

التشخيص المبكر للحمل لدى أبقار الهولشتاين باستعمال طرائق مختلفة

أنير سعد محسن الجشعمي*، ساجدة مهدي عيدان* وسعدي شعلان خلف**

*كلية الزراعة/ جامعة بغداد

**كلية الزراعة/ جامعة الأنبار

الخلاصة

أجريت هذه الدراسة في محطة أبقار النصر التابعة للشركة المتحدة للثروة الحيوانية المحدودة في منطقة الصويرة (50 كم جنوب بغداد) للمدة من تشرين الأول 2011 ولغاية تموز 2012 لتحديد أفضل طريقة لتشخيص الحمل المبكر لأبقار الهولشتاين. اشتملت الدراسة على 61 بقرة بمعدل عمر 4.95 ± 0.30 سنة ووزن 397.23 ± 7.58 كغم وحالة جسم 2.1 ± 0.03 . لقت الأبقار اصطناعياً خلال فترة ظهور علامات الصراف. تم جمع عينات دم (10 مل) من جميع الأبقار عند الأيام 35، 45 و 60 بعد التلقيح بهدف قياس مستوى هرمون البروجستيرون. تم تشخيص الحمل لدى الأبقار باستعمال مستوى هرمون البروجستيرون في بلازما الدم وطريقة الأمواج فوق الصوتية عند الأيام 35، 45 و 60 بعد التلقيح وبطريقة الجس عبر المستقيم عند الأيام 45 و 60 بعد التلقيح. أظهرت طريقة الأمواج فوق الصوتية دقة عالية (96%) في تشخيص الأبقار الحوامل وبوقت مبكر مقارنة بقياس مستوى هرمون البروجستيرون (94.44%) والجس عبر المستقيم (68.181%). تستنتج الدراسة أن طريقة الأمواج فوق الصوتية كانت ذات دقة عالية في تشخيص أبقار الهولشتاين الحوامل وبوقت مبكر (عند اليوم 35 بعد التلقيح) مقارنة بالطريقتين الباقيتين.

Early pregnancy detection of Holstein cows using different methods

A. S. M. Al-Jashami*, S. M. Eidan* and S. S. Khalaf**

*College of Agriculture\ University of Baghdad

**College of Agriculture\ University of Anbar

Abstract

This study was conducted at Al-Nasr Dairy Cattle Station pertaining to the United Company for Limited Animal Resources, Swaira City (50 Km south of Baghdad) during the period from October, 2011 to July, 2012. The objective of this study was to identify the accurate method for early pregnancy detection of Holstein cows. This study involved 61 cows of 4.5 ± 0.30 years old, 397.23 ± 7.58 kg average body weight and 2.1 ± 0.03 average body condition score. The cows were artificially inseminated following appearance of estrus signs. Blood samples (10 ml) were collected from each at days 35, 45 and 60 post-mating (PM) for plasma progesterone assay. Pregnancy was detected using plasma progesterone assay and Ultrasonography at days 35, 45 and 60 PM, and by rectal palpation at days 45 and 60 PM. Ultrasonography method exhibited high accuracy (96%) for early (at day 35) pregnancy detection than plasma progesterone concentrations (94.44%) and rectal palpation (68.181%) methods. In conclusion, Ultrasonography was most accurate for early (day 35 PM) pregnancy detection in Holstein cows as compared with the other methods.

المقدمة

تتضمن مكونات الخصوبة (Fertility component) في أبقار الحليب كل من التبويض والإخصاب وفترة بقاء الأجنة حية (Survival of conceptuses) لحين الولادة (1). من ناحية أخرى، يعد كل من معدل الإخصاب والحمل الناتج الحقيقي (Actual product) للكشف عن الصراف (2)، إذ انخفضت معدلات

