

ارزیابی سنجش میزان پروژسترون شیر و سرم خون به روش الیزا در

تشخیص عدم آبستنی در گاو

دکتر علی مجابی* دکتر پرویز هورشتی** دکتر محمود شهیدی***
دکتر حمید امینی طاری*** دکتر محمد رضا مهربانی**** دکتر محمود بلورچی**

خلاصه:

سنجش میزان پروژسترون سرم خون و شیر یکی از جدیدترین تکنیک‌های تشخیصی برای تشخیص استروس، عدم آبستنی و بعضی اختلالات هورمونی دستگاه تناسلی در گاو است. هدف از این پژوهش ارزیابی روش ELISA در تشخیص آبستنی و عدم آبستنی در گاو و نیز مقایسه دقت آزمایش در مورد سرم خون و شیر بود.

تعداد ۵۵ راس گاو شیری نژاد هلشتاین که در روزهای ۱۹ الی ۲۴ پس از تلقیح مصنوعی قرار داشتند انتخاب و نمونه‌های شیر و سرم خون آنها آزمایش گردید. دقت و صحت آزمایش با روش ملامسه رکتال در روز ۴۵ پس از تلقیح - مورد ارزیابی قرار گرفت.

در مقایسه با روش رکتال دقت تشخیص آبستنی و عدم آبستنی بترتیب

۶۲/۵٪ و ۱۰۰٪ برای نمونه سرم خون و ۸۵٪ و ۱۰۰٪ برای نمونه شیر بود.

* گروه‌های آموزشی علوم پایه و علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران،

تهران، ایران

** گروه آموزشی علوم درمانگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

*** گروه آموزشی تغذیه و اصلاح نژاد دام دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

**** دانش‌آموخته دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران، ایران

بعبارت دیگر تشخیص عدم آبستنی بروش فوق در مورد شیر و سرم خون مشابه بوده و می‌توان در کارهای بالینی از آن بهره جست. در مورد تشخیص آبستنی، دقت آزمایش در مورد نمونه‌های شیر بیشتر از سرم خون بود و بنابراین توصیه می‌شود تنها در مورد تلیسه‌ها از نمونه سرم خون استفاده گردد.

در رابطه با انتخاب بهترین روز نمونه‌گیری بیست و دومین روز پس از تلقیح با صحت صد درصد محاسبه شد.

نتیجه اینکه در تشخیص سریع و بموقع گاوهای غیر آبستن و تصمیم‌گیری در انجام تلقیح مجدد و یا درمان آنها، روش الیزا نسبت به روش رکتال از نظر اقتصادی ارجح می‌باشد.

این روش نسبت به تشخیص عدم آبستنی به روش RIA نیز جهت ارزانی و بی‌خطر بودن ارجحیت دارد.

مقدمه

در پرورش گاوهای شیری از روش سنجش پروژسترون سرم خون و یا شیر با آزمایش‌های Radioimmunoassay (RIA) در تشخیص استروس، آبستنی و همچنین اختلالات هورمونی دستگاه تناسلی و نیز کنترل زمان تلقیح و نحوه فعالیت دوره‌ای تخمدانها استفاده می‌شود.

جدیدترین تکنیک تشخیص در این زمینه روش¹ ELISA است که مواد رادیواکتیو را مورد استفاده قرار نمی‌دهد. تعیین مقدار پروژسترون شیرویا

1- Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay

سرم خون با روش الیزا دارای کارآئی زیادی بوده و در اغلب دامپروری های صنعتی کشورهای پیشرفته جهان بعنوان ابزار تشخیصی مورد استفاده قرار می گیرد (۱۰،۷،۸،۱۱) .

سنجش پروژسترون مایعات بیولوژیک براین اساس است که هنگام استروس جسم زرد دوره ای (سیکلک) تحلیل رفته و میزان پروژسترون به کمترین حد خود در طول سیکل استروس میرسد . بنابراین غلظت های بالای پروژسترون در طول فاز لوتئال و غلظت های پائین آن در مرحله استروس مشاهده می شود (۱۱) .

