

## مقایسه باکتری شناسی و ویژگی‌های ماکروسکوپی (کش آمدن و شفاف بودن) و میکروسکوپی (سرخی 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: ۱۳۹۶/۱۰/۰۴

### چکیده

در این پژوهش ۴۲ رأس گاو واکل (گروه آزمایشی) و ۱۸ رأس گاوسالم (گروه شاهد) آماده تلقیح هلشتاین فحل از یکی از دام‌پروری‌های خراسان رضوی فراهم شد. خون از ورید زیردمی اخذ و سرم آن‌ها پس از جداسازی منجمد و همراه با لیزاب فحلی به آزمایشگاه ارسال شد. در آزمایشگاه، غلظت استرادیول سرم به کمک روش RIA و دیگر مشخصات لیزاب با مشاهده مستقیم (کش آمدن و شفاف بودن) و یا به کمک میکروسکوپ (سرخی شدن و نظم کریستال‌ها) و همچنین نتیجه کشت باکتری شناسی تعیین شد. نتایج نشان داد که میانگین کش آمدن (cm)  $(P=0/9)$   $3/3 \pm 0/3$ ،  $3/1 \pm 0/4$ ،  $3/25 \pm 0/3$ ،  $3/15 \pm 0/2$ ، میانه سرخس شدن ساده  $(P=0/3)$   $2$ ،  $3$ ،  $2/5$ ، میانه سرخی شدن بررسی شده بافتوشاپ  $(P=0/1)$   $3$ ،  $4$ ،  $3$ ، میانه منظم بودن کریستال‌ها  $(P=0/85)$   $2$ ،  $2$ ،  $2$ ، میانه شفاف بودن لیزاب  $(P=0/06)$   $2$ ،  $1/5$  و میانگین غلظت استرادیول  $(pg/ml)$   $(P=0/7)$   $3$ ،  $5/3 \pm 3$ ،  $4 \pm 1/5$ ،  $4/7 \pm 1/7$ ،  $8 \pm 2/4$  به ترتیب از چپ به راست در گروه واکل غیرآبستن (۳۴ رأس)، واکل آبستن (۸ رأس)، سالم غیرآبستن (۱۰ رأس) و سالم آبستن (۸ رأس) بود. توزیع دام‌ها در درجات مختلف شاخص‌های بررسی شده در لیزاب فحلی معنی‌دار نبود ( $P>0/05$ ). آزمون اسپرمن تنها میان میزان سرخی شدن بررسی شده بافتوشاپ و گروه‌های آزمایشی و شاهد ارتباط معنی‌داریافت ( $P=0/17$ )  $3$  به گونه‌ای که درجه ۳ سرخی شدن (معادل سرخی شدن ۴۰ تا ۶۰٪ لیزاب) 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 سرخی شدن، کش آمدن، شفاف بودن و منظم بودن کریستال‌ها ارتباطی وجود نداشت ( $P>0/05$ ) درحالی‌که اشرشیا کلی، کلبسیلا، تروپیرلا پیورزنز، استافیلوکوک‌های بتا همولیتیک به‌طور معنی‌داری از گروه واکل‌ها بیشتر جدا شد ( $P=0/00$ ). از این مطالعه نتیجه‌گیری شد که از میان شاخص‌های بررسی شده تنها درجه متوسط سرخی شدن بررسی شده بافتوشاپ با میزان آبستن شدن و واکل نبودن دام‌ها ارتباط داشت.

**کلمات کلیدی:** سرخی شدن، کش آمدن، شفاف بودن، منظم بودن کریستال لیزاب فحلی، استرادیول سرم، واکلی

\* نویسنده مسئول: مجید محمد صادق

آدرس: گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی، واحد گرمسار، دانشگاه آزاد اسلامی، گرمسار، ایران. تلفن: +۹۸۹۱۲۱۴۸۱۱۳۷

پست الکترونیک: Dr.msadeg@gmail.com

**مقدمه**

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 (۲۹ و ۳۰) 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 (۲۸ و ۲۹). 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 قرار گرفته است (۵). جذب نوری مایعات لاواژ رحمی نیز برای تشخیص آندومتریت تحت بالینی مورد بررسی قرار گرفته است (۱۵). پاسکوتینی و همکاران در سال ۲۰۱۷ از قرار دادن نوار کاغذی مخصوصی در داخل یک پیپت در زمان تلقیح برای بررسی لیزابه جستجوی آندومتریت 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، در گاوهای 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 فراهم شد. طبق تعاریف موجود، گاو به ظاهر سالمی (بدون بیماری تولید مثلی و غیر تولید مثلی بالینی موثر بر باروری) که با میزان گیرایی اسپرم حدود ۵۵٪

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 یافته‌های Loffler و سایرین در سال ۱۹۹۹ هنگامی که در زمان تلقیح نشانه‌های آندومتریت بالینی مانند چرک و یا نشانه‌های آندومتریت 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 در این حالت عارضه واکلی ایجاد می‌شود که عواقب تأخیر در آبستنی و افزایش هزینه باروری را در بر خواهد داشت. در صورتی که 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 (۳ و ۲۲). عوامل متعدد رحمی و هورمونی در ایجاد واکلی مؤثر است. چنین عواملی در لیزابه فحلی نیز آثاری از خود بر جا می‌گذارند. بنابراین اگر در زمان جفت‌گیری 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 تأخیر 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

