیع نسبی مربوط به همان گروه واکل غیرآبستن بود به‌همین دلیل و نیز به دلیل تفاوت نداشتن میانه درجه شفاف بودن در بین گروه‌ها و فقدان ارتباط آماری میان درجه شفاف بودن

و واکل یا آبستن بودن یافته‌های این شاخص نیز از ارزش کاربردی بهره مند نبود.

میزان کش آمدن و شفاف بودن لیزابه نیز بازتابی از میزان پروتئین، سلول‌های التهابی و ماده خشک موجود در لیزابه است که می‌تواند تحت تأثیر غلظت استرادیول قرار گیرد(۲) ولی چنین فرضیه‌هایی در نتایج حاصل از این تحقیق به تأیید نرسید.

در مطالعه Bernardi و همکاران در سال ۲۰۱۶ زلال بودن لیزابه و درجه سرخسی شدن میانی (درجه ۲/۵) با باروری بیش‌تری همراه بود و از این نظر با مطالعه حاضر همخوانی داشت هرچندکه در مطالعه حاضر بیش‌تر تغییرات بحث شده پیرامون زلال بودن یا سرخسی‌شدن‌معنی‌دار نبود(۴).

در مطالعه Maheshوهمکاران درسال۲۰۱۰ تعداد ۲۴ رأس گاو واکل Deoni انتخاب شد و مشاهده شد که حدود ۸۱٪ از گاوهای آبستن و تنها ۵۵/۵ ٪ از غیر آبستن‌ها سرخسی شدن کامل را نشان دادند. حالت کش آمدن لیزابه بین دو انگشت یا spinnbarkeit در آبستن‌ها *cm* ۲/۷ ± ۲۴/۶۷ ودر غیر آبستن‌ها *cm* ۱/۳۲ ± ۲۲/۲۱ بود(۱۵). یافته‌های ایشان با یافته‌های این تحقیق هم سویی نداشت. شاید این حالت ناشی از زیاد بودن دور از انتظار استرادیول سرمی در گاوهای غیر آبستن و واکل در پژوهش حاضر باشد. استرادیول می‌تواند سبب احتباس سدیم و آب در مایعات بدن شود. در یافته‌هایModi وهمکاران درسال ۲۰۰۷ کدر و غلیظ بودن لیزابه و سرخسی شدن غیرمعمول در واکل‌ها بیش‌تر مشاهده شد ولی در پژوهش پیش رو شفاف بودن با ناباروری بیش‌تری همراه بود که احتمالاً علت آن می‌تواند رقیق شدن بیش‌ازحد با اگزودای آندومتریت غیر بالینی و یا به هر دلیل دیگری باشد(۱۹).

در مطالعه Noonan و همکاران درسال۱۹۷۵ کامل‌ترین حالت سرخسی‌شدن و کم‌ترین غلظت ماده خشک لیزابه فحلی در استروس و برعکس ناقص‌ترین حالت سرخسی‌شدن و بیش‌ترین غلظت ماده خشک لیزابه فحلی در پایان پرواستروس بود. ایشان همچنین میان کامل بودن حالت سرخسی‌شدن و کم بودن ماده خشک در استروس و باروی به‌تر ارتباط معنی‌داری یافتند(۲۳). البته ارتباط یافته‌های مربوط به سرخسی‌شدن و غلظت ماده خشک لیزابه با هورمون‌ها مطرح شد ولی دقت یافته‌ها در حدی نبود که زمان استروس یا تخمک‌گذاری را از روی آن‌ها بتوان پیش‌بینی کرد.

مطالعات مشابهی در دیگر دام‌ها نیز انجام‌شده است. محمود در سال ۲۰۱۳ در میش نشان داده است ویسکوزیته، غلظت، الاستیسیته، پروتئین و گلوکز لیزابه میش‌هایی که به‌طور طبیعی فحل شده بودند از میش‌هایی که با اسفنج واژنی فحل شده بودند بیش‌تر بود(۱۷).