الإخصاب والحمل وازدادت نسبة هلاكات الأجنة لدى قطعان أبقار الحليب نتيجة زيادة إنتاج الحليب وضعف ظهور علامات الصراف (Poor estrus expression) أو التشخيص غير الدقيق للصراف (3، 4). وقد أشار (5) أن البقرة غير الحامل تسبب خسارة اقتصادية مقدارها 2.11 - 7.46 دولار أمريكي/يوم. من جانب آخر، تشكل الهلاكات الجنينية أحد الأسباب الرئيسة للخسارة الاقتصادية لمربي الأبقار، وقد قدرت بحوالي 555 - 2333 دولار أمريكي (5، 6). يعطي التشخيص المبكر للحمل وهلاك الأجنة فرصة أفضل للمربي للنبد أو إدارة الإناث غير الحوامل بشكل يختلف عن نظيراتها الحوامل مما ينعكس على تقليل تكاليف التغذية والإدارة (7، 8). فضلاً عن دقة تشخيص الأبقار الحوامل وغير الحوامل بوقت مبكر تؤدي دوراً مهماً وضرورياً في تحسين الأداء التناسلي للأبقار ومن ثم تحسين الأداء الإنتاجي لها (9). ولعل أهم الطرائق المستعملة لتشخيص الحمل والهلاكات الجنينية المبكرة هي قياس مستوى هرمون البروجستيرون في بلازما الدم وطريقة الأمواج فوق الصوتية والجس عبر المستقيم. لذا فقد أجريت هذه الدراسة لتحديد الطريقة الأفضل من بين الطرائق الثلاثة الأنفة الذكر لتشخيص الحمل وبوقت مبكر لدى أبقار الهولشتاين.

المواد وطرائق العمل

- **تصميم التجربة:** استعملت في هذه الدراسة 61 بقرة هولشتاين تمت مراقبة صراف الأبقار ومن ثم تلقيحها اصطناعياً خلال ظهور علامات الصراف عليها. تمت مراقبة الصراف لجميع الأبقار ولمدة 147-154 يوماً بعد التلقيح، وتم تسجيل الأبقار العائدة للصراف. تم جمع عينات الدم 10 مل من جميع الأبقار من الوريد الوداجي (Jugular vein) للحيوانات باستعمال أنابيب مفرغة من الهواء (Vacutainer tubes) تحتوي على 0.2 مل من الهيبارين (Heparin) كمانع تخثر عند الأيام 35، 45 و60 يوماً بعد التلقيح لقياس مستوى هرمون البروجستيرون في بلازما الدم. تم فصل بلازما الدم باستعمال جهاز الطرد المركزي (3000 دورة/دقيقة لمدة 15 دقيقة) وحفظت العينات بدرجة -20 م° لحين قياس مستوى الهرمون.
- **تشخيص الحمل**
- 1- **تقدير مستوى هرمون البروجستيرون في بلازما الدم:** تم قياس مستوى هرمون البروجستيرون بالطريقة الإشعاعية المناعية (RIA) وباستعمال تقنية الترسيب بالمضاد المضاعف (Double antibody technique) باستعمال عدة من نوع IM 1188 التي جهزتها شركة Immunotech a Beckman Coulter Company, Marseille France. قد عُدَّت الأبقار التي كان مستوى هرمون البروجستيرون فيها أقل من 1 نانوغرام/مل غير حامل، والأبقار التي كان تركيز البروجستيرون فيها أكثر من 1 نانوغرام حاملاً.
- 2- **تشخيص الحمل باستعمال جهاز الموجات فوق الصوتية:** تم استعمال جهاز الموجات فوق الصوتية (Ultrasonography) من النوع المضيء الأنفي ذي الإشعاعات الخطية Brightness Modereal Time Linear Arrays والتردد 5 ميكاهيرتز (5MHz) من صنع شركة SIUI عند الأيام 35 و45 بعد التلقيح.
- 3- **تشخيص الحمل عن طريق الجس عبر المستقيم:** تم تشخيص الحمل في الأبقار عند الأيام 45 و60 بعد التلقيح. واعتمدت الطريقة على تحسس وجود الجسم الأصفر، وعدم تناثر قرني الرحم بالحجم وتحسس وجود السوائل الجنينية في قرن الرحم. تم تقدير الحساسية (Sensitivity) والخصوصية (Specificity)