فولکز و همکاران در سال ۱۹۸۲ میزان پروژسترون شیر روزانه گاوهاییکه ۴۲ روز از زایش آنها گذشته بود را به روش الیزا اندازه گیری کردند و نشان دادند با مشاهده کاهش میزان پروژسترون شیر در دو روز متوالی (کمتر از ۵ نانو گرم در میلی لیتر شیر) می توان روز بعد اقدام به تلقیح نمود و نتایج قابل قبول بدست آورد (۶) . این محققین با انجام این روش در سطح دامپروری متوسط فاصله بین زایش تا اولین تلقیح را ۱۳/۴ روز کمتر از مدت مشابه در سال قبل مشاهده کردند و این در حالی بود که تعداد گاوهای تلقیح شده در این روش - ۲۶/۸٪ بیش از روش "مشاهده" بود (۹۷/۵٪ در مقابل ۷۰/۷٪) و تعداد گاوهاییکه پس از ۲۴ روز آبستن تشخیص داده شدند ۱۵٪ بیشتر شده بود (۶۲/۵٪ در مقابل ۴۷/۵٪) . این موضوع توسط استیمسون و همکارانش نیز مورد تأیید قرار گرفت . در سال ۱۹۸۷ ادی وکلارک نتایج حاصل از استفاده از کیت های سنجش پروژسترون شیر را به روش الیزا منتشر کردند (۵) آنها با گرفتن

نمونه‌های شیر و سنجش میزان پروژسترون موجود در آن در روزهای ۱۸، ۲۰، ۲۲ و ۲۴ پس از تلقیح، گاوهای غیرآبستن را مشخص کردند و بدین ترتیب علاوه بر تأیید ارزش این تکنیک جنبه‌های اقتصادی استفاده از آن را از جهت مدیریت دامپروری مورد ارزیابی قرار داده و نتایج مثبتی را مشاهده نمودند (۵) .

از آنجائیکه یکی از مطمئن‌ترین و دقیق‌ترین روشهای علمی تشخیص استروس سنجش میزان پروژسترون شیر و یا سرم خون می‌باشد، بهترین طریق این است که پس از مشاهده استروس، دام را مورد آزمایش سنجش پروژسترون شیر و یا سرم خون قرار داده و در صورتیکه میزان پروژسترون در حد پایه باشد، دستور تلقیح را صادر نمود (۸ و ۱۱) . معتقدند که این آزمایش دوبار به فاصله ۷ تا ۱۰ روز انجام شود تا پس از مشاهده افزایش میزان پروژسترون، از زمان صحیح تلقیح اطمینان حاصل گردد . روش اخیر در کشورهای آلمانی زبان طرفداران زیادی دارد (۵) .

گزارشهای زیادی در دست است که تکنیک یاد شده بر طرق دیگر تشخیص استروس ارجحیت دارد و خطاهائی که در سایر روشها ممکن است رخ دهد در تکنیک الیزا کمتر مشاهده می‌شود (۷، ۸، ۱۱) .

کاربرد دیگر این روش در تشخیص استروس‌های آرام پس از زایش است . در برخی موارد با وجود گذشت ۲ تا ۳ ماه پس از زایش علایم استروس مشاهده نمی‌گردد که در ۲۰ تا ۴۰ درصد موارد دلیل آن را بروز استروس‌های آرام می‌دانند (۷ و ۸) . برخی نیز عقیده دارند حدود نیمی از گاوهاییکه بنظر غیر بارور می‌آیند در اصل دارای استروس‌های آرام هستند (۱۰) . از جمله عوامل دیگر استروس‌های

خاموش تولید شیر زیاد، شرایط نامناسب جایگاه و تغذیه را می‌توان نام برد (۱۱ و ۷) • در این موارد توصیه شده است هفته‌ای یکبار و به مدت ۳ هفته میزان پروژسترون شیر با سرم خون چنین گاوهایی سنجیده شود، لیکن دقیق‌ترین راه جهت تشخیص زمان استروس سنجش میزان پروژسترون به فاصله هر ۲ تا ۳ روز می‌باشد (۱۰) •

میزان وقوع استروس کاذب در گاو آبستن در حدود ۳ تا ۵ درصد است (۱) • به منظور اجتناب از تلقیح مجدد، سنجش میزان پروژسترون شیر و یا سرم خون به مجرد مشاهده علائم استروس در روزهای پس از تلقیح مناسبترین راه می‌باشد • بدینصورت که اگر میزان پروژسترون شیر و یا سرم خون کم باشد مشخص می‌گردد که دام آبستن نشده و استروس حقیقی است • در اینگونه موارد دستور تلقیح مجدد داده می‌شود • ولی چنانچه میزان پروژسترون زیاد باشد دلیل بر بروز استروس کاذب (با وجود آبستنی) دام بوده و باید از تلقیح مجدد پرهیز نمود (۷) •