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 سرخسی شدن با قراردادن لیزابه روی لام و خشک کردن آن و سپس قرار دادن لام در زیر میکروسکوپ با بزرگ‌نمایی  $\times 40$  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 در سال ۱۹۷۵ استفاده شد و برحسب میزان فضای اشغال شده با کریستال‌ها در زیر میکروسکوپ سرخسی شدن به پنج گروه تقسیم شد: گروه ۱- عالی ( $< 80\%$ )، گروه ۲- خوب (۸۰-۶۰٪)، گروه ۳- متوسط (۶۰-۴۰٪) گروه ۴- ضعیف (۴۰-۲۰٪) گروه ۵- منفی ( $> 20\%$ ). 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 در سال ۱۹۷۵ میزان 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 ۱۹۷۵ مواردی که شکل کریستال کاملاً واضح و راس اضلاع آن کاملاً تیز بود درجه خوب، اگر راس اضلاع کاملاً گرد و نامنظم بود درجه بد و حالت بین این دو مورد درجه میانی در نظر گرفته شد.

در گله پس از ۴ بار تلقیح، آبستن نشده بود گاو واکل در نظر گرفته شد. با توجه به مشکل بودن تعریف دام غیرواکل، در زمان فحلی و تلقیح دام‌ها نخست از دام نمونه لیزابه تهیه و آزمایش‌های لازم بر روی آن انجام شد. سپس با توجه به عملکرد قبلی و نتیجه تلقیح فعلی، وقتی که با کم‌تر از ۳ تلقیح آبستن شدند سالم در نظر 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 ابتلا به هر نوع عارضه تولید مثلی یا غیر تولید مثلی، تمام گروه‌ها یکسان‌سازی شدند. دام‌های مبتلا به سخت زایی، جفت ماندگی و عفونت رحمی پس از زایمان برای پرهیز از اثر سوء این‌گونه عوارض بر باروری از مطالعه حذف شدند. دام‌هایی که فحلی آن‌ها با انواع روش‌های هورمونی ایجاد یا همزمان شده بود به منظور پرهیز از کاهش باروری ناشی از این‌گونه درمان‌ها از مطالعه حذف شدند. بنابراین دام‌های دارای فحلی خودبخودی در این مطالعه قرارداد شدند. به منظور پرهیز از اثر فصل خنک سال (پاییز و اوایل زمستان) انجام شد. باتوجه به نحوه انتخاب دام‌ها، روش نمونه‌گیری از نوع غیر تصادفی - طبقه‌بندی بود. به عبارت دیگر نمونه‌ها در طول مدت مطالعه به‌گونه‌ای انتخاب شدند که دام‌های گروه واکل و سالم از نظر عوامل مخدوشگر مانند میزان تولید شیر، فصل سال، تعداد شکم زایش و دیگر عوامل مخدوشگر مشابه باشند. با وجود این، در ابتدای بررسی نتایج، یکسان بودن شاخص‌های مخدوشگر ذکر شده مورد بررسی قرار گرفت. در ادامه کارخون و رید زیر دمی دام اخذ و سرم آن پس از جدا شدن در دام‌پروری

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  $\alpha$  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

میان عوامل مخدوش‌گری که توزیع غیرنرمال داشتند مانند درجه 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 رأس غیرآبستن ماند و ۸ رأس آبستن شد ولی از میان ۱۸ رأس گاو سالم ۱۰ رأس غیرآبستن ماند و ۸ رأس آبستن شد. در بررسی میزان کش آمدن لیزابه، توزیع دام‌ها در بین گاوهای واکل (آبستن و غیرآبستن) و سالم

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 ۱۰ تا 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 در سال ۲۰۱۰ استفاده شد.

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

خوب قرار داشت. با این حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف سرخسی شدن لیزابه تعیین شده بدون فتوشاپ در گروه‌های مختلف واکلی- آبتنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد ( $P > 0/05$ ). آزمون اسپیرمن ارتباط معنی‌داری بین باروری و سرخسی شدن نشان نداد ( $P = 0/48$ ). میانه درجه سرخسی شدن که توزیع نرمال نداشت در بین گروه واکل غیرآبتن ( $2/5$ )، واکل آبتن ( $3$ )، سالم غیرآبتن ( $2$ ) و سالم آبتن ( $3$ ) با آزمون Kruskal-Wallis مقایسه شد (جدول ۲) و اختلافی مشاهده نشد ( $P = 0/3$ ).