هدف از بررسی استرادیول در مطالعه پیش رو آن بود که اگر تاثیر معنی‌داری از یکی از شاخص‌های لیزابه مشاهده شود امکان تاثیر استرادیول بر آن شاخص نیز بررسی شود. مقادیر استرادیول یافت شده در این پژوهش قابل‌مقایسه با یافته‌های دیگر محققین است. در برخی پژوهش‌ها مقادیر استرادیول سرمی در زمان ایستا فحلی *pg/ml* ۲/۳۹ ± ۷/۷۶ بود که با دامنه تغییرات پژوهش حاضر مشابه است(۱۲). در یافته‌های لوپز و همکاران در سال ۲۰۰۵ میزان استرادیول در گاوهای دارای یک تخمک‌گذاری *pg/ml* ۰/۳ ± ۵/۵ ودرگاوها همراه با چند تخمک‌گذاری *pg/ml* ۰/۴ ± ۷/۸ بود (۱۳). در یافته‌های پراسدینی و همکاران درسال۲۰۱۵ میزان استرادیول سرمی در اولین فحلی پس از زایمان در گروه شاهد *pg/ml* ۰/۹۵ ± ۷/۸۱ و

در گروه درمان شده با ویتامین ای و سلنیوم ۱۰/۱۴ ± ۰/۸۴*pg/ml* بود که نشان از تأثیر مثبت درمان با سلنیوم بر میزان استرادیول و همچنین مشابه بودن مقادیر استرادیول با پژوهش حاضر دارد (۲۴). بااین‌وجود در برخی یافته‌های علمی مقادیر بیش‌تری از استرادیول سرمی در گاوهای فحل یافت شده است. به‌عنوان‌مثال موندال و همکاران درسال۲۰۰۶ میزان استرادیول سرمی شروع فحلی گاورا ۰/۷۹ ± *pg/ml* ۲۷/۲۹ گزارش کرده‌اند (۲۰). اریجی و همکاران درسال۱۹۷۴ میزان استرادیول سرمی در اوج مقادیرش که در ۲ روز قبل از فحلی مشاهده کرد را ۵۰۰ *pg/m* برآورد کرده است (۱). طباطبایی درسال۲۰۱۴ نیز میزان استرادیول زمان فحلی را ۲۲/۶۲ ± ۱۰۵/۳۰ برآورد کرده است(۳۲).

خاطرنشان می‌گردد در پژوهش پیش‌رو، با توجه به غیر تصادفی بودن نمونه‌گیری به‌منظور یکسان‌سازی عوامل متعدد مؤثر بر باروری درعمل امکان بروز تفاوت‌های قابل‌توجه در استرادیول سرم کاهش‌یافته است. بنابراین تحقیق حاضر در بررسی اثر استرادیول ضعیف است و به‌تر است در تحقیق دیگری این ایراد اصلاح‌شده و به عنوان مثال دام‌های تحت تأثیر استرس پرشیری بادام‌های معمولی مقایسه شوند تا اختلاف میان استرادیول سرمی آن‌ها فاحش‌تر و امکان بررسی اثر آن فراهم باشد. مشکل دیگری که در پژوهش پیش رو وجود دارد اندازه‌گیری نشدن مقادیر پروژسترون است. در یافته‌های Tsiligianni و همکاران درسال۲۰۱۱ کاهش پروژسترون قبل از تخمک‌گذاری با تغییرات مورد بحث در ترشحات واژنی مرتبط بود ولی در افزایش بیش‌ازحد استرادیول در چنین زمانی ارتباطی یافت نشد(۳۳). بنابراین توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی علاوه بر استرادیول ۱۷- بتا، تغییرات پروژسترون سرم گاو فحل در ارتباط با شاخص‌های لیزابه فحلی موردبررسی قرار گیرد. همچنین توصیه می‌شود در پژوهش‌های بعدی میزان ماده خشک و درنتیجه غلظت لیزابه و شمارش تعداد نوتروفیل و کشت میکروبی لیزابه در دام‌های واکل و سالم نیز انجام شود.

