

# بررسی میزان شیوع آندومتریته تحت بالینی در گاوهای شیری با استفاده از سائیتوبراش

سیدعلیرضا علوی طباطبایی<sup>۱\*</sup>، محمود بلورچی<sup>۲</sup>، حمید قاسم‌زاده‌نوا<sup>۱</sup>، پرویز تاجیک<sup>۲</sup>

## چکیده

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی سیتولوژی رحم در تشخیص آندومتریته تحت بالینی، بین روزهای ۷۰ تا ۱۷۰ شیردهی در گاوهای سالم بود. در این مطالعه ۶۲ راس گاو با روزهای شیردهی ۷۰ تا ۱۷۰ روز تحت برنامه همزمان سازی مجدد (Re-synchronization) مورد بررسی قرار گرفتند. بدین ترتیب که ۷ روز قبل از تشخیص آبستگی، برنامه همزمان سازی با تزریق یک واحد درمانی هورمون آزادکننده گونادوتروپین (GnRH) شروع شد و سپس در روز ۷ پس از تزریق GnRH، به روش اولتراسونوگرافی موارد آبستن تشخیص داده شده و از مطالعه حذف شدند و از موارد منفی نمونه سیتولوژی رحم به روش سائیتوبراش گرفته شد. سپس تزریق پروستاگلندین F<sub>2α</sub> و GnRH دوم انجام شد و برنامه همزمان سازی کامل شد. تمامی گاوها، ۲۸ روز پس از تلقیح اجباری از نظر آبستگی با اولتراسونوگرافی مورد معاینه قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد میزان آبستگی گاوهایی که درصد سلول‌های چند هسته‌ای در نمونه‌های آندومتر آنها بالاتر از ۸٪ بود نسبت به گاوهایی که درصد سلول‌های چند هسته‌ای آنها بالای ۸٪ بود، کمتر است که از نظر آماری این رابطه معنی‌دار بود ( $p < 0/001$ ). در مجموع نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد گاوهایی که در آنها درصد نوتروفیل‌ها بیش از ۸٪ بود، میزان باروری کمتری داشتند. سیتولوژی از روش‌های قابل اطمینان در جهت تشخیص آندومتریته تحت بالینی و در نتیجه درمان زود هنگام آن می‌باشد.

واژگان کلیدی: آندومتریته تحت بالینی، سیتولوژی آندومتر، سائیتوبراش، گاو

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۱۴ تاریخ پذیرش: ۹۱/۱۱/۲۶

روش‌های مختلف تشخیص شامل بازرسی مقعدی (۱۵)، واژینوسکوپی (۱۰)، کشت مایع رحمی (۳)، بیوپسی از رحم (۳) و سیتولوژی رحم (۶) در زمان‌های مختلف پس از زایش انجام می‌شود. گاوهای مبتلا به آندومتریته تحت بالینی ترشحات رحمی قابل مشاهده ندارند ولی شدت بیماری در حلقی هست که می‌تواند در کارایی تولیدمثلی اختلال ایجاد کند (۲). هر چقدر از زایمان فاصله بگیریم میزان شیوع آندومتریته بالینی و تحت بالینی کاهش می‌یابد. ۷۰ روز پس از زایش آندومتریته بالینی به حداقل و نزدیک صفر می‌رسد ولی درصد قابل توجهی از آندومتریته تحت بالینی می‌تواند وجود داشته باشد (۱۴). در حال حاضر مطالعات مختلف نشان داده‌اند که سیتولوژی رحم روشی مطمئن در جهت تشخیص آندومتریته تحت بالینی است (۱۱ و ۸).

هدف از انجام این مطالعه تشخیص آندومتریته تحت بالینی در روزهای ۷۰ تا ۱۷۰ پس از زایش با استفاده از روش سیتولوژی بود.

## مقدمه

آندومتریته تحت بالینی با التهاب آندومتر رحم و اختلال در کارایی تولید مثلی بدون علائم بالینی آندومتریته شناخته می‌شود (۱۴). در مطالعه‌های مختلف میزان شیوع آندومتریته تحت بالینی بر اساس روش تشخیص و زمان سپری شده از زایمان بین ۱۶ تا ۹۰ درصد عنوان شده است (۲).