تشخیص کیست‌های تخمدانی و تفکیک انواع کیست‌های فولیکولر، لوتئال و جسم زرد از جمله مواردی است که با سنجش میزان پروژسترون در شیر یا سرم خون امکان‌پذیر است • تشخیص و تمایز کیست‌های تخمدانی به طریق سنجش میزان پروژسترون بر این اساس استوار است که در دام‌های مبتلا به کیست‌های لوتئال میزان پروژسترون شیر یا سرم خون نسبت به دام‌های مبتلا به کیست‌های فولیکولر بیشتر است (۴، ۷، ۱۱، ۱۲) • بعلاوه این روش بر تکنیک آزمایش رکتال برتری داشته و از دقت بیشتری برخوردار است (۹) •

ناکائو و همکارانش در سال ۱۹۸۲ در مطالعه‌ای که بر روی ۱۶۰ راس گاو مبتلا به کیست‌های تخمدانی انجام دادند اظهار داشتند که غلظت پروژسترون شیر در دام‌های مبتلا به کیست‌های فولیکولر کمتر از یک نانوگرم در میلی لیتر است.^۰ لیکن در دام‌های مبتلا به کیست‌های لوتئال این میزان بیش از یک نانوگرم در لیتر می‌باشد (۱۲).^۰

گاهی کیست‌های تخمدانی بدلیل وضعیت نامطلوب جایگاه و یا اختلالات تغذیه‌ای ایجاد می‌شود که پس از اصلاح این موارد می‌توان با کمک سنجش میزان پروژسترون شیر و یا سرم خون روند بهبودی دام را مورد ارزیابی قرار داد (۴)،^۰ (۱۱، ۷).

بطور کلی معتقدند حدود ۲۳٪ آابستنی‌ها در گاو منتهی به مرگ زودرس جنین می‌شود و حدود ۷۰ تا ۸۰ درصد موارد، مرگ جنین تا سن ۲۰ روزگی اتفاق می‌افتد.^۰ بیست درصد موارد نیز در فاصله ۲۰ تا ۶۰ روز پس از تلقیح ایجاد می‌شود (۴).^۰ بنابراین زمانیکه سنجش پروژسترون شیر یا سرم خون در روزهای ۱۹ تا ۲۴ پس از تلقیح انجام شود و نشان دهنده مقادیر بالای پروژسترون باشد، حکایت از آابستنی دام مینماید.^۰ چنانچه پس از این مدت دام مورد آزمایش علائم استروس را بروز دهد و یا با آزمایش رکتال در روزهای ۴۰ تا ۷۰ پس از تلقیح غیر آابستن تشخیص داده شود، می‌توان به مرگ زودرس جنین طی این فاصله مشکوک شد.^۰

تشخیص سقط جنین عادی نیز با اندازه گیری روزانه پروژسترون شیر یا سرم خون بخصوص در حوالی روزهایی که سابقه سقط وجود داشته است، امکان پذیر می‌باشد.^۰

هدف از انجام این بررسی آشنا ساختن دامپزشکان و دامپروران با کاربرد تکنیک الیزا در تولیدمثل دام، نشان دادن ارزش تشخیص این تکنیک با توجه به دقت، ایمنی، سرعت تشخیص، سهولت و کم هزینه بودن آن در مقایسه با روشهای آزمایشگاهی و غیر آزمایشگاهی دیگر و تاکید بر جنبه‌های اقتصادی این روش تشخیصی در مقایسه با سایر روشهای موجود بوده است. همچنین مقایسه دقت آزمایش در مورد نمونه‌های شیر و سرم خون مورد ارزیابی قرار گرفته است.

مواد و روش کار

۱- مواد

جهت اندازه گیری پروژسترون شیر از کیت‌های تجاری الیزا مخصوص آزمایشگاه، ساخت کارخانه نوکتک^۱ (NOCTECH) کشور ایرلند شمالی و جهت سنجش پروژسترون سرم خون نیز از کیت‌های تجاری مخصوص سرم خون همین کارخانه استفاده گردید. سایر وسایل مورد نیاز شامل اسپکتروفتومتر ویژه پلیتهای میکروتیتتری، گرمخانه ۳۷ درجه سانتیگراد، وسایل خودکار یادستی برای شستشوی پلیتهای میکروتیتتری، پی پت‌ها خودکار (سمپلر) ۵۰، ۲۸، ۱۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتری، دستگاه خودکار توزیع کننده ورقیق کننده، سانتریفوژ معمولی ۱۰۰۰۰ RPM، و لوله و بطری‌های نمونه‌گیری بود.