در مقایسه باکتری‌های جدا شده از درجات مختلف شفاف بودن، سرخی شدن و کش آمدن لیزابه فحلی، آزمون آماری کروسکال-والیس اختلاف آماری مشاهده نکرد (P>0.05) ولی مقایسه توزیع باکتری‌های جدا شده از گروه‌های مختلف دامی تحت بررسی با آزمون فیشر اختلاف معنی داری نشان داد(P=0.00). از چنین یافت‌هایی می‌توان نتیجه گرفت که باکتری‌های اصلی مولد نازایی در گاو مانند *اشریشیا کلی* و *تروپرلا پیوژنز* در این مطالعه نیز مانند یافته‌های دیگر محققین سبب کاهش باروری و ایجاد واکلی شده اند (Williams et al 2005) ولی احتمالا در ایجاد چنین حالتی، در لیزابه فحلی دام‌ها از خود ردپایی برجای نگذاشته اند. شایان توجه است که اگر این باکتری‌ها در لیزابه فحلی چرک ایجاد می‌کردند مامور تلقیح مصنوعی آن‌ها را تلقیح نمی‌کرد و به این مطالعه راه نمی‌یافتند. آزمایش سیتولوژی لیزابه فحلی می‌توانست کمک مناسبی در این زمینه باشد که فقدان آن از نقاط ضعف این تحقیق به شمار می‌رود.

از این مطالعه نتیجه‌گیری شد که از میان شاخص‌های بررسی شده (کش آمدن، شفاف بودن، سرخسی شدن و منظم بودن کریسال‌های لیزابه) تنها میزان سرخسی‌شدن بررسی شده با نرم افزار فتوشاپ با آبستنی و واکل نبودن دام‌ها ارتباط معنی داری داشت (درجه ۳ سرخسی شدن برای باروری به‌ترین و درجات کم‌تر یا بیش‌تر از آن نامناسب تلقی شد. با توجه به نتایج مثبت

دیگران، تکرار مطالعه با تعداد نمونه بیش‌تر توصیه می‌شود.

منابع

1- Arije, G.R., Wiltbank, J.N., Hopwood, M.L. (1974). Hormone levels in pre and post parturient beef cows. *Journal of Animal Sciences* **39**: 38-47.

2- Barlund, C.S., Carruthers, T.D., Waldner, C.L., Palmer, C.W. (2008). A comparison of diagnostic techniques for postpartum endometritis in dairy cattle. *Theriogenology* **69**: 714-23.

3- Barrett, D.C., Boyd, I.I., Mihm, M. (2004). *Failure to conceive and embryonic loss*. In: Andrews, A.H., Blowey, R.W., Boyd, H., Eddy, R.G. *Bovine Medicine Diseases and Husbandry of Cattle.* 2nd Edition, Blackwell Sciences Ltd, London: 552 - 77.

4- Bernardi, S., Rinaudo, A., Marini, P. (2016). Cervical mucus characteristics and hormonal status at insemination of Holstein cows. *Iranian Journal of Veterinary Researches* **17**: 45-49.

5- Cheong, S. H., Nydam, D. V., Galvao, K. N., Crosier, B. M., Ricci, A., Caixeta, L. S., Sper, R.B., Fraga, M.,Gilbert, R.O. (2013). Use of reagent test strips for diagnosis of endometritis in dairy cows. *Theriogenology* **77**: 858-64.

6- Coffey, M. P., Simm, G., Brotherstone, S. (2002). Energy balance profiles for the first three lactations of dairy cows estimated using random regression. *Journal of Dairy Sciences* **85**: 2669- 78.

7- Gwazdauskas, F.C., Thatcher, W. W., Wilcox, C. J. (1973). Physiological, environmental, and hormonal factors at insemination, which may affect conception. *Journal of Dairy Sciences* **56**: 873-77.

8 Gwazdauskas, F.C., Wilcox, C. J., Thatcher, W. W. (1975). Environmental and management factors affecting conception rate in a subtropical climate; *Journal of Dairy Sciences* **58**: 88-92.

9 Hansen, P.J. (2007). *Effects of environment on bovine reproduction*. In*:* Youngquist, R.S., Threlfall, W.R. (Eds.) *Current Therapy in Large Animal Theriogenology*. 2nd Edition, Saunders-Elsevier, Saint Louis, Missoury: 431-41.

10- Harrison, R.O., Ford, S. P., Young, J.W., Conley, A.J. (1990). Increased milk production versus reproductive and energy status of high producing dairy cows. *Journal of Dairy Sciences* **73**: 2749-58.

11- LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002). The effect of treatment of clinical endometritis on reproductive performance in dairy cows. *Journal of Dairy Sciences* **85**: 2237-49.

12- Lyimo, Z.C., Nielen, M., Ouweltjes, W., Kruip, T.A. Van Eerdenburg, F.C.J.M. (2000). Relationship among estradiol, cortisol and intensity of estrous behavior in dairy cattle. *Theriogenology* **53**: 1783-95.