## مواد و روش کار

### ۱- نمونه‌گیری

این مطالعه در یک گاوداری ۲۰۰۰ راسی در حومه مشهد انجام شد. گاوهای این گاوداری از نژاد هولشتاین بوده و سیستم نگهداری آزاد بدون دسترسی به چراگاه است.

\*- دانشجوی دوره دکتری تخصصی مامایی و بیماری‌های تولید مثل، دانشکده علوم تخصصی دامپزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران a\_alavit@yahoo.com  
۲- گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

در این مطالعه از گاوهای شکم ۲ تا ۴ با روزهای شیردهی ۷۰ تا ۱۷۰ روز و نوبت تلقیح ۲ تا ۴ که تحت روش همزمان سازی قرار گرفته بودند استفاده شد. کلیه گاوها ۷ روز قبل از تشخیص آبستنی با اولتراسونوگرافی، تحت درمان با  $100 \mu\text{g}$  گنادورلین (گنابرید® پارنل استرالیا)، قرار گرفتند. در روز تشخیص (روز ۷ برنامه همزمان سازی) ۶۲ راس گاو غیر آبستن وارد مطالعه شده و پس از واژینوسکوپی و نمونه‌گیری برنامه همزمان‌سازی، (نگاره ۱) در مورد آنها کامل شد.

### ۲- واژینوسکوپی

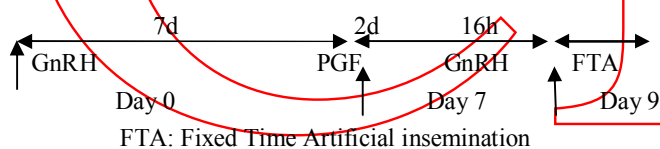
کلیه گاوهای غیر آبستن با استفاده از واژینوسکوپ مورد ارزیابی قرار گرفتند و دام‌هایی که ترشحات رحمی قابل مشاهده در واژن داشتند به دلیل ابتلا به آندومتریت بالینی از مطالعه حذف شدند و نسبت به درمان آنها اقدام گردید. گاوهایی که ترشحات چرکی آنها به حدی بود که در اطراف پرینه و دم قابل مشاهده بود، نیز از مطالعه حذف شدند.

### ۳- سیتولوژی

برای این کار از سیتوبراش انسانی تغییر شکل یافته استفاده شد. دسته سیتوبراش بریده شد و در داخل یک لوله استریل ثابت

گردید. برای این منظور از لوله تفنگ تلقیح استفاده شد و سپس در داخل یک غلاف تلقیح تغییر شکل داده شده یک بار مصرف قرار گرفت. با رعایت اصول بهداشتی، سیتوبراش وارد رحم شده و غلاف عقب کشیده شد تا براش در تماس با آندومتر رحم قرار گیرد. سپس با چرخاندن براش، نمونه اخذ شده و مجدداً براش به داخل غلاف کشیده شد و از رحم خارج گردید. پس از خروج از رحم، براش از غلاف خارج و گسترش با چرخاندن براش روی لام میکروسکوپی تهیه شد. پس از ثابت کردن با الکل و رنگ آمیزی گیمسا، حداقل ۱۰۰ سلول با بزرگنمایی ۴۰۰ شمارش شده و درصد نوتروفیل‌ها تعیین شد.

پس از انجام اندازه‌گیری و نمونه‌گیری‌های فوق برنامه همزمان سازی کامل شد و در همان روز (روز ۷ همزمان سازی)،  $500 \mu\text{g}$  آنالوگ پروستاگلاندین  $F_{2\alpha}$  (کلوپروستنول سدیم، استروپلن® پارنل استرالیا)، تزریق شد و ۲ روز بعد (روز ۹ برنامه)،  $100 \mu\text{g}$  گنادورلین (گنابرید® پارنل استرالیا) تزریق شده و ۱۶ ساعت بعد تلقیح اجباری انجام شد.