بررسی سرخسی شدن با فتوشاپ (نمودار ۳) نشان داد که هیچ یک از گروه‌های تحت مطالعه سرخسی شدن شدید بیش‌تر از  $80\%$  را نشان ندادند. سرخسی شدن  $60\%$  تا  $80\%$  نیز در گروه واکل غیرآبتن بیش‌ترین توزیع نسبی ( $50\%$ ) را داشت. در کم‌ترین میزان سرخسی شدن که کم‌تر از  $20\%$  بود دام‌های غیرآبتن از هر دو گروه واکل و سالم با توزیع نسبی  $40\%$  قرار داشتند. Fisher exact test اختلاف توزیع دام در درجات مختلف سرخسی شدن را معنی‌دار دانست ( $P = 0/01$ ). با این حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف سرخسی شدن لیزابه تعیین شده با فتوشاپ در گروه‌های مختلف واکلی- آبتنی بررسی شد و تاثیر معنی‌داری یافت نشد ( $P = 0/05$ ). در مقایسه میانه سرخسی شدن بررسی شده با فتوشاپ (جدول ۳) که در سالم آبتن و غیرآبتن برابر  $4$  و در واکل آبتن و غیرآبتن برابر  $3$  بود آزمون Kruskal-Wallis اختلافی نشان نداد ( $P = 0/1$ ). آزمون Spearman correlation میان درجات سرخسی شدن بررسی شده با فتوشاپ و واکلی رابطه منفی معنی‌داری ( $P = 0/017$ ,  $P = 0/307$ ) نشان داد. به عبارت دیگر با افزایش درجه سرخسی شدن

(آبتن و غیرآبتن) (نمودار ۱) تفاوت معنی‌داری داشت ( $P = 0/01$ ) توزیع نسبی دام‌های گروه غیر واکل- آبتن در کش آمدن  $10-15$  cm (درجه ۳) از همه بیش‌تر ( $40\%$ ) بود ولی در گروه واکل- غیرآبتن در کش آمدن  $15-20$  cm (درجه ۴) از همه بیش‌تر ( $32/4$ ) بود. میان افزایش میزان کش آمدن و واکل شدن ( $r = +0/005$ ,  $p = 0/9$ ) یا آبتن شدن ( $P = 0/8$ )،  $P = +0/025$ ) ارتباط معنی‌داری یافت نشد. با این حال در بررسی با آزمون Log linear توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف کش آمدن لیزا به بررسی شد ولی تاثیر معنی‌داری یافت نشد ( $P > 0/05$ ). پس از اطمینان یافتن از نرمال بودن توزیع میزان کش آمدن لیزابه (برحسب cm، این شاخص در بین گروه واکل غیرآبتن ( $0/23 \pm 3/15$ )، واکل آبتن ( $3/25 \pm 0/3$ )، سالم غیرآبتن ( $3/13 \pm 0/4$ ) و سالم آبتن ( $3/3 \pm 0/3$ ) با آزمون One-way analyse of variance مقایسه شد (جدول ۱) و اختلافی مشاهده نشد ( $P = 0/9$ ).

توزیع دام‌ها در گروه‌های مختلف سرخسی شدن بررسی شده بدون فتوشاپ (نمودار ۲ و شکل ۱) اختلاف معنی‌داری داشت ( $P = 0/007$ ). بیش‌ترین درجه سرخسی شدن بررسی شده بدون فتوشاپ در گروه واکل غیرآبتن و سپس در گروه سالم غیرآبتن دیده شد به گونه‌ای که  $50\%$  واکل‌های غیرآبتن و  $35/5\%$  سالم‌های غیرآبتن در گروه بیش‌ترین درجه سرخسی شدن قرار داشتند. در گروهی که سرخسی شدن نشان ندادند تنها  $4$  راس ( $11\%$ ) از دام‌های واکل غیرآبتن قرار داشتند. با توجه به داده‌های ذکر شده به نظر می‌رسد سرخسی شدن تغییرات خطی نداشت. از سوی دیگر بیش‌ترین میزان دام سالم آبتن ( $6$  راس،  $60\%$ ) در گروه سرخسی شدن میانی و بیش‌ترین میزان دام واکل غیرآبتن ( $13$  راس،  $38\%$ ) در گروه سرخسی شدن

لیزابه کدر نیز بیشترین توزیع نسبی مربوط به همان گروه واکل غیرآبستن بود. در بررسی با آزمون Log linear توزیع دامها در گروههای مختلف شفاف بودن لیزابه در گروههای مختلف واکلی - آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی داری یافت نشد ( $P > 0.05$ ). میانه درجه شفاف بودن در همه موارد ۲ و تنها در گروه واکل آبستن ۱/۵ بود در حالیکه در این قسمت درجه ۲ کدر و درجه ۱ شفاف در نظر گرفته شد. آزمون کروسکال-والیس اختلاف را معنی دار ندانست ( $P = 0.06$ ). آزمون اسپرمن نیز رابطه آماری معنی داری بین درجه شفاف بودن لیزابه و واکلی ( $P = 0.04$ ) یا آبستنی ( $P > 0.05$ ) 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 ( $P = 0.278$ ) غلظت استرادیول ( $pg/ml$ ) در بین گروه واکل غیرآبستن ( $2.4 \pm 0.8$ )، واکل آبستن ( $1.7 \pm 0.4$ )، سالم غیرآبستن ( $4 \pm 1.5$ ) و سالم آبستن ( $3 \pm 0.5$ ) با آزمون آنالیزواریانس یک طرفه بررسی شد (جدول ۴) و اختلافی یافت نشد ( $P = 0.07$ ). آزمون اسپرمن میان غلظت استرادیول و شفاف بودن ( $P = 0.08$ )، کش آمدن ( $P = 0.04$ ) و سرخسی شدن ( $P = 0.05$ ) لیزابه ارتباط آماری نشان نداد.