13- Loffler, S.H., De Vries, M.J., Schukken, Y.H., De Zeeuw, A.C., Dijkuizen, A. A., De Graaf, F.M., Brand, A. (1999). Use of AI technician scores for body condition, uterine tone and uterine discharge in a model with disease and milk production parameters to predict pregnancy risk at first AI in Holstein dairy cows. *Theriogenology* **51**: 1267-84.

14- Lopez, H., Caraviello, D.Z., Satter, L.D., Frickie, P.M., Wiltbank, M.C. (2005). Relation between level of milk production and multiple ovulations in lactating dairy cow. *Journal of Dairy Sciences* **88**: 2783-93.

15- Machado, V.S., Knauer, W. A., Bicalho, M.L.S., Oikonomou, G., Gilbert, R.O. and Bicalho, R. C. (2012). A novel diagnostic technique to determine uterine health of Holstein cows at 35 days postpartum. *Journal of Dairy Sciences* **95**: 1349-57.

16- Mahesh S.D., Khaja Mohteshamuddin, A., Awati, S.D., Tandle, M.K., Honnappagol, S.S. (2010). Evaluation of pre and post artificial insemination effect of GnRH hormone on conception of repeat breeder Deoni cows. *Veterinar World* **3**: 209- 11.

17- Mahmoud, G. B. (2013). Physical and chemical properties of ewes' cervical mucus during normal estrus and estrus induced by intravaginal sponges. Egypt. *Journal of Animal Production* **50**: 7-12.

18- Marion, G.B., Gier, H.T. (1968). Factors affecting bovine ovarian activity after parturition. *Journal of Animal Sciences* **27**: 1621-23.

19- Modi, L.C., Sathar, B.N., Nakhashi, H.C., KSharma, V., Panchasara, H.H. (2011). Physical characteristics of estrual cervical mucus and conception rate in repeat breeder kankrej cattle. Int. *Journal of Agro Veterinary Medical. Sciences* **l5**: 416-23.

20- Mondal, M., Rajkhowa, C., Prakash, B.S. (2006). Relatioship of plasma estradiol-17 β, total estrogen and progesterone to estrus behavior in Methuen (Bos frontalis) cows. *Hormonal Behaviors* **49**: 626-33.

21- Morrow, D. A. (1969). Post-partum ovarian activity and involution of the uterus and cervix of cattle. *Veterinary Scope* **14**: 2-13.

22- Noakes, D., Parkinson, T.J., England, G.C.W. (2009). *Veterinary Reproduction and Obstetrics*. 9th Edition, Saunders and Elsevier, London: 463-75.

23- Noonan, J. J., Schultz, A. B., Ellington, E. F. (1975). Changes in bovine cervical and vaginal mucus during the estrous cycle and early pregnancy. *Journal of Animal Sciences* **41**: 1084-89.

24- Pascottini, O.B., Hostens, M., Sys, P., Vercauteren, P., Opsomer, G. (2017). Risk factors associated with cytological endometritis diagnosed at artificial insemination in dairy cow. *Theriogenology* **92**: 1-5.

25- Prasdini, W.A., Rahayu, S., Sasmito Djati, M. (2015). Level of estrogen and cervical mucus pH as an indicator of estrus after calving towards the provision of selenium-vitamin E on dairy cow Frisian Holstein (FH). *International Journal of ChemTechnics Researche* **7**: 190-95.

26- Predojevic, R.M., Petrujkic, T., Petrujkic, T.B., Predojevic, M.N. (2007). Influence of the ovarian hormones on the cervical mucus (biophysical properties) and sperm transport in relation to cow's conception rates. *Lucrări Stiinłifice Medicină Veterinară* **11**: 91-4.

27- Pryce, J. E., Coffey, M. P., Brotherstone, S. (2000). The genetic relationship between calving interval, body condition score and linear type and management traits in registered Holsteins. *Journal of Dairy Sciences* **83**: 2664–71.

28- Pryce, J.E., Coffey, M.P., Simm, G. (2001). The relationship between body condition score and reproductive performance. *Journal of Dairy Sciences* **84**: 1508–15.