وقيم التنبؤ الموجبة (Positive predictive value) والسالبة (Negative predictive value) للطرق الثلاثة السابقة استناداً إلى (7) ووفق المعادلات الآتية:

$$\text{Sensitivity} = \frac{a \times 100}{a + d}$$

إذ أن:

a = عدد الأبقار المشخص حملها صحيح.

d = عدد الأبقار المشخصة غير حامل بشكل خاطئ.

$$\text{Sensitivity} = \frac{c \times 100}{c + b}$$

إذ أن:

c = عدد الأبقار المشخصة غير حامل بشكل صحيح.

b = عدد الأبقار المشخصة حامل بشكل خاطئ.

$$\text{Positive predictive value} = \frac{a \times 100}{a + b}$$

إذ أن:

a و b تم توضيحهما أعلاه.

$$\text{Negative predictive value} = \frac{c \times 100}{c + d}$$

إذ أن:

c و d كما موضح أعلاه.

- التحليل الإحصائي: استعمل اختبار مربع كاي (Chi-square) في التحليل الإحصائي لمقارنة الفروق المعنوية بين النسب المختلفة لصفات الحساسية والخصوصية وقيمة التنبؤ الموجب وقيمة التنبؤ السالب (10).

النتائج والمناقشة

- تشخيص الحمل باستعمال مستوى هرمون البروجستيرون: أظهر قياس هرمون البروجستيرون في بلازما الدم دقة عالية في تشخيص الحمل عند الأيام 35، 45 و 60 بعد التلقيح وبنسبة 94.44، 100 و 100% على التوالي على الرغم من انعدام الفروق المعنوية في حساسية الطريقة بين الأيام (جدول 1). أظهرت خصوصية الطريقة للكشف عن الأبقار غير الحوامل دقة متوسطة بلغت 61.11، 66.66 و 55.55% عند الأيام 35، 45 و 60 بعد التلقيح (جدول 1). وقد انعدم تأثير قياس مستوى هرمون البروجستيرون في بلازما الدم في قيم التنبؤ الموجب والسالب (جدول 1). وقد أظهرت هذه الطريقة تسجيل بعض الحالات الخاطئة في تشخيص الأبقار غير الحوامل بعد اليوم 45 بعد التلقيح.
- تشخيص الحمل باستعمال جهاز الموجات فوق الصوتية: يتضح من الجدول (2) عدم وجود فرق معنوي واضح في دقة حساسية طريقة الموجات فوق الصوتية في كشف الأبقار الحوامل عند الأيام 35 و 45 بعد التلقيح وسجلت دقة عالية لكلا اليومين بلغتا 96 و 100% على التوالي. لم تكن هنالك فروق معنوية واضحة في خصوصية الطريقة للكشف عن الأبقار غير الحوامل مسجلة دقةً متوسطة بلغت 63.64 و 70% عند الأيام 35 و 45 بعد التلقيح على التوالي (جدول 2). وقد انعدم تأثير طريقة الموجات فوق الصوتية في قيم التنبؤ الموجب بلغت 85.71 و 86.95% عند الأيام 35 و 45 بعد التلقيح موضحةً بتسجيل بعض الحالات الخاطئة في تشخيص الحمل. أظهرت قيم التنبؤ السالب فرقاً معنوياً ($P < 0.05$) ما بين

المدتين قيد الدراسة مسجلاً نسبة 87.5 و 100% للمدتين المذكورتين على التوالي (جدول 2). ولم تسجل هذه الطريقة أية حالة خاطئة في تشخيص الأبقار غير الحوامل بعد اليوم 45 بعد التلقيح (جدول 2).

