مجله تحقیقات دامپزشکی
دوره ۷۵، شماره ۴، ۱۳۹۹، ۵۲۸-۵۱۹
مقاله پژوهشی

بررسی مقدماتی توانمندی نوار پروژسترون گاوی (Rapid P4) در سنجش نیمه کمی پروژسترون در فاز فولیکولی سگ ماده

نوشین نظام‌دوست، محمد حیدرپور، مسعود رجبیون، پژمان میرشکرایی، بابک خرمیان

گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

تاریخ دریافت: ۱ شهریور ماه ۱۳۹۹، **تاریخ پذیرش:** ۲۷ مهر ماه ۱۳۹۹

10.22059/jvr.2020.291512.2983

چکیده

زمینهٔ مطالعه: تعیین زمان تخمک گذاری با استفاده از اندازه گیری پروژسترون برای انجام تلقیح مصنوعی یا جفت گیری در زمان مناسب حائز اهمیت است.

هدف: ارزیابی توانمندی نوارهای پروژسترون گاوی در تعیین میزان نیمه کمی پروژسترون در سرم خون سگ‌های ماده است.

روش‌کار: این مطالعه روی ۵ قلاده سگ نژاد مخلوط، سالم که در فاز آنستروس سیکل جنسی قرار داشتند انجام شد. از داروی کابرگولین برای القاء فحلی استفاده شد. بعد از ورود به فاز پرواستروس از روز ۷ پرواستروس تا ۲ روز پس از تخمک‌گذاری به صورت روزانه اسمیر واژن، اولتراسونوگرافی و خونگیری انجام شد. سرم نمونه‌های خون به دو قسمت تقسیم شد. یک قسمت برای اندازه‌گیری پروژسترون با روش رادیوایمنواسی (RIA) و قسمت دیگر با نوارهای پروژسترون گاوی (Rapid p4) برای ارزیابی نیمه کمی پروژسترون. تغییرات تخمدان‌ها بوسیله اولتراسونوگرافی ارزیابی شد و تغییرات چرخه فحلی بوسیله آزمایش سایتولوژی واژن انجام گرفت.

نتایج: با آزمون اسپیرمن همبستگی مثبت معنی‌داری بین اندازه‌گیری پروژسترون خون با دو روش RIA و نوار مشاهده گردید (P=۰/۰۰) (r=۰/۹۱۶). نتایج نمودار ROC و آنالیز کاپا نشان داد که بالاترین میزان توافق بین نوارها و روش RIA در سطوح ۲ و ۵ نانوگرم در میلی لیتر پروژسترون سرم خون است. حساسیت و ویژگی نوار در سطح ۵ پروژسترون به ترتیب ۸۸/۵ و ۹۳/۷ درصد و در سطح ۱۰ پروژسترون ۸۲/۴ و ۹۶ درصد است. در پرواستروس اسکورهای۳-۲ و تنها در یک سگ اسکور ۴ مشاهده گردید. در استروس در دو سگ اسکورهای ۵ - ۴ و در سه سگ اسکورهای ۵ - ۳ مشاهده گردید.

نتیجه‌گیری نهایی: نوارهای پروژسترون گاوی در سنجش نیمه کمی پروژسترون در مراحل سیکل جنسی سگ‌های ماده قابل استفاده هستند. اسکورهای ۴ و ۵ نوارهای پروژسترونی می‌توانند زمان تقریبی تخمک‌گذاری و زمان مناسب جفت‌گیری را تعیین کنند.

کلمات کلیدی: سگ، کابرگولین، اسمیر واژن، نوارهای پروژسترون گاوی، زمان تلقیح

کپی‌رایت © تحقیقات دامپزشکی: دسترسی آزاد؛ کپی‌برداری، توزیع و نشر برای استفاده کامل با ذکر منبع آزاد است.