نگاره ۱: نحوه و فواصل تزریق هورمون‌ها (نمونه‌گیری روز ۷)

وجود ارتباط بین سیتولوژی و آبستنی، از آزمون مربع کای و همبستگی Pearson استفاده شد.

### نتایج

در سیتولوژی انجام شده از ۶۲ نمونه بدست آمده از رحم گاوها در روزهای ۷۰ تا ۱۷۰ پس از زایش حداقل ۱ و حداکثر ۳۰ عدد نوتروفیل در هر  $100 \mu\text{g}$  سلول با میانگین

### ۴- تشخیص آبستنی

۲۸ روز پس از تلقیح، کلیه گاوهای تحت مطالعه با دستگاه اولتراسونوگرافی (Falco-100 هلند) مورد معاینه قرار گرفتند و موارد آبستن و غیر آبستن ثبت شد.

### ۵- آنالیز داده‌ها

نتایج به کمک نرم‌افزار SPSS Ver. 16 آنالیز شدند. پس از آنالیز توصیفی نتایج حاصل از سیتولوژی رحم، برای بررسی

جدول ۲- ارتباط بين سائتولورزی و آبستنی

سائتولورزی \ آبستنی	آبستنی	غير آبستنی	كل
كمتر از ۸٪	۲۰ (۳۲/۲۵٪)	۲۳ (۳۷/۰۹٪)	۴۳ (۶۹/۴٪)
بالای ۸٪	۱ (۱/۶۱٪)	۱۸ (۲۹/۰۳٪)	۱۹ (۳۰/۶٪)
جمع	۲۱ (۳۳/۸۷٪)	۴۱ (۶۶/۱۲٪)	۶۲ (۱۰۰٪)

ضريب همبستگی Pearson در بررسی همبستگی بين دو پارامتر سائتولورزی و آبستنی ۰/۴۰۲ بدست آمد که در سطح ۰/۰۱ معنی دار بود.

### بحث

هدف از انجام این مطالعه بررسی اعتبار روش سائتولورزی در تشخیص آندومتريت تحت باليني بود. آندومتريت تحت باليني در گاوهای به ظاهر سالمی وجود دارد که هیچ گونه ترشحي در واژن و فرج و زیر دم ندارند این عارضه در این گاوهای به ظاهر سالم به شدت کارآیی تولیدمثلي را کاهش داده به طوریکه بر اساس مطالعات صورت گرفته درصد آبستنی را کاهش یافته و میزان روزهای باز گله افزایش می یابد (۱). بر اساس مطالعات صورت گرفته سائتولورزی رحم روشی مطمئن جهت تشخیص آندومتريت باليني و تحت باليني می باشد (۸)، چرا که نوتروفیلها اصلی ترین مکانیسم دفاعی رحم می باشد (۴). افزایش تعداد نوتروفیلها در نمونه های تهیه شده از رحم می تواند نشانگر التهاب رحم باشد. میزان نوتروفیلها در نمونه های سائتولورزی تهیه شده از رحم تا ۹۰٪ بسته به میزان درگیری رحم بالا می رود (۸). Gilbert و همکاران نیز نشان دادند که بين افزایش تعداد نوتروفیلها آندومتر رحم و افزایش روزهای باز گله ارتباط وجود دارد (۶). بر اساس این مطالعه در روزهای ۷۰ تا ۱۷۰ پس از زایش میزان نوتروفیلها از ۱٪ تا ۳۰٪ با میانگین ۸/۱۳٪ بود که حد آستانه تشخیص