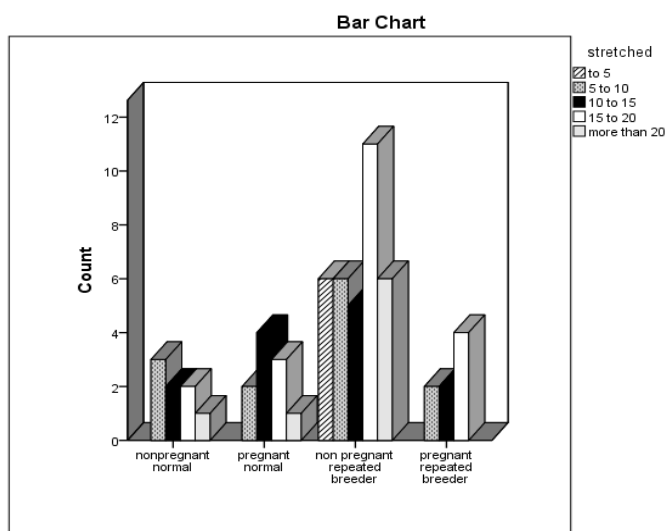
در مقایسه باکتریهای جدا شده از درجات مختلف شفاف بودن، سرخی شدن و کش آمدن لیزابه فحلی (جدول ۵) آزمون آماری کروسکال-والیس اختلاف آماری مشاهده نکرد ( $P > 0.05$ ). با این حال مقایسه توزیع باکتریهای جدا شده از گروههای مختلف دامی (جدول ۶) تحت بررسی با آزمون فیشر (در تکمیل آزمون مربع کای) اختلاف معنی داری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

احتمال واکلی کاهش یافت. میان آبستن شدن و درجات سرخسی شدن بررسی شده با فتوشاپ ارتباط معنی داری یافت نشد ( $r = -0.05, P = 0.65$ ).

مقایسه توزیع دامها در درجات مختلف منظم بودن کریستالهای سرخسی شکل (نمودار ۴) با Fisher exact test اختلاف معنی داری نشان داد ( $P = 0.019$ ) به گونه ای که ۵۰٪ دامهای سالم غیرآبستن و ۸۰٪ دامهای سالم آبستن درجه میانی منظم بودن کریستال را داشتند. همچنین ۴۷٪ دامهای واکل غیرآبستن نیز درجه میانی منظم بودن را داشتند. در گروه واکل آبستن ۳۷/۵٪ از دامها درجه خوب منظم بودن کریستالهای سرخسی و ۳۷/۵٪ نیز درجه بد را نشان دادند. از سوی دیگر بیشترین میزان دام در درجه خوب منظم بودن کریستالهای سرخسی (۵۸/۳٪) در واکل آبستن 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 در گروههای مختلف منظم بودن لیزابه در گروههای مختلف واکلی - آبستنی بررسی شد و تاثیر معنی داری یافت نشد ( $P > 0.05$ ). 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 معنی داری یافت نشد ( $P = 0.85$ ) آزمون Spearman correlation میان درجه منظم بودن کریستالها و گروههای مختلف مورد بررسی از نظر واکل بودن یا آبستن بودن ارتباطی نیافت ( $P = 0.07$ ).

در مقایسه اختلاف توزیع دامها در گروههای دارای لیزابه شفاف یا کدر (نمودار ۵) Fisher exact test اختلاف را معنی دار دانست ( $P = 0.003$ ). در گروه دارای لیزابه شفاف بیشترین توزیع نسبی (۵۹/۲٪) مربوط به گروه واکل غیرآبستن بود. در گروه دارای

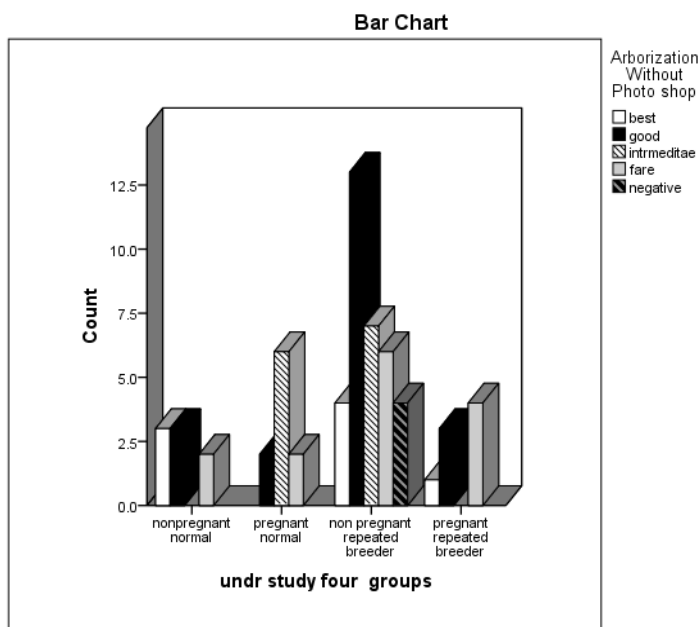




نمودار ۱- مقایسه توزیع نسبی دام های واکل یا سالم آبستن و غیر آبستن در درجات مختلف کش آمدن لیزابه (P=۰/۰۱).