تعداد ۵۵ راس گاوشیری نژاد هلشتاین در سنین مختلف که ۱۹ تا ۲۴ روز از تلقیح

1- NOCTECH LTD. DEANSGRANGE CO. DUBLIN, IRELAND.

آنها گذشته بود انتخاب شدند و بطور همزمان ۲۰ میلی لیتر شیر از دوشش های پنجم به بعد و بطور مساوی از هر چهار کارتیه اخذ گردید. ده میلی لیتر خون نیز از ورید و داج آنها گرفته شد. نمونه ها یکساعت قبل از شیردوشی بعد از ظهر گرفته شد و بدون اضافه کردن ماده نگهدارنده بلافاصله به آزمایشگاه منتقل گردید و مورد آزمایش قرار گرفت.

۲- روش کار

در آزمایشگاه نمونه های شیر بقدر کافی مخلوط شد تا چربی موجود در تمام نمونه پخش و همگن گردد. نمونه های خون در ۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ و سرم خون جدا گردید. از نمونه های خون همولیز شده استفاده نشد.

اساس آزمایش الیزا جهت سنجش میزان پروژسترون شیر و سرم خون بروش سور (SAUR.M.J) بر مبنای رقابت پروژسترون موجود در شیر یا سرم خون با مقدار مشخص استروئید خارجی متصل به آنزیم پراکسیداز هورس رادیش (HRP) در پیوند با جایگاه های مخصوص حاوی مقدار محدودی سرم ضد استروئید میباشد. میزان استروئید متصل به HRP پیوند یافته به آنتی کور ویژه با میزان استروئید موجود در شیر یا سرم خون نسبت معکوس دارد و با استفاده از خاصیت پراکسیدازی HRP و مرتبط نمودن تجزیه آب اکسیژنه به یسک واکنش رنگزا، می توان با سنجش شدت رنگ ایجاد شده در کولوریمترو یا اسپکتروفتومتر ویژه میزان پروژسترون شیر و یا سرم خون را تعیین کرد (۱۵).

نتیجه

باید متذکر شد که چون معیار و دامنه مشخصی از پروژسترون جهت تشخیص دامهای آبستن و غیر آبستن از طرف کارخانه سازنده کیت مربوط به شیر تعیین نگردیده بود، لذا با استناد به بررسی‌های مشابه جهانی نظیر تحقیقات بعمل آمده توسط کواوستانی و فوت بر روی ۵۰۰۰ نمونه شیر (۲) و - همچنین مطالعات " ریمرز و همکاران " (۱۴) ، نبل و همکاران (۱۳) و مارکوس (۹) که وجود مقادیر بیش از ۵ نانوگرم پروژسترون در میلی لیتر شیر را معیار مناسبی جهت تشخیص آبستنی و مقادیر کمتر از ۳ نانوگرم را مبین عدم آبستنی می‌دانند، پژوهش حاضر انجام پذیرفت .

در مورد کیت مربوط به سنجش پروژسترون در سرم خون به توصیه کارخانه سازنده مقادیر بالای ۲ نانوگرم در میلی لیتر مبین آبستنی و مقادیر کمتر از ۲ نانوگرم نشانه عدم آبستنی دام تعیین گردید .

در جدول شماره ۱ مقایسه دقت تشخیص آبستنی و عدم آبستنی با روش بکار گرفته شده برای شیر و سرم خون آمده است .

جدول شماره (۱) - مقایسه دقت تشخیص آبستنی و عدم آبستنی در

- سنجش پروژسترون • سرم خون و شیر بروش Elisa •
- دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران •

روش اندازه گیری پروژسترون سرم خون		روش اندازه گیری پروژسترون شیر		وضعیت آبستنی	
تعداد گاو	تعداد گاو	تعداد گاو	تعداد گاو	آبستن	غیر آبستن
غیر آبستن	آبستن	غیر آبستن	آبستن		
۲۱	۲۰	۲۸	۲۲	حقیقی	
۰۰	۱۲	۰۰	۴	کاذب	
	۲		۱	مشکوک	
۱۰۰	۶۲/۵	۱۰۰	۸۵	P.R (%)	
	۷۵		۹۱	دقت کل (%)	

$$PR = \text{Predictive Rate} = \frac{\text{حقیقی}}{\text{حقیقی} + \text{کاذب}} \times 100$$