29- Sheldon, I.M., Cronin, J., Goetze, L., Donofrio, G., Schuberth, H.J. (2009). Defining postpartum uterine disease and the mechanisms of infection and immunity in the female reproductive tract in cattle. *Biology of Reproduction* **81:** 1025-32.

30- Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N., Dobson, H. (2002). Effect of postpartum manual examination of the vagina on uterine bacterial contamination in cows. *Veterinary Researches* **151**: 531–34.

31- Sheldon, I.M., Noakes, D.E., Rycroft, A.N., Pfeiffer, D.U., Dobson, H. (2002). Influence of uterine bacterial contamination after parturition on ovarian dominant follicle selection and follicle growth and function in cattle. *Reproduction* **23**: 837-45.

32- Tabataei, S., Moghadan, M.A., Mamouei, M., Mirzadeh, K., Aghaei, A. (2014). Hormonal profile of ovarian follicular fluid and blood plasma during different stages of estrous cycles in Holstein cattle. *Iranian Journal of Applied Animal Sciences* **4**: 263-68.

33- Tsiligiann, Ti.Th., Amiridis, GS., Dovolou, E., Menegatos, I., Chadio, S., Rizos, R., Gutierrez–Adan, A. (2011). Association between physical properties of cervical mucus and ovulation rate in super ovulated cows. *Canadian Journal of Veterinary Researches* **75**: 248-53.

34- Williams, EJ., Fischer, DP., Pfeiffer, DU.,England, GCW., Noakes, DE., Dobson, H., Sheldon, IM. (2005). Clinical evaluation of postpartum vaginal mucus reflects uterine bacterial infection and the immune response in cattle. *Theriogenology* **63**: 102-17.

Journal of Veterinary Microbiology, Volume 15, Issue 1, 2019

A comparison of microbiologic, macroscopic (stretching and transparency) and microscopic (fernization and crystals structure) characteristics of the estrous discharge in normal and repeat breeder cows

Mohammadsadegh, M.*

Associate professor in Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar Branch, Islamic Azad University, Garmsar, Iran

Received: 19 November 2017 Accepted: 25 December 2017

Abstract

In this article; 42 repeated breeders (test group), and 18 healthy (control group) and on heat Holstein cows were prepared in a farm of Khorasan-Razavi province. Their blood samples were obtained from the coccygeal vein and the isolated serum samples were frozen and sent to a laboratory, together with the heat discharge samples. In the laboratory; estradiol concentrations of serum samples were determined with RIA technique, and microbiology and the other discharge characteristics were determined grossly (transparency and stretching levels), or with a light microscope (fernization and crystals regularity). Results showed that; the mean of stretching levels (cm) (3.15±0.2, 3.25±0.3, 3.1±0.4, 3.3±0.3, P=0.9), the median of simple fernization (2.5, 3, 2, 3, P=0.3), the median of fernization levels evaluated with Photoshop software (3, 3, 4, 4, P=0.1), the crystals regularity (2, 2, 2, 2, P=.85), the median of levels of transparency (2, 1.5, 2, 2, P=0.06), the mean of concentrations of estradiol-17-β (pg/ml) (8±2.4, 4.7±1.7, 4±1.5, 5.3±0.3, P=0.7) were determined in non-pregnant (N=34) and pregnant (N=8) repeat breeder, and non-pregnant (N=10) and pregnant (N=8) normal cows, respectively. Spearman correlation test showed only a significant correlation between fernization levels evaluated with Photoshop software and different (test and control) animal groups (r= - 0.3, p=0.017). So that the third degree of fernization (equivalent to 40-60% of fernization) was considered the best degree, and the lower or the higher than it considered as unsuitable degrees. There was no significant correlation between the result of microbiologic findings and fernization, transparency, stretching levels and crystals regularity (P>0.05). However, E. coli, Klepsiella, Trueperella pyogenes and beta-hemolytic Staphylococci were significantly more isolated from repeat breeder cows (P=0.00).

It was concluded that only the middle fernization level evaluated with Photoshop software was associated with pregnancy rate.

Keywords: Fernization, Stretching, transparency, estrous discharge, estradiol-17 β concentration, repeat breeder cows

**Corresponding author: Mohammadsadegh, M.*
Address: Faculty of Veterinary Medicine, Garmsar branch, Islamic Azad university, Garmsar, Iran. Tell: +989121481137
Email: Dr.msadeg@gmail.com