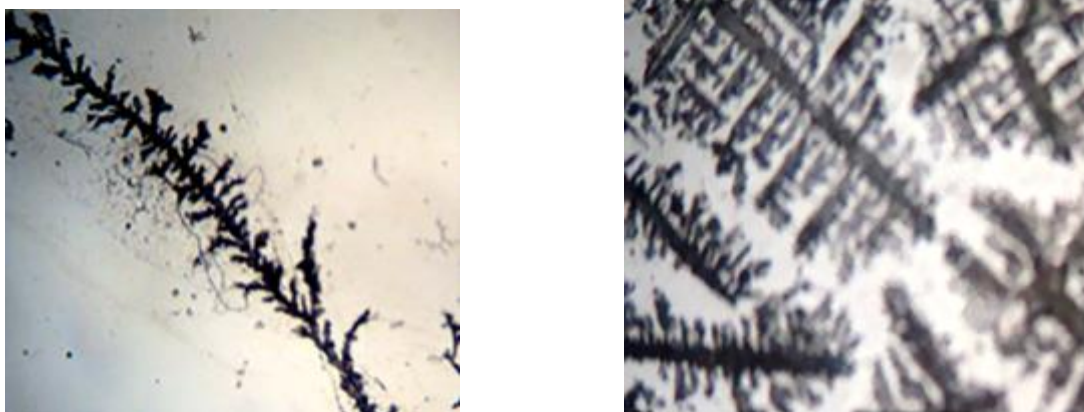
جدول (۱) مقایسه میانگین میزان کش آمدن لیزابه در گروه های مختلف (P=۰/۰۹).

گروه آزمایشی	تعداد	میانگین	انحراف معیار	خطای معیار	کمینه	بیشینه
سالم غیر آبستن	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



نمودار ۲- مقایسه توزیع نسبی دام های واکل یا سالم آبستن و غیر آبستن در درجات مختلف سرخسی شدن بررسی شده بدون فتوشاپ (P=۰/۰۰۷).

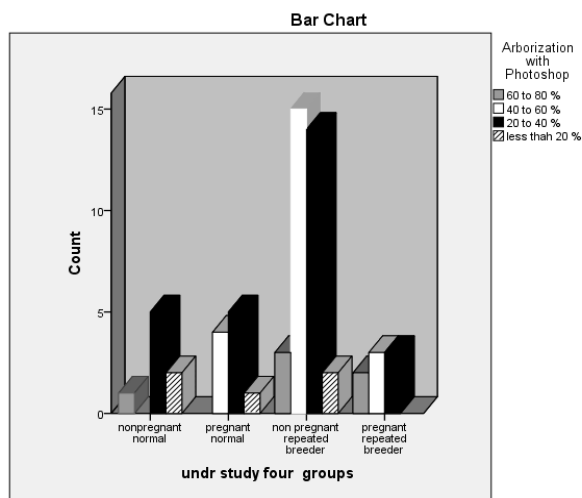




شکل ۱- درجه شدید (راست ۶۰×) و خفیف (چپ ۴۰×) سرخی شدن لیزابه فحلی (P=۰/۰۰۷) در زیر میکروسکوپ.

جدول (۲) مقایسه میانه و میانگین سرخی شدن 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

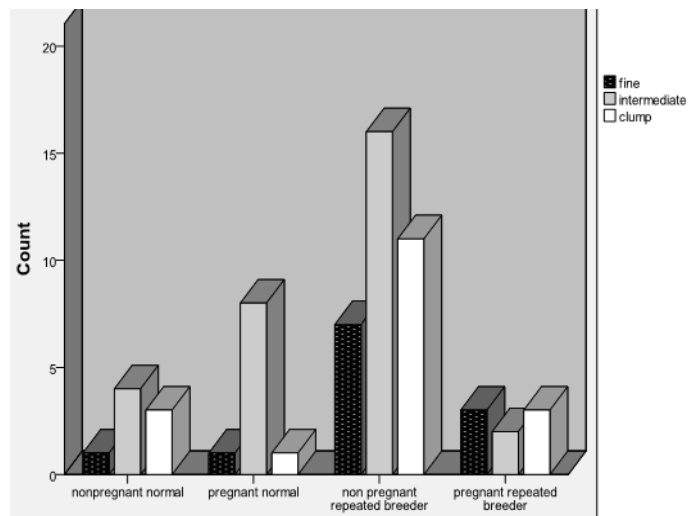


نمودار ۳- مقایسه توزیع نسبی دامهای واکل یا سالم آبستن و غیرآبستن در درجات مختلف سرخی شدن بررسی شده با فتوشاپ (از کم تر از ۲۰ تا ۸۰٪ سرخی شدن) (P=۰/۰۱)