از تعداد ۵۵ نمونه مورد آزمایش ۲۲ مورد با روش آزمایش رکتال (که در روز چهل و پنجم پس از تلقیح انجام شده بود) آبستن و ۳۳ مورد غیر آبستن شناخته شدند • در مقایسه با روش رکتال و با مشاهده برگشت به استروس ، دقت تشخیص آبستنی و عدم آبستنی به ترتیب ۶۲/۵٪ و ۱۰۰٪ برای روش اندازه گیری پروژسترون سرم خون و ۸۵٪ و ۱۰۰٪ برای روش سنجش پروژسترون شیر بود •

بعبارت دیگر از ۳۲ موردی که با روش سنجش پروژسترون سرم خون مثبت تلقی گردیده بودند، فقط ۲۰ مورد آنها در آزمایش رکتال آبستن تشخیص داده شدند (۶۲/۵٪) ولی در روش سنجش پروژسترون شیر از ۲۶ موردی که مثبت تلقی شدند، ۲۲ مورد (۸۵٪) با آزمایش رکتال تائید گردیدند.

با اینحال تمام ۲۱ مورد منفی نمونه سرم خون و ۲۸ مورد منفی نمونه شیر یا به استروس برگشت نمودند و یا با روش آزمایش رکتال غیر آبستن تشخیص داده شدند (۱۰۰٪ موارد) ضمناً در سنجش پروژسترون شیر یک مورد و در سنجش پروژسترون سرم خون ۲ مورد مشکوک مشاهده شد.

در ادامه مطالعه فوق جهت تعیین بهترین زمان نمونه گیری شیر، بین روزهای ۱۹ تا ۲۴ پس از تلقیح تعداد ۲۵ نمونه شیر اضافی اخذ و میزان پروژسترون آنها تعیین و با ۵۵ نمونه قبلی (مجموعاً ۸۰ نمونه) مورد بررسی قرار گرفت (جدول شماره ۲).

جدول شماره (۲) : توزیع Predictive Rate بر حسب وضعیت آبستنی در روزهای ۲۴ تا ۲۹ پس از تلقیح دانشکده دامپزشکی دانشگاه
 تهران - سال ۱۳۶۸

روزهای پس از تلقیح

وضعیت آبستنی	غیرآبستنی		آبستنی		غیرآبستنی		آبستنی		غیرآبستنی		آبستنی		واقعیت آبستنی
	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	تعداد کاو	
۳	۷	۴	۶	۸	۵	۹	۴	۹	۶	۹	۸	۳	حقیقی
-	۱	-	۱	-	-	-	۱	-	-	-	-	۱	کاذب
۱۰۰	۸۸	۱۰۰	۸۶	۱۰۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۰	۱۰۰	۱۰۰	۸۲	۱۰۰	۷۵	P.R (%)
۱۱		۱۱		۱۲	۱۴			۱				۱	مشکوک
۹۰		۹۰		۱۰۰	۹۳			۸۲				۸۵	تعداد کل دامها دقت کل

$$\text{PREDICTIVE RATE} = \frac{\text{حقیقی}}{\text{حقیقی} + \text{کاذب}} \times 100 = \text{PR}$$

بحث

چنانکه اشاره شد آزمایش الیزا چه در مورد شیر و چه در مورد سرم خون دارای دقت بیشتری نسبت به سایر روشهای تشخیصی آبستنی است • در نهایت با توجه به درصددقت کل تشخیصی آبستنی، ملاحظه می‌گردد که سنجش پروژسترون شیر نسبت به سنجش پروژسترون سرم ارجحیت دارد (۹۱٪ در مقابل ۷۵٪) • ضمن آنکه امکان تهیه نمونه شیر بدون وارد آوردن آسیب و با استرس به دام در مقایسه با تهیه نمونه خون از مزایای سنجش پروژسترون شیر بشمار می‌آید • بطور کلی در مورد گاوهای شیری، اندازه‌گیری پروژسترون شیر و در مورد تلیسه‌ها، اندازه‌گیری پروژسترون سرم خون — روش ELISA از کارآئی مناسبی برخوردار است •