۸/۱۳٪ شمارش شد. با بررسی وضعیت آبستنی دامها و ارتباط آن با تعداد نوتروفیلها موجود در رحم، وجود ۸٪ نوتروفیل در نمونه های تهیه شده از رحم به عنوان حد آستانه تعیین شد. با انجام آنالیز آماری دقیق فیشر، ارتباط آماری معنی داری بين تعداد نوتروفیلها رحم و آبستنی دیده شد (p = ۰/۰۰۱). بنابراین حد آستانه ۸٪ نوتروفیل معیار تشخیص آندومتريت تحت باليني در نظر گرفته شد. بر این اساس ۳۰/۶٪ از گاوهایی که میزان نوتروفیل موجود در رحم آنها بیش از ۸٪ بود به عنوان گاوهای دچار آندومتريت تحت باليني شناخته شدند. پس از اولین تلقیح بعد از نمونه گیری، از این تعداد ۹۴/۷۴٪ غیر آبستنی و ۵/۲۶٪ آبستنی شدند. در این مطالعه ۴۶/۵۱٪ گاوهای سالم از نظر آندومتريت تحت باليني آبستنی شده و مابقی (۵۳/۴۹٪) پس از تلقیح اول غیر آبستنی گزارش شدند.

جدول ۱- ارتباط بين درصد نوتروفیلها و میزان آبستنی

آبستنی \ درصد نوتروفیلها	آبستنی	عدم آبستنی	كل
۱٪	۵	۸	۱۳
۲٪	۵	۱	۶
۳٪	۳	۳	۶
۴٪	۲	۱	۳
۶٪	۲	۷	۹
۷٪	۴	۳	۷
۱۰٪	۰	۱	۱
۱۲٪	۰	۲	۲
۱۴٪	۰	۱	۱
۱۵٪	۰	۵	۵
۲۰٪	۱	۵	۶
۲۵٪	۰	۳	۳
۳۰٪	۰	۱	۱
جمع	۲۱	۴۱	۶۲

حاصل از این مطالعه نشان داد که تشخیص آندومتریس تحت بالینی با توجه به تاثیر آن روی باروری و افزایش روزهای باز گله اهمیت زیادی دارد. سیتولوژی می‌تواند روشی مطمئن جهت تشخیص آندومتریس تحت بالینی باشد.

## REFERENCES

1. Baranski, W., Podhalicz-Dziegielewska, M., Zdunczyk, S., Janowski, T. (2012): The diagnosis and prevalence of subclinical endometritis in cows evaluated by different cytologic thresholds. *Theriogenology*, 78: 1939-1947.
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: 714-723.
3. Bonnett, B.N., Miller, R.B., Etherington, W.G., Martin, S.W., Johnson, W.H. (1991): Endometrial biopsy in Holstein-Friesian dairy cows. I. Technique, histological criteria and results. *Can. J. Vet. Res.* 55: 155-161.
4. Dhaliwal, G.S., Murray, R.D., Woldehiwet, Z. (2001): Some aspects of immunology of the bovine uterus related to treatments for endometritis. *Anim. Reprod. Sci.* 67: 135-152.
5. Galvao, K.N., Frajblat, M., Brittin, S.B., Butler, W.R., Guard, C.L., Gilbert, R.O. (2009): Effect of prostaglandin F2alpha on subclinical endometritis and fertility in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 92: 4906-4913.
6. Gilbert, R.O., Shin, S.T., Guard, C.L., Erb, H.N., Frajblat, M. (2005): Prevalence of endometritis and its effects on reproductive performance of dairy cows. *Theriogenology* 64: 1879-1888.
7. Hammon, D.S., Evjen, I.M., Dhiman, T.R., Goff, J.P., Walters, J.L. (2006): Neutrophil function and energy status in Holstein cows with uterine health disorders. *Vet. Immunol. Immunopathol.* 113: 21-29.