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

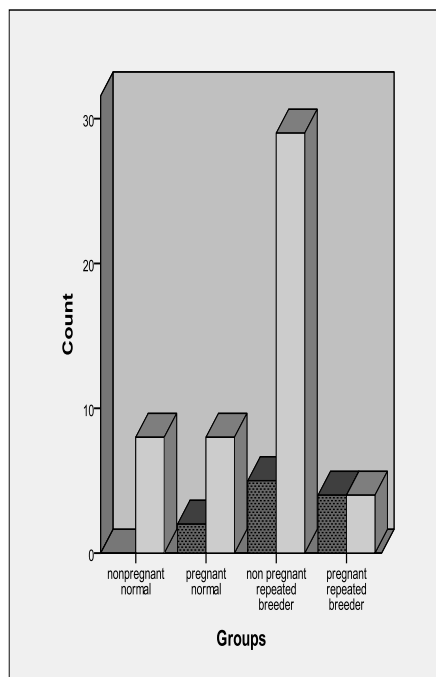
گروه	تعداد	میانگین	خطای معیار	میانه
سالم غیرآبستن	۸	۴	۰/۳۳	۴
سالم آبستن	۱۰	۳/۷	۰/۲۱	۴
واکل غیرآبستن	۳۴	۳/۴	۰/۱۲	۳
واکل آبستن	۸	۳/۱	۰/۳	۳
جمع	۶۰	۳/۵	۰/۱	۴



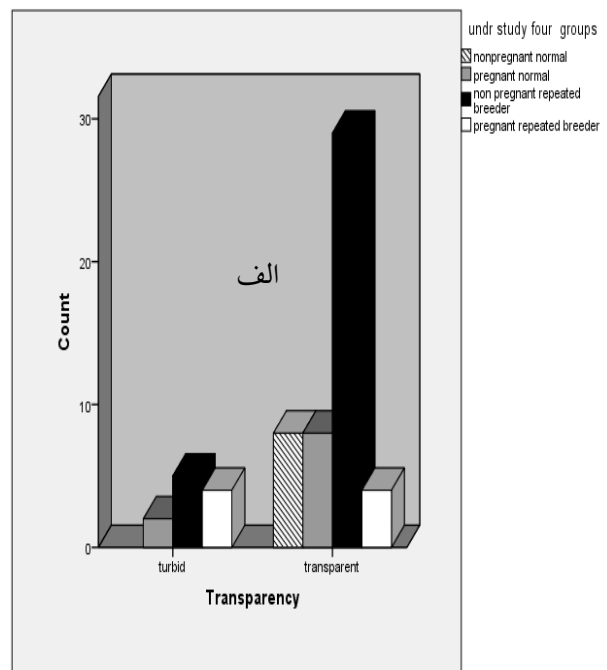


درجه خوب= Fine, درجه میانی= Intermediate, درجه ضعیف Clump

نمودار (۴) مقایسه توزیع نسبی دام در درجات مختلف منظم بودن کریستال های لیزابه (P=۰/۰۱۹).



ب



الف

نمودار ۵ - (الف - راست) مقایسه توزیع دام های واکل یا سالم آبستن و غیر آبستن در لیزابه فحلی شفاف و غیر شفاف (ب - چپ) مقایسه توزیع دام های دارای لیزابه شفاف یا کدر در بین چهار گروه دامی (واکل یا سالم، آبستن یا غیر آبستن) (P=۰/۰۰۳).

جدول (۴) مقایسه غلظت استرادیول در بین گروه های مختلف دامی (P=۰/۷).

گروه	تعداد	میانگین	خطای معیار	میان
سالم غیر آبستن	۴	۴	۱/۵	۴/۳
سالم آبستن	۳	۵/۳	۳	۴/۵
واکل غیر آبستن	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	سرخسی شدن چشمی	سرخسی شدن میکروسکوپی	کیفیت سرخی شدن	
بدون کشت	۳	۳	۴	۲	
آلوده	۴	۲	۳	۲	
تروپیرلا پیوژنز	۳/۵	۳	۳/۵	۲/۵	
اششریشیا کلی	۴	۳	۳/۵	۲	
استافیلوکوک بنا همولتیک	۳	۴	۴	۲	
کلبسیلا	۲	۲	۳	۱	
جمع	۳	۳	۴	۲	

جدول (۶) مقایسه توزیع باکتری‌های جدا شده از گروه‌های مختلف دامی ( $P=0.00$ )

گروه	نتیجه کشت باکتری شناسی					
	باکتری جدا نشد	آلودگی	تروپیرلا	اششریشیا کلی	استاف بنا همولتیک	کلبسیلا
غیرآبستن-سالم	۲	۶	۰	۰	۰	۸
آبستن-سالم	۶	۴	۰	۰	۰	۱۰
غیرآبستن-اکل	۱۰	۱۱	۰	۵	۶	۳۴
آبستن-واکل	۱	۲	۲	۱	۱	۸
جمع	۱۹	۲۳	۲	۶	۷	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  $10-15$  (درجه ۳) قرار داشت این درجه از کش آمدن را باید به‌ترین درجه در نظر گرفت. از سوی دیگر میزان دام واکل غیرآبستن بیش‌تر از همه در گروه  $20-15$  (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 از  $20$  cm باید از همه حالت‌های کش آمدن نامناسب‌تر در نظر گرفته شد زیرا با میزان دام واکل غیرآبستن بیش‌تری روبرو بود. باین‌حال 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 سرخی شدن لیزابه با چشم، اختلاف توزیع دام در گروه‌های مختلف واکل (آبستن و غیرآبستن) و غیرواکل (آبستن و غیرآبستن) معنی‌دار بود و بیش‌ترین میزان دام سالم آبستن (۶ راس معادل ۶۰٪) در گروه سرخی‌شدن میانی و بیش‌ترین میزان دام واکل غیرآبستن (۱۳ راس، ۳۸٪) در گروه سرخی‌شدن خوب قرار داشت. بنابراین می‌توان درجه سرخی‌شدن میانی (درجه ۳) را به‌ترین و درجه سرخی‌شدن خوب را بدترین درجه در نظر گرفت. با این حال با توجه به اینکه تغییر میزان سرخی‌شدن در دیگر گروه‌های دامی با الگوی ثبیتی تغییر نمی‌کرد و از سوی دیگر میانه درجه سرخی‌شدن تفاوت معنی‌داری میان گروه‌ها نداشت و ارتباط آماری میان درجه سرخی‌شدن و واکلی یا آبستنی یافت نشد یافته‌های مربوط به این شاخص را نیز می‌توان کم اهمیت دانست.