- **تشخيص الحمل بطريقة الجس عبر المستقيم:** بينت النتائج وجود فروق عالية المعنوية ($P < 0.01$) في دقة حساسية الكشف عن الحمل بطريقة الجس عبر المستقيم عند اليوم 60 (100%) مقارنةً مع (68.181%) عند اليوم 45 بعد التلقيح، كما لوحظ وجود فروق عالية المعنوية ($P < 0.01$) في دقة خصوصية الكشف عن الأبقار غير الحوامل بطريقة الجس عبر المستقيم عند اليوم 60 (100%) مقارنةً مع (72.7%) عند اليوم 45 بعد التلقيح (جدول 3). من ناحية أخرى، أظهرت قيم التنبؤ الموجب فرقاً معنوياً ($P < 0.05$) ما بين المدتين قيد الدراسة كما بينت قيم التنبؤ السالب تفرقاً عالي المعنوية ($P < 0.01$) 100% عند اليوم 60 مقارنةً مع (53.33%) عند اليوم 45 بعد التلقيح (جدول 3). ولم تسجل الطريقة أية حالة حمل خاطئة في تشخيص الأبقار الحوامل وغير الحوامل بعد اليوم 60 من التلقيح (جدول 3). وعند المقارنة بين الطرائق الثلاثة مع بعضها البعض، وجد أن طريقة الكشف عن الحمل باستعمال جهاز الموجات فوق الصوتية أظهرت دقة عالية ($P < 0.01$) في تشخيص الأبقار الحوامل، إذ سجلت أعلى حساسية عند اليوم 35 (96%) وخصوصية (63.64%) وقيم تنبؤ موجب (85.71%) وبوقت مبكر (35 يوم بعد التلقيح) مقارنةً بالطريقتين الأخرتين وحلت طريقة البروجسترون بالمرتبة الثانية (جدول 4). يعطي التشخيص المبكر للحمل فرصة أفضل للمربي للنبذ أو إدارة الإناث غير الحوامل بشكل يختلف عن نظيراتها الحوامل مما ينعكس على تقليل تكاليف التغذية والإدارة (7، 8). لذا فإن دقة تشخيص الأبقار الحوامل وغير الحوامل بوقت مبكر تؤدي دوراً مهماً وضرورياً في تحسين الأداء التناسلي للأبقار ومن ثم تحسين الأداء الإنتاجي لها (9). أظهرت طريقة الأمواج فوق الصوتية دقة عالية وبوقت مبكر في تشخيص الأبقار الحوامل عند اليوم 35 بعد التلقيح (96%) في الوقت الذي حققت فيه طريقة قياس هرمون البروجسترون عند اليوم ذاته دقة مقاربة (94.44%). وقد ازدادت دقة الطريقتين بشكل ملحوظ عند اليوم 45 بعد التلقيح (100%) في الوقت الذي كانت فيه دقة طريقة الجس عبر المستقيم متوسطة بلغت 68% عند اليوم ذاته. وتتفق هذه النتائج مع ما وجدته (11) اللذان حصلوا على دقة في تشخيص الأبقار الحوامل بقياس مستوى هرمون البروجسترون بلغت 94% عند اليوم 21 - 22 بعد التلقيح و (7) الذين حصلوا على دقة مقدارها 90% في تشخيص الأبقار الحوامل بطريقة الأمواج فوق الصوتية عند اليوم 34 بعد التلقيح ووصلت إلى 100% عند اليوم 45 بعد التلقيح. وضمن الإطار نفسه، اتفقت هذه النتائج مع ما وجدته (12) التي حصلت على دقة مقدارها 95% عند استعمالها طريقة تركيز هرمون البروجسترون لدى أبقار الهولشتاين عند الأيام 38-39 بعد التلقيح. وقد جاءت نتائج فحص الحمل بطريقة الجس عبر المستقيم عند اليوم 45 و 60 بعد التلقيح لتؤكد نتائج الطريقتين السابقتين.