نویسنده مسئول: بابک خرمیان، گروه علوم بالینی، دانشکده دامپزشکی مشهد، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

پست الکترونیکی: Khoramian@um.ac.ir

مقدمه

سیکل فحلی در سگ سانان از نوع مونواستروس غیرفصلی است که به ۴ فاز تقسیم می‌شود: پرواستروس ۹ روز، استروس ۹ روز، دایستروس ۶۵ روز و آنستروس ۱۲۰ روز. پرواستروس از اولین روز ترشحات خونی از فرج آغاز می‌شود و در اولین روز پذیرش سگ نر برای جفت‌گیری پایان می‌یابد. شروع این فاز همراه با یک سری نشانه‌های بالینی از جمله تورم فرج و ترشحات سروزی خونی از فرج است. افزایش شاخی شدن و ادم اپیتلیوم واژن در این فاز اتفاق می‌افتد (۱۱). پروفایل سلول‌های اپیتلیوم واژن شامل: سلول‌های پارابازال (Parabasal cells)، تعداد زیادی سلول‌های واسطه‌ای کوچک (Small intermediate cell) و واسطه‌ای بزرگ (Large intermediate cell) و تعداد زیادی گلبول قرمز است. هرقدر که سگ به اواخر پرواستروس نزدیک می‌شود تعداد سلول‌های شاخی بدون هسته (Anuclear keratinized) هم بیشتر می‌شوند. شاخی شدن به طور متوسط بین ۱ تا ۶ روز قبل از غلیان LH رخ می‌دهد (۹). زمان فحلی و آغاز آن از اولین روز ایستادن سگ ماده برای سگ نر و پذیرش جفت‌گیری مشخص می‌شود. از لحاظ آناتومیک، چروکیدگی و ترشح موکوسی واژن در فاز استروس با واژینوسکوپ قابل مشاهده است. این تغییرات در پاسخ به کاهش

شدید نسبت استروژن به پروژسترون اتفاق می‌افتد. کاهش ترشح استرادیول از مقادیر پیک در اواخر پرواستروس تا مقادیر متوسط ۲۰- ۱۰ پیکوگرم در میلی لیتر ادامه می‌یابد. پروژسترون سرم سریع افزایش می‌یابد و به بالاتر از ۳- ۱ نانوگرم در میلی لیتر در زمان غلیان LH می‌رسد و بلافاصله یا با یک فاصله‌ی ۱ تا ۳ روزه شدیداً افزایش می‌یابد و نهایتاً به ۲۵- ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر در حدود روزهای ۱۰ از فاز استروس یا کمی بعد از پایان استروس می‌رسد. پروفایل سلول‌های اپیتلیوم واژن شامل: سلول‌های واسطه‌ای بزرگ و غالبیت سلول‌های بزرگ شاخی است. در اوایل استروس گلبول قرمز به میزان کم نیز مشاهده می‌شود.

دی‌استروس با امتناع سگ ماده برای جفت‌گیری آغاز می‌شود و به طور متوسط ۶۵ روز طول می‌کشد (بازه ۵۰ تا ۸۰ روز). پایانِ مت استروس و آغاز آنستروس هنگامی است که اندومتریوم رحم از لحاظ بافت‌شناسی ترمیم گردد و یا زمانی که بزرگ شدن پستان در پاسخ به فاز لوتئال کاهش یابد و یا طی تعریف متداول دهه گذشته هنگامی‌که پروژسترون سرم به سطوح زیر ۱ نانوگرم کاهش یابد. در روزهای ۲۰ و ۳۵ دوره دای استروس پروژسترون به میزان پیک خود ۱۵تا ۱۸۰ نانوگرم در هر میلی لیتر می‌رسد سپس به مرور کاهش یافته و در روزهای ۵۵ تا ۹۰ به زیر ۱ نانوگرم می‌رسد (۱). با ورود به مرحله دای استروس سلول‌های بزرگ شاخی دیگر مشاهده نمی‌شوند و میزان نوتروفیل‌ها بسیار افزایش می‌یابد. آنستروس به طور متوسط ۱۲۰ روز طول می‌کشد اما ممکن است از ۴۰ تا ۲۷۰ روز متغیر باشد (۹). در این مرحله ترمیم بافت اندومتریوم رحمی در روزهای ۱۲۰تا ۱۳۰ کامل می‌شود. در این مرحله مخاط واژن نازک بوده و سطحی شکننده دارد (۱). پروفایل سلول‌های اپیتلیومی واژن فقط شامل تعداد کمی سلول‌های پارابازال است. در اوایل و اواخر آنستروس کمی سلول‌های واسطه‌ای کوچک نیز مشاهده می‌شود.