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. میزان ۵۰٪ دام‌های سالم غیرآبستن و ۸۰٪ دام‌های سالم آبستن درجه میانی منظم بودن را نشان دادند ولی ۴۷٪ دام‌های واکل غیرآبستن (بیش‌ترین در این گروه) نیز درجه میانی منظم بودن را داشتند. از سوی دیگر 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 فعلی است (۹ و ۱۷) و افزایش غلظت استرادیول قادر است سبب افزایش احتباس سدیم و املاح مرتبط با آن در مایعات بدن شود (۱۱ و ۱۵) به‌همین دلیل انتظار می‌رفت میان میزان سرخسی شدن لیزابه و غلظت استرادیول سرم گاو ارتباط آماری یافت شود. خطی نبودن رابطه در میان سرخسی شدن 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

در مقایسه میانه سرخسی شدن 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. با توجه به این‌که بین درجات سرخسی شدن بررسی شده با فتوشاپ و واکلی رابطه منفی معنی‌داری یافت شد در ظاهر باید نتیجه گرفت با افزایش درجه سرخسی شدن احتمال واکلی کاهش یافت ولی سرخسی شدن ۶۰ تا ۸۰٪ در گروه واکل غیرآبستن بیش‌ترین توزیع نسبی (۵۰٪) را داشت که نشان می‌دهد افزایش شدید میزان سرخسی شدن صفت مطلوبی تلقی نمی‌شود. در کم‌ترین میزان سرخسی شدن (کم‌تر از ۲۰٪) دام‌های غیرآبستن از هر دو گروه واکل و سالم با توزیع نسبی ۴۰٪ قرار داشتند که نشان می‌دهد کم‌ترین میزان سرخسی شدن نیز صفت مناسبی نیست و با غیرآبستن بودن دام‌ها همراه بوده است. بیش‌ترین توزیع نسبی دام سالم آبستن در گروه سرخسی شدن ۴۰ تا ۶۰٪ قرار داشت، به‌همین دلیل می‌توان نتیجه گرفت این درجه از سرخسی شدن به‌ترین درجه سرخسی شدن 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 لوگارتم خطی از یک سو و فقدان ارتباط میان احتمال آبستن نشدن و درجات سرخسی شدن از سوی دیگر برای وجود ارتباط منفی

در مطالعه Noonan و همکاران در سال ۱۹۷۵ کامل‌ترین حالت سرخسی شدن و کم‌ترین غلظت ماده خشک لیزابه فحلی در استروس و برعکس ناقص‌ترین حالت سرخسی شدن و بیش‌ترین غلظت ماده خشک لیزابه فحلی در پایان پرواستروس بود. ایشان همچنین میان کامل بودن حالت سرخسی شدن و کم بودن ماده خشک در استروس و باروی به‌تر ارتباط معنی‌داری یافتند (۲۳). البته ارتباط یافته‌های مربوط به سرخسی شدن 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 انجام شده 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 قابل مقایسه با یافته‌های دیگر محققین است. در برخی پژوهش‌ها مقادیر استرادیول سرمی در زمان ایستا فحلی  $2/39 \pm 7/76 \text{ pg/ml}$  بود که با دامنه تغییرات پژوهش حاضر مشابه است (۱۲). در یافته‌های لویز و همکاران در سال ۲۰۰۵ میزان استرادیول در گاوهای دارای یک تخمک‌گذاری  $5/5 \pm 0/3 \text{ pg/ml}$  و در گاوها همراه با چند تخمک‌گذاری  $0/4 \pm 7/8 \text{ pg/ml}$  بود (۱۳). در یافته‌های پراسدینی و همکاران در سال ۲۰۱۵ میزان استرادیول سرمی در اولین فحلی پس از زایمان در گروه شاهد  $0/95 \pm 7/81 \text{ pg/ml}$  و

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 تاثیر 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 هرچند که در مطالعه حاضر بیش‌تر تغییرات بحث شده پیرامون زلال بودن یا سرخسی شدن معنی‌دار نبود (۴).

در مطالعه Mahesh و همکاران در سال ۲۰۱۰ 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  $24/67 \pm 2/7 \text{ cm}$  و در غیر آبستن‌ها  $1/32 \text{ cm}$   $\pm 22/21$  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 یافته‌های Modi و همکاران در سال 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 آگزودای آندومتريت غیر بالینی و یا به هر دلیل دیگری باشد (۱۹).