آندومتریس تحت بالینی ۸٪ تعیین گردید. بر این اساس ۳۰/۶٪ از گاوهایی که میزان نوتروفیل موجود در رحم بیش از ۸٪ بود به عنوان گاوهای درگیر آندومتریس تحت بالینی شناخته شدند. از این تعداد ۹۴/۷۴٪ غیر آبستن و ۵/۲۶٪ آبستن شدند. در گاوهایی که در این مطالعه از نظر آندومتریس تحت بالینی منفی بودند، ۴۶/۵۱٪ آبستن شده و مابقی (۵۳/۴۹٪) پس از تلقیح اول غیر آبستن گزارش شدند. سلاسل و همکاران نیز با مطالعه‌ای مشابه در روزهای ۱۹۰±۴۰ روز پس از زایش نوتروفیل‌های بالای ۳٪ را به عنوان آندومتریس‌های تحت بالینی معرفی کرده و ۵٪ آبستنی برای گروه بیمار و ۴۷٪ آبستنی برای گروه سالم گزارش کردند (۱۳). Galvao و همکاران این حد آستانه نوتروفیل‌های موجود در آندومتر رحم برای تشخیص آندومتریس تحت بالینی را بیش از ۴٪ نوتروفیل در روز ۴۹ پس از زایش در نظر گرفته‌اند (۵). Barlund در روزهای ۲۸ تا ۴۱ پس از زایش این میزان را بالای ۸٪ (۲)، Gilbert نوتروفیل بالای ۵ درصد در روزهای ۴۰ تا ۶۰ پس از زایش (۶)، Kaufmann نوتروفیل بالای ۱۵٪ را ۴ ساعت پس از اولین تلقیح (۹) و Hammon ۲۵٪ نوتروفیل را در روزهای ۲۸±۳ به عنوان حد آستانه آندومتریس تحت بالینی در نظر گرفته‌اند (۷). عنوان شده است که آلودگی‌های زمان پس از زایش با التهاب ناشی از تلقیح در زمان‌های نامناسب در گاوهای سالم می‌تواند منجر به ایجاد آندومتریس تحت بالینی گردد (۱۳). از طرفی آندومتریس تحت بالینی با برگشت رحم به اندازه طبیعی و همین‌طور در مراحل بهبودی رحم از آندومتریس بالینی ایجاد می‌شود (۱). بر اساس یافته‌های Baranski و همکاران ارتباطی بین آلودگی باکتریایی رحم و سیتولوژی وجود نداشته است (۱). بنابراین بررسی سیتولوژی رحم گاوها نسبت به نمونه‌گیری استریل در جهت کشت باکتریایی روشی راحتتر با کارایی بیشتر است.

Mateus و همکاران نشان دادند که التهاب و عفونت رحم مانع برگشت رحم به حالت طبیعی می‌شود (۱۲). در مجموع نتایج

8. Kasimanickam, R., Duffield, T.F., Foster, R.A., Gartley, C.J., Leslie, K.E., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2004): Endometrial cytology and ultrasonography for the detection of subclinical endometritis in postpartum dairy cows. *Theriogenology* 62: 9-23.
9. Kaufmann, T.B., Drillich, M., Tenhagen, B.A., Forderung, D., Heuwieser, W. (2009): Prevalence of bovine subclinical endometritis 4h after insemination and its effects on first service conception rate. *Theriogenology* 71: 385-391.
10. LeBlanc, S.J., Duffield, T.F., Leslie, K.E., Bateman, K.G., Keefe, G.P., Walton, J.S., Johnson, W.H. (2002): Defining and diagnosing postpartum clinical endometritis and its impact on reproductive performance in dairy cows. *J. Dairy Sci.* 85: 2223-2236.
11. Lenz, M., Drillich, M., Heuwieser, W. (2007): Evaluation of the diagnosis of subclinical endometritis in dairy cattle using ultrasound. *Berl. Munch. Tierarztl. Wochenschr.* 120: 237-244.
12. Mateus, L., da Costa, L.L., Bernardo, F., Silva, J.R. (2002): Influence of puerperal uterine infection on uterine involution and postpartum ovarian activity in dairy cows. *Reprod. Domest. Anim.* 37: 31-35.
13. Salasel, B., Mokhtari, A., Taktaz, T. (2010): Prevalence, risk factors for and impact of subclinical endometritis in repeat breeder dairy cows. *Theriogenology* 74: 1271-1278.
14. 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. *Biol. Reprod.* 81: 1025-1032.
15. Studer, E., Morrow, D.A. (1978): Postpartum evaluation of bovine reproductive potential: comparison of findings from genital tract examination per rectum, uterine culture, and endometrial biopsy. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 172: 489-494.

POSTPARTUM

JCP