غلیان LH پیش از تخمک‌گذاری در بسیاری از سگ‌ها در ۲ روز آخر پرواستروس یا ۲ روز اول فحلی اتفاق می‌افتد. با این وجود، عدم همزمانی بین پاسخ‌های رفتاری سگ ماده و غلیان LH پیش از تخمک‌گذاری می‌تواند وجود داشته باشد. در برخی سگ‌های ماده ممکن است غلیان LH در هنگام تخمک‌گذاری در اوایل استروس یا در اولین روزهای فحلی اتفاق بیافتد (۱۲). غلیان LH پیش از تخمک گذاری به طور متوسط ۳۶ ساعت طول می‌کشد و در زمان افزایش شدید میزان استرادیول -۱۷بتا شروع می‌شود. پس از غلیان LH میزان ۱۷- بتا استرادیول در طی تقریباً ۸۰ ساعت به میزان پایه خود (۳۵ پیکومول بر لیتر) می‌رسد. میزان هورمون LH پیش از غلیان و پس از آن تفاوت زیادی ندارد. غلیان FSH پیش از تخمک‌گذاری همزمان یا کمی قبل از غلیانLH پیش از تخمک‌گذاری شروع می‌شود (۴). لوتئینی شدن سریع و گسترده در طی غلیان LH پیش از تخمک‌گذاری اتفاق می‌افتد. بنابراین فولیکول غالب قبل از تخمک‌گذاری مشخصاتی از رشد سریع جسم زرد را دارا می‌باشد (۴). غلظت هورمون پروژسترون در زمان پیک LH ۶ تا ۱۳ نانومول بر لیتر (۱/۸ تا ۴ نانوگرم در میلی لیتر) و در زمان تخمک‌گذاری ۴/۷ تا ۷/۸ نانوگرم در میلی لیتر است و در بیشتر گونه‌ها ۳۶ تا ۴۸ ساعت پس از غلیان LH تخمک‌گذاری اتفاق می‌افتد. رفتارهای فحلی معمولاً همزمان با غلیان LH پیش از تخمک‌گذاری اتفاق می‌افتد، اما در برخی از سگ‌ها ممکن است روزها قبل و یا بعد از غلیان LH اتفاق بیافتد. چروکیده شدن سطح واژن در اواسط فاز فولیکولی شروع می‌شود و تا هنگام تخمک‌گذاری ادامه می‌یابد که در این دوره چین‌های طولی زیادی در دیواره واژن مشاهده می‌شود (۴).

در سگ ماده، جفت‌گیری چه در اولین روز فحلی یا آخرین روز فحلی اتفاق بیافتد آبستنی امکان‌پذیر است. هنگامی که سگ‌های ماده تنها یک بار در اولین روز یا هفتمین روز فحلی جفت‌گیری می‌کنند آبستنی و میزان لقاح تفاوتی ندارد. این دوره باروری طولانی ناشی از بقای طولانی مدت اسپرم‌ها در مهبل و رحم سگ و بقای طولانی مدت تخمک‌ها در اویداکت می‌باشد (۱۲). دلیل توجه به تعیین مرحله سیکل جنسی و زمان تخمک گذاری در سگ‌ها تمایل صاحبان آن‌ها به تعیین زمان دقیق مرحله آنستروس برای استفاده از روش‌های القای فحلی مانند استفاده از داروی خوراکی کابرگولین و کاهش فواصل بین فحلی در سگ‌ها و افزایش تعداد توله‌های متولد شده در یک سال است.