وجود موارد مثبت کاذب ممکن است موجب تفسیرهای نادرست گردد •

عوامل پدیده آورنده این موارد در زیر آمده است •

۱- مرگ جنین در روزهای بعد از انجام آزمایش

۲- تلقیح دام در زمان نا صحیح و در خلال فاز لوتئال

۳- وجود دوره‌های جنسی طولانی‌تر و یا کوتاه‌تر

۴- وجود کیستهای لوتئال

۵- عوارض پاتولوژیک رحم که همراه با ابقای جسم زرد می‌باشد •

با در نظر گرفتن عوامل فوق الذکر روشن می‌گردد که موارد مشکوک مربوط

به عدم دقت آزمایش نبوده و بستگی به حالت خاص دام مورد آزمایش داشته

است •

در ارتباط با تعیین مناسبترین زمان جهت تشخیص عدم آبستنی بوسیله سنجش میزان پروژسترون شیر به روش الیزا چنانکه در جدول شماره ۲ مشاهده می شود، دقت تشخیص دامهای آبستن با این روش به ترتیب در روز نوزدهم ۷۵٪، بیستم ۸۲٪، بیست و یکم ۸۰٪، بیست و دوم ۱۰۰٪، بیست سوم ۸۶٪، و بیست و چهارم ۸۸٪ می باشد. دقت تشخیص دامهای غیر آبستن در تمامی روزهای فوق الذکر ۱۰۰٪ می باشد، ضمن آنکه در روز ۱۹ و ۲۰ پس از تلقیح يك مورد مشکوک نیز وجود داشت.

در مورد روز ۱۹ پس از تلقیح نیز با آنکه دقت تشخیص آبستنی ۸۵٪ - برآورد شده بود، ولی می تواند ملاک نسبتاً قابل اعتمادی در جهت برگشت به استروس دامهای غیر آبستن محسوب گردد، زیرا اکثر دامهایی که در این روز مقادیر کمی از پروژسترون را در شیر نشان می دهند بین روزهای ۱۹ تا ۲۴ پس از تلقیح، از خود علائم استروس را بروز می دهند. در نتیجه امکان پیش گویی و کنترل استروس اینگونه دامها پس از تعیین نتیجه منفی آبستنی بر اساس سنجش پروژسترون شیر در روز نوزدهم و تلقیح آنها در زمان مناسب (زمان بروز علائم استروس) وجود دارد، و از اهمیت زیادی برخوردار است.

بعبارت دیگر با اینکه در این تجربه تشخیص آبستنی، در روز بیست و دوم پس از تلقیح بمیزان ۱۰۰٪ عملی و ممکن است، بدلیل آنکه تلقیح دامهای غیر آبستن بلافاصله امکان پذیر نبوده و تلقیح مجدد يك دوره به تعویق می افتد، توصیه میشود آزمایش سنجش پروژسترون در روز نوزدهم پس از تلقیح انجام شود تا ۳ الی ۴ روز فرصت برای مشاهده استروس و تلقیح مجدد فراهم آید

(با اینکه احتمال تشخیص وجود آبستنی ۸۵٪ است) •

در پایان اشاره می‌گردد که تشخیص آبستنی یا عدم آبستنی با آزمایش رکتال در ۱۹ تا ۲۴ روز پس از تلقیح میسر نبوده و از آنجا که هدف اصلی از آزمایش تشخیص آبستنی، شناخت سریع و بموقع گاوهای غیر آبستن و تصمیم‌گیری در انجام درمان آنها می‌باشد، روش الیزا توصیه می‌گردد •

قابل ذکر است که در مقایسه روش‌های ELISA و RIA که از نظر دقت مشابه یکدیگر می‌باشند با در نظر گرفتن بی‌خطر بودن و کمتر بودن هزینه آزمایش (هزینه انجام آزمایش برای هر نمونه در مورد روش الیزا به میزان یک پنجم روش RIA می‌باشد) و همچنین نیاز به تجهیزات کمتر جهت انجام آزمایش الیزا، این روش جهت تشخیص وجود یا عدم آبستنی در گاوبروش RIA ارجحیت داشته و کاملاً توصیه می‌گردد •