إن انخفاض قيم الخصوصية (61.11%) والتنبؤ الموجب (70%) لطريقة قياس هرمون البروجسترون عند اليوم 35 بعد التلقيح ربما يعود إلى أن بعض الأبقار قد شخصت حامل وكان التشخيص خاطئاً لأسباب تعود إلى أن بعض الأبقار قد مرت بدورة شبق ولم تشخص أو كان شبقاً صامتاً (Silent heat) أو بسبب حدوث هلاكات جنينية بعد جمع عينات الدم. وهذا ما أكدته نتائج خصوصية طريقة جهاز الأمواج فوق الصوتية، إذ أن بعض الأبقار كانت قد شخصت حاملاً، إلا أن فحصها بطريقة الجس عبر المستقيم أظهرها غير حامل مما يدل على احتمال حصول هلاكات جنينية بعد الفحص. وعند المقارنة بين الطرائق الثلاثة نجد أن طريقة الأمواج فوق الصوتية كانت الأفضل والأدق في تشخيص الأبقار الحوامل (96%) عند اليوم 35 بعد التلقيح وذات أخطاء أقل مقارنةً بالطرائق الأخرى وهذا ما أكدته (7). وقد

ازدادت هذه الدقة لتصل 100% عند اليوم 45 بعد التلقيح. إن انخفاض حساسية طريقة الجس عبر المستقيم (68.18%) وخصوصيتها (72.7%) عند اليوم 45 بعد التلقيح مقارنةً بالطريقتين السابقتين في تشخيص الأبقار الحوامل وغير الحوامل فضلاً عن مخاطرها التي قد تسبب أحياناً أذى للجنين وإحداث هلاكات جنينية تقدر بحدود 2-12% (13). نستنتج من هذه الدراسة إمكانية استعمال طريقة الأمواج فوق الصوتية في دقة تشخيص الحمل وبوقت مبكر (عند اليوم 35 بعد التلقيح) مقارنةً مع طريقتي قياس مستوى هرمون البروجستيرون والجس عبر المستقيم.

جدول (1) تشخيص الحمل لدى أبقار الهولشتاين بقياس تركيز هرمون البروجستيرون في بلازما الدم

قيمة مربع كأي ومستوى المعنوية	الأيام بعد التلقيح			أسس التشخيص
	60 (n=36)	45 (n=36)	35 (n=36)	
NS	100	100.00	94.44	الحساسية (%)
* 3.86	55.55	66.66	61.11	الخصوصية (%)
NS	69.23	75	70.8	قيمة التنبؤ الموجب (%)
NS	100	100.00	91.66	قيمة التنبؤ السالب (%)

* (P<0.05); NS: غير معنوي.

جدول (2) تشخيص الحمل لدى أبقار الهولشتاين باستخدام جهاز الأمواج فوق الصوتية

قيمة مربع كأي ومستوى المعنوية	الأيام بعد التلقيح		أسس التشخيص
	45 (n=30)	35 (n=35)	
NS	100.00	96	الحساسية (%)
NS	70	63.64	الخصوصية (%)
NS	86.95	85.71	قيمة التنبؤ الموجب (%)
* 3.69	100.00	87.5	قيمة التنبؤ السالب (%)

* (P<0.05); NS: غير معنوي.

جدول (3) تشخيص الحمل لدى أبقار الهولشتاين بطريقة الجس عبر المستقيم

قيمة مربع كأي ومستوى المعنوية	الأيام بعد التلقيح		أسس التشخيص
	60 (n=61)	45 (n=61)	
** 6.58	100.00	68.181	الحساسية (%)
** 6.29	100.00	72.7	الخصوصية (%)
* 4.19	100.00	83.33	قيمة التنبؤ الموجب (%)
** 9.84	100.00	53.33	قيمة التنبؤ السالب (%)

* (P<0.05) ** (P<0.01); NS: غير معنوي.