هم چنین تعیین زمان تخمک گذاری برای صاحبان سگ به لحاظ زمان مناسب جفت‌گیری و تلقیح مصنوعی حائز اهمیت است. با اندازه‌گیری میزان پروژسترون می‌توان مرحله سیکل جنسی و زمان تخمک گذاری سگ ماده را به طور تقریبی تعیین کرد. اندازه‌گیری پروژسترون با نوارهای پروژسترونی گاوی نسبت به اندازه‌گیری پروژسترون با روش RIA (Radio Immuno Assay) مزایایی دارد. برای اندازه گیری پروژسترون به روش RIA به زمان بیشتر، تکنیسین‌های مجرب، آزمایشگاه مجهز برای این روش، صرف هزینه بالا، دسترسی به مواد رادیو ایزوتوپ مناسب و روش مناسب حذف مواد باقیمانده نیاز است. اما در استفاده از نوارهای

پروژسترونی یک نفر قادر است تمام مراحل آزمایش را در کمترین زمان اجرا کند، به علاوه این روش برخلاف روش RIA خطرناک نبوده، به تجهیزات بسیار پیچیده نیاز نداشته و آسان‌تر و سریع‌تر اجرا می‌گردد. هدف از انجام این طرح ارزیابی توانمندی نوارهای پروژسترون گاوی در تعیین میزان نیمه کمی پروژسترون در سرم خون سگ‌های ماده است.

مواد و روش‌کار

در این مطالعه پنج قلاده سگ نژاد بزرگ مخلوط با وزن ۱۶ تا ۲۴ کیلوگرم و سن ۲ تا ۳ سال که از نظر سلامت عمومی و پروفایل خونی سالم بودند و در اولتراسونوگرافی تخمدان‌ها و رحم طبیعی بودند استفاده شد. از تمام سگ‌ها قبل از ورود به طرح اسمیر واژن گرفته شد. برای رنگ‌آمیزی لام‌ها از رنگ Diff Quick استفاده شد. با استفاده از میکروسکوپ و بزرگنمایی ۴۰×، درصد هر یک از سلول‌های پارابازال، سلول‌های اینترمدیت و شاخی مشخص گردید. تعداد کم سلول که غالبیت آن را سلول‌های پارابازال تشکیل می‌داد به منزله‌ی فاز آنستروس در نظر گرفته می‌شد. همچنین در صورتی که در اولتراسونوگرافی، تخمدان آن‌ها فاقد فولیکول بود یک نمونه خون برای اندازه‌گیری میزان پروژسترون و تأیید فاز آنستروس به آزمایشگاه فرستاده شد. میزان پروژسترون زیر ۱ نانوگرم در میلی لیتر به منزله تأیید مرحله آنستروس است. سگ‌هایی که برای طرح انتخاب شده بودند به مدت ۱۰ روز تحت مراقبت کامل قرار گرفتند و دو مرحله واکسیناسیون (DHppil Vaccination) به فاصله یک ماه و دو مرحله درمان ضد انگلی به فاصله دو هفته انجام گردید. حیوانات در پانسیون نگهداری سگ‌ها در کلینیک دامپزشکی دانشگاه فردوسی مشهد نگهداری شدند. یک وعده غذایی در روز به آن‌ها داده می‌شد و آب به صورت آزاد در دسترس حیوانات بود. خون‌گیری از ورید سفالیک سگ‌ها انجام شد. از هر قلاده سگ ۵ سی‌سی خون گرفته شد. نمونه‌های خون در آزمایشگاه سانتریفیوژ گردید و سرم هر سگ در دو میکروتیوب جداگانه ریخته شد. یک سرم که برای اندازه‌گیری میزان هورمون پروژسترون بود تا قبل از بردن به آزمایشگاه پس از انتهای نمونه گیری از تمامی سگ‌ها در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد و در سرم دیگر یک نوار پروژسترون گاوی ساخت شرکت Lancaster DHIA با نام تجاری Rapid P4 قرار داده می‌شد. جهت استفاده از دیپ استیک Rapid P4 پد انتهایی این نوار به مدت ۵ تا ۱۰ دقیقه در سرم قرار داده می‌شد و سپس میزان تقریبی هورمون پروژسترون بر اساس خط استاندارد (بالایی) و خط آزمون (پایینی) مورد سنجش قرار می‌گرفت (تصویر ۱). سگ‌هایی که در فاز آنستروس بودند خط آزمون (پایینی) پررنگ و خط استاندارد (بالایی) بسیار کمرنگ بود. در سنجش میزان هورمون پروژسترون سرم در آزمایشگاه انسانی با دستگاه گاماکانتر با روش RIA (Radio Immuno Assay) انجام شد. به‌دنبال تخمین غلظت پروژسترون خون با استفاده از نوار پروژسترونی، نتایج حاصله مطابق با جدول ۱ به ۵ اسکور طبقه بندی شدند. این طبقه بندی بر اساس شرکت سازنده نوار پروژسترون گاوی تعریف شده است.