سرم گاو فحل در ارتباط با شاخص های لیزابه فحلی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین توصیه می شود در پژوهش های بعدی میزان ماده خشک و در نتیجه غلظت لیزابه و شمارش تعداد نوتروفیل و کشت میکروبی لیزابه در دام های واکل و سالم نیز انجام شود.

در مقایسه باکتری های 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 باکتری های جدا شده از گروه های مختلف دامی تحت بررسی با آزمون فیشر اختلاف معنی داری نشان داد ( $P = 0.00$ ). از چنین یافته هایی می توان نتیجه گرفت که باکتری های اصلی مولد نازایی در گاو مانند /شیشیا کلی و تروپیرلا پیورنر در این مطالعه نیز مانند یافته های دیگر محققین سبب کاهش باروری و ایجاد واکلی شده اند (Williams et al 2005) ولی احتمالاً در ایجاد چنین حالتی، در لیزابه فحلی دام ها از خود ردپایی برجای نگذاشته اند. شایان توجه است که اگر این باکتری ها در لیزابه فحلی چرک ایجاد می کردند مامور تلقیح مصنوعی آن ها را تلقیح نمی کرد و به این مطالعه راه نمی یافتند. آزمایش سیتولوژی لیزابه فحلی می توانست کمک مناسبی در این زمینه باشد که فقدان آن از نقاط ضعف این تحقیق به شمار می رود.

از این مطالعه نتیجه گیری شد که از میان شاخص های بررسی شده ( کش آمدن، شفاف بودن، سرخی شدن و منظم بودن کریسال های لیزابه) تنها میزان سرخی شدن بررسی شده با نرم افزار فتوشاپ با آبتنی و واکل نبودن دام ها ارتباط معنی داری داشت (درجه ۳ سرخی شدن برای باروری به ترین و درجات کم تر یا بیش تر از آن نامناسب تلقی شد. با توجه به نتایج مثبت

در گروه درمان شده با ویتامین ای و سلنیوم  $0.14 \pm 0.84 \text{ pg/ml}$  بود که نشان از تأثیر مثبت درمان با سلنیوم بر میزان استرادیول و همچنین مشابه بودن مقادیر استرادیول با پژوهش حاضر دارد (۲۴). با این وجود در برخی یافته های علمی مقادیر بیش تری از استرادیول سرمی در گاو های فحل یافت شده است. به عنوان مثال موندال و همکاران در سال ۲۰۰۶ میزان استرادیول سرمی شروع فحلی گاوا  $0.79 \text{ pg/ml} \pm$  گزارش کرده اند (۲۰). اریجی و همکاران در سال ۱۹۷۴ میزان استرادیول سرمی در اوج مقادیرش که در ۲ روز قبل از فحلی مشاهده کرد را  $500 \text{ pg/m}$  برآورد کرده است (۱). طباطبایی در سال ۲۰۱۴ نیز میزان استرادیول زمان فحلی را  $22/62 \pm 105/30$  برآورد کرده است (۳۲).

خاطر نشان می گردد در پژوهش پیش رو، با توجه به غیر تصادفی بودن نمونه گیری به منظور یکسان سازی عوامل متعدد مؤثر بر باروری در عمل امکان بروز تفاوت های قابل توجه در استرادیول سرم کاهش یافته است. بنابراین تحقیق حاضر در بررسی اثر استرادیول ضعیف است و به تر است در تحقیق دیگری این ایراد اصلاح شده و به عنوان مثال دام های تحت تأثیر استرس پرشیری بادام های معمولی مقایسه شوند تا اختلاف میان استرادیول سرمی آن ها فاحش تر و امکان بررسی اثر آن فراهم باشد. مشکل دیگری که در پژوهش پیش رو وجود دارد اندازه گیری نشدن مقادیر پروژسترون است. در یافته های Tsiligianni و همکاران در سال ۲۰۱۱ کاهش پروژسترون قبل از تخمک گذاری با تغییرات مورد بحث در ترشحات واژنی مرتبط بود ولی در افزایش بیش از حد استرادیول در چنین زمانی ارتباطی یافت نشد (۳۳). بنابراین توصیه می شود در پژوهش های بعدی علاوه بر استرادیول ۱۷-بتا، تغییرات پروژسترون

- 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., Kruij, 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., Dijkhuizen, 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.
- 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*. 2<sup>nd</sup> 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*. 2<sup>nd</sup> Edition, Saunders-Elsevier, Saint Louis, Missouri: 431-41.



- 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.
- 19- Modi, L.C., Sathar, B.N., Nakhshi, 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* **15**: 416-23.
- 20- Mondal, M., Rajkhowa, C., Prakash, B.S. (2006). Relationship of plasma estradiol-17  $\beta$ , 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*. 9<sup>th</sup> 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 Stiintifice 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



## **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) ( $3.15\pm 0.2$ ,  $3.25\pm 0.3$ ,  $3.1\pm 0.4$ ,  $3.3\pm 0.3$ ,  $P=0.9$ ), 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- $\beta$  (pg/ml) ( $8\pm 2.4$ ,  $4.7\pm 1.7$ ,  $4\pm 1.5$ ,  $5.3\pm 0.3$ ,  $P=0.7$ ) 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  $\beta$  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