جدول (4) تشخيص الحمل لدى أبقار الهولشتاين بطرائق مختلفة

قيمة مربع كأي ومستوى المعنوية	الجس عبر المستقيم		الكشف باستعمال السونار		تركيز البروجستيرون (نانو غرام/ مل)			الأيام بعد التلقيح	أسس التشخيص
	60 (n=61)	45 (n=61)	45 (n=30)	35 (n=35)	60 (n=36)	45 (n=36)	35 (n=36)		
** 9.317	100.00	68.181	100.00	96	100	100.00	94.44	الحساسية (%)	
** 11.042	100.00	72.7	70	63.64	55.55	66.66	61.11	الخصوصية (%)	
** 8.635	100.00	83.33	86.95	85.71	69.23	75	70.8	قيمة التنبؤ الموجب (%)	
** 9.781	100.00	53.33	100.00	87.5	100	100.00	91.66	قيمة التنبؤ السالب (%)	

** (P<0.01).

المصادر

1. Inskip, E. K. & Dailey, R. A. 2010. Maximizing embryonic and early fetal survival in dairy cattle . WCDS Advances in Dairy Technology, 22: 51-69.
2. Burke, J. H.; De La Sota, R. L.; Risco, C. A.; Staples, C. R.; Schmitt, E. J. P. & Thatcher, W. W. 1996. Evaluation of timed insemination using a gonadotropin-releasing hormone agonist in lactating dairy cows. J. Dairy Sci., 79:1385-1393.
3. Thatcher, W. W.; Moreira, F.; Pancarci, S. M.; Bartolome, J. A. & Santos, J. E. P. 2002. Strategies to optimize reproductive efficiency by regulation of ovarian function. Domest. Anim. Endocrinol., 23:243-254.
4. Ribeiro, E. S.; Galvão, K. N.; Thatcher, W. W. & Santos, J. E. P. 2012. Economic aspects of applying reproductive technologies to dairy herds. Anim. Reprod., 9:370-387.
5. De Vries, A. 2006. Economic value of pregnancy in dairy cattle. J. Dairy Sci., 89: 3876-3885.
6. Lee, J. I. & Kim, I. H. 2007. Pregnancy loss in dairy cows: the contributing factors, the effects on reproductive performance and the economic impact. J. Vet. Sci., 8:283-288.
7. Szenci, O.; Beckers, J. F.; Humblot, P.; Sulon, J.; Sasser, R. G.; Taverne, M. A. M.; Varga, J.; Baltusen, R. & Schekk, G. 1998. Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. Theriogenology, 50: 77-88.
8. Szenci, O.; Beckers, J. F.; Varga, J. & Bajcsy, A. C. 2000. The accuracy of the diagnosis of early pregnancy and late embryonic mortality in the cow: a review. Folia Veterinaria, 44: 199- 201.
9. Gábor, G.; Tóth, F.; Ózsvári, Abonyi- Tóth, Z. & Sasser, R. G. 2007. Early detection of pregnancy and embryonic loss in dairy cattle by ELISA tests. Reprod. Dom. Anim., 42: 633- 636.
10. Steel, R. G. D. & Turrie, J. H. 1990. Principles and Procedures of Statistics. A biometrical approach. Tokyo: McGraw-Hill, Kagakusha Ltd.
11. Kaul, V. & Prakash, B. S. 1994. Accuracy of pregnancy/ non- pregnancy diagnosis in Zebu and crossbred cattle and Murrah buffaloes by milk progesterone determination post- insemination. Trop. Anim. Health Prod., 26: 187- 192.
12. Eidan, S. M.; Khalaf, S. S.; Ishak, M. A.; Abdulkareem, T. A.; Sasser, R. G.; Passavant, C. W. & Alnimer, M. A. 2012. Early pregnancy detection of Holstein cows using BioPRYN enzyme-linked immunosorbent assay for PSPB and the progesterone assay. International Animal Science Congress of Turkish and Relative Communities, Isparta, 11-13 September.
13. Day, J. D.; Weaver, L. D. & Franti, C. E. 1995. Twin pregnancy diagnosis in Holstein cow: discriminatory powers and accuracy of diagnosis by transrectal palpation and outcome of twin pregnancies. Can. Vet. J., 36: 93-97.