به منظور انجام اولتراسونوگرافی، موهای قسمت شکمی تمامی سگ‌های مورد مطالعه تراشیده شد و از ۱۲ ساعت قبل از اولتراسونوگرافی به سگ‌ها غذا داده نشده بود. سگ‌ها در حالت خوابیده به پشت قرار گرفتند و با استفاده از مقادیر کافی ژل اولتراسونوگرافی و با استفاده از پراب خطی با فرکانس ۷/۵ تا ۱۲ مگاهرتز و دستگاه سونوگرافی داپلر Esaote- My lab 30 Gold (ایتالیا) انجام می‌شد و تصاویر مربوطه ذخیره شد. به همه‌ی ۵ قلاده سگ در یک روز مشخص داروی کابرگولین با نام تجاری Cabolin (ساخت شرکت داروسازی ابوریحان، ایران به صورت قرص ۱ میلی‌گرمی) با دوز ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی و روزانه تا شروع پرواستروس داده شد. با توجه به دوز تجویزی پایین کابرگولین امکان تجویز قرص به صورت مستقیم وجود نداشت. به همین دلیل قرص کابرگولین را در ۱۰ سی‌سی اسید استیک ۱ درصد حل کرده سپس تجویز شد. یک سی سی از این محلول حاوی ۱۰۰ میکروگرم کابرگولین است. با شروع درمان فرج سگ‌ها روزانه یک بار جهت مشاهده هر گونه تغییری شامل ادم فرج و ترشحات سروزی خونی بررسی شد. همچنین تا شروع فاز پرواستروس یک روز در میان از تمام سگ‌ها گسترش (اسمیر) واژن گرفته می‌شد. خون‌گیری و جدا سازی سرم هم روزانه از روز ۷ پرواستروس انجام می‌شد و سرم هر سگ در دو میکروتیوب جداگانه قرار داده می‌شد و یک سرم برای اندازه‌گیری هورمون پروژسترون تا پایان طرح در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد و در سرم دیگر یک نوار پروژسترون گاوی (Rapid P4) به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده می‌شد. ۷ روز بعد از شروع خونریزی اولتراسونوگرافی به منظور ارزیابی تغییرات تخمدانی آغاز گردید و در صورت مشاهده تخمک گذاری تا ۲ روز بعد از آن ادامه پیدا کرد. اندازه قطر فولیکول در تخمدان‌های چپ و راست هر سگ به صورت روزانه، قطر بزرگ‌ترین فولیکول مشاهده شده در هر سگ و زمان تخمک گذاری ثبت گردید. به منظور تجزیه و تحلیل آماری

از نرم افزار SPSS (ویرایش ۱۶، آمریکا) استفاده شد و در تمامی مراحل مقادیر *P* value کمتر از ۰/۰۵ معنی‌دار تلقی شد. همبستگی بین نتایج اندازه‌گیری پروژسترون خون با دو روش RIA و نوار پروژسترون گاوی با استفاده از آزمون غیر پارامتریک Spearman مورد بررسی قرار گرفت. با استفاده از روش ROC ارزش تشخیصی نوار پروژسترون گاوی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ارزش تشخیص این نوار در سه سطح پروژسترون سرم خون (سطح اول مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲، سطح دوم مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ و سطح سوم مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با روش RIA ارزیابی شد. به منظور ارزیابی میزان توافق این دو روش در سه سطح (سطح اول مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲، سطح دوم مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ و سطح سوم مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) از آزمون Kappa استفاده شد. هدف از انتخاب این سه سطح ارزیابی توانمندی نوارهای پروژسترونی در تعیین زمان تقریبی غلیان LH (۲ نانوگرم در میلی‌لیتر)، زمان تخمک گذاری (۵ نانوگرم در میلی‌لیتر)، زمان مناسب برای تلقیح مصنوعی (۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) است.

جدول ۱. آنالیز نوارهای پروژسترون گاوی.