References

- 2- Arthur, G.H. 1989: Veterinary Reproduction and obstetrics Black well. PP. 358-365.
- 3- Cawestany, D and Foote, R. 1985: The use of milk progesterone and electronic vaginal probes as aids in large dairy herd reproductive management. Cornell Vet. 75: 441-453.
- 4- Chaffaux, S. Sauer, M.J. 1986: Transrectal real-time Ultrasound scanning for diagnosing pregnancy and monitoring embryonic mortality in dairy cattle. Animal , Reproduction Science 10(3): 193-200.
- 5- Eddy, R.G and Glark, P.J. 1987: Oestrus prediction in dairy cows using an ELISA progesterone tests. Vet. Rec. 120:(2), 31-34.
- 6- Foulkes, J.A. and Cookson, A.D. 1982: Artificial insemination of cattle based on daily enzyme immunoassay of progesterone in whole milk. Vet. Rec. 111: 302-303.
- 7- Holtz, W. and Landmann, D. 1985: The milk progesterone test: A means to improve fertility in dairy herds. J. Vet. Med. 33: 321-336.
- 8- Holtz, W. and Losert, J. Kuster, J. 1986: The progesterone test - results of routine use by two north German vice laboratories. Tieraerztliche umschau. 6, 398-402.

- 9- Marcous, G.J. and Hacket, A.J. 1986: Use of enzyme inked immunosorbent assay (ELISA) for measurement of bovine serum and milk progesterone without extraction. J. Dairy. Science. 69(3): 818-824.
- 10- Marx, D. and Viana, G, Grunnert, E. 1988: Results of 25 years of fertility surveillance in two dairy herds of Hohenheim University cycle length, silent heat and ovarian finding and oestrus prediction. Tierärztliche Umschau. 43:(7) 453-454, 457-459.
- 11- Morrow, D.A. 1986: Current therapy in theiogenology W.B. Saunders company. PP: 18-1, 153-155.
- 12- Nakao, T. Sugihashi, A, Saga, N, Tsunoda, N, Kawata, K. 1983: Use of milk enzyme immunoassay for differentiation diagnosis of follicular cysts, luteal cyst and cystic corpus luteum in cows. American. J. Vet. Res. 44: 888-890.
- 13- Nebel, R.L , Altemose, D.L, Munkittrick, T.W, Sprecher, D.J, Mcgilliard, M.L. 1989: Comparision of eight commercial on farm milk progesterone tests. Theriogenology 31: 753-764.
- 14- Reimers, T.J. 1990: Milk progesterone to determine reproductive status of cows. Proc. X1. Intercongress on disease of cattle 2: 906-913.
- 15- Saur, M.J. 1981: Direct enzyme immunoassay of progesterone in bovine milk. j. Steroids. 38, 45.

were obtained and progesterone levels were assayed - using ELISA technique. Sensitivity and specificity of the test was evaluated by rectal palpation on day 45 postinsemination for pregnancy diagnosis.

Sensitivity of the test for serum and milk samples, for pregnancy and non-pregnancy was 62.5%vs 100% and 85%vs 100% respectively

It was concluded that diagnosis of non-pregnancy by ELISA was similar for blood serum and milk and could be used routinely in practice.

In pregnancy diagnosis, sensitivity of the test for milk samples was higher than that of blood serum.

It is then recommended that heifers be tested by blood serum whereas cows be checked by milk and/or - serum progesterone assay. The earliest and best sampling day postinsemination was selected to be on day 22 with 100 percent accuracy. ELISA technique is therefore recommended for early diagnosis of non-pregnancy in cows for its cheaper and less dangerous characteristics comparing to those of rectal palpation and RIA

Evaluation of ELISA technique to assay milk
and blood serum progesterone levels as a
non-pregnancy diagnostic method in dairy cows.
Mojabi,A^{*} Hovarashti,P^{**} Shahidi,M^{***} Amini,H^{****}
Mehrabi,M^{****}

Milk and blood serum progesterone assay has been one of the latest determining techniques for the diagnosis of estrus, non-pregnancy and some hormonal disturbances associated with reproductive system in the cow. The aim of this study was to evaluate Elisa technique in this respect. Sensitivity of the test for milk and blood serum samples was also compared.

Fifty five Holstein cows on days 19 to 24 postinsemination were randomly selected. Milk and serum samples

* Depts. of Biochemistry and Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

** Dept. of Clinical Sciences, Fac. of Veterinary Medicine, University of Tehran- Tehran- Iran

*** Dept. of Animal Nutrition and Breeding Fac. of Vet. Med. University of Tehran- Tehran- Iran

**** Graduate of Faculty Vet. Med. University of Tehran- Tehran- Iran