اسکور	مقدار پروژسترون (نانو گرم/میلی لیتر)
۱	<۰/۵
۲	۰/۲-۵
۳	۵-۲
۴	۱۰-۵
۵	>۱۰

جدول ۲. مقایسه اسکور نوارهای پروژسترونی با میزان پروژسترون اندازه گیری شده با روش RIA.

پروژسترون (نانوگرم/میلی لیتر)	اسکور				
	۱	۲	۳	۴	۵
<۰/۵	۲۸/۵ درصد	۷۱/۵ درصد			
۰/۲-۵			۱۰۰ درصد		
۵-۲			۸۰ درصد	۲۰ درصد	
۱۰-۵			۳۳/۳ درصد	۵۵/۵ درصد	۱۱/۲ درصد
>۱۰				۱۷/۷ درصد	۸۲/۳ درصد

جدول ۳. بررسی درصد اسکورهای نوارهای پروژسترونی گاوی در مراحل مختلف سیکل فحلی سگ.

فاز جنسی	اسکور				
	۱	۲	۳	۴	۵
آنستروس	۴۰ درصد	۶۰ درصد			
اواخر پرواستروس		۲۰ درصد	۷۰ درصد	۱۰ درصد	
استروس			۱۴/۸ درصد	۲۹/۶ درصد	۵۵/۵ درصد
تخمک گذاری				۵۰ درصد	۵۰ درصد

جدول۴. میزان توافق دو روش RIA و نوار پروژسترونی در سطح اول پروژسترون خون (مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲ نانوگرم در میلی لیتر).

		RIA		مجموع
		۲ >	۲≤	
نوار پروژسترونی	۲ >	۵	۰	۵
	۲≤	۶	۳۱	۳۷
مجموع		۱۱	۳۱	۴۲

جدول ۵. میزان توافق دو روش RIA و کیت سریع در سطح دوم پروژسترون خون (مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ نانوگرم در میلی لیتر).

		RIA		مجموع
		۵>	۵≤	
نوار پروژسترونی	۵>	۱۵	۳	۱۸
	۵≤	۱	۲۳	۲۴
مجموع		۱۶	۲۶	۴۲

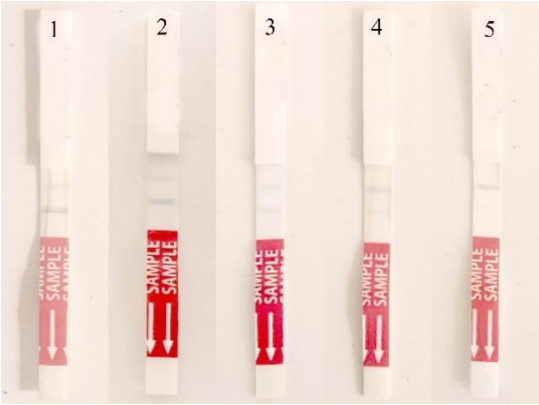
جدول ۶. میزان توافق دو روش RIA و نوار پروژسترونی در سطح سوم پروژسترون خون (مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر).

		RIA		مجموع
		۱۰>	۱۰≤	
نوار پروژسترونی	۱۰>	۲۴	۳	۲۷
	۱۰≤	۱	۱۴	۱۵
مجموع		۲۵	۱۷	۴۲

نتایج

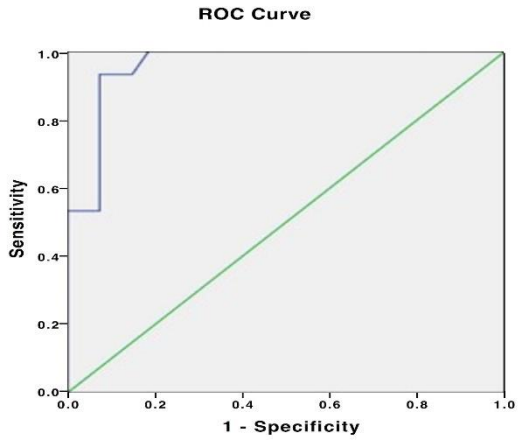
در سگ‌های مورد استفاده در طرح در روز اول محدوده میزان هورمون پروژسترون بین ۱/۲ تا ۰/۵ نانوگرم قرار داشت که فاز آنستروس را تأیید می‌کرد. سگ‌های ۱ تا ۵ به ترتیب طی مدت ۱۵، ۴۰، ۶، ۱۷۷ و ۱۰ روز دریافت کابرگولین وارد مرحله پرواستروس شدند. اولتراسونوگرافی از روز ۷ پرواستروس تا ۲ روز بعد از تخمک‌گذاری انجام شد و قطر بزرگ‌ترین فولیکول ثبت شده در ۵ سگ مورد مطالعه به ترتیب ۰/۸، ۰/۸، ۰/۸، ۱/۲۳ و ۱/۲ سانتی‌متر بود در مورد سگ چهارم تخمک‌گذاری در طول انجام مطالعه انجام نشد. میانگین بزرگ‌ترین فولیکول ثبت شده ۰/۱۹ ± ۰/۸۹ ثبت شد و میانگین زمان مشاهده بزرگ‌ترین فولیکول ۲/۳۹ ± ۱۱/۲ روز پس از شروع پرواستروس ثبت شد.

برای ۵ اسکور تعریف شده، نوارهای پروژسترونی، درصد اسکورهایی که نوارهای پروژسترونی استفاده شده در طرح نشان دادند را مشخص کردیم (جدول ۲). درصد اسکورهای نشان داده شده توسط نوارهای پروژسترونی استفاده شده در طرح در مراحل مختلف سیکل جنسی را تعیین شد (جدول ۳). بدنبال بررسی با آزمون غیر پارامتریک Spearman، همبستگی مثبت معنی‌داری بین اندازه‌گیری پروژسترون خون با دو روش RIA و نوار پروژسترونی مشاهده شد (P=۰/۰۰) (r=۰/۹۲۹). با استفاده از روش ROC ارزش تشخیصی نوار پروژسترونی سرمی مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور ارزش تشخیص این نوار جهت اندازه گیری پروژسترون در سه سطح (سطح اول مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲، سطح دوم مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ و سطح سوم مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) در مقایسه با روش RIA ارزیابی گردید.

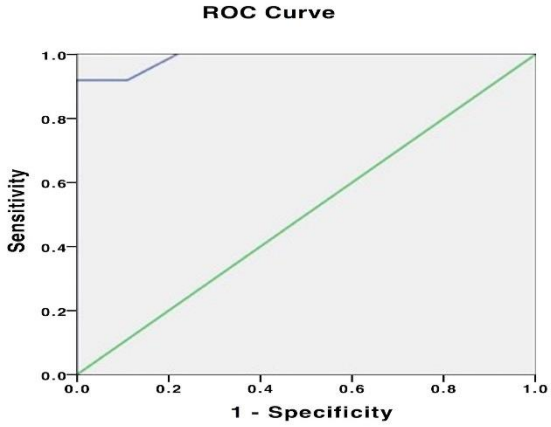


تصویر ۱. اسکورهای نیمه کمی نوارهای پروژسترونی.

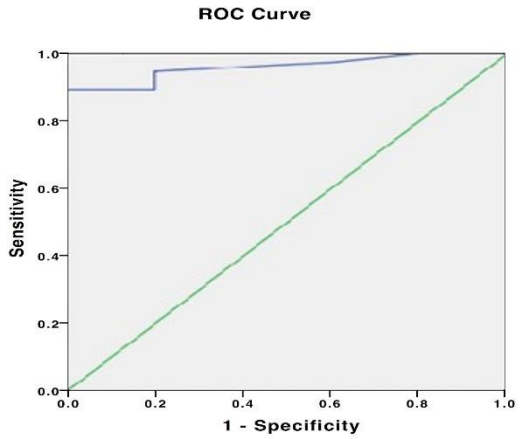
سطح اول: جهت ارزیابی ارزش تشخیص نوار پروژسترونی در سطح اول اسکورهای یک و دو که به ترتیب نشان دهنده غلظت‌های کمتر از ۰/۵ و ۲-۰/۵ نانوگرم در میلی لیتر پروژسترون خون هستند به عنوان گروه منفی و اسکورهای سه و چهار و پنج به عنوان گروه مثبت در نظر گرفته شدند. با توجه به سطح زیر نمودار منحنی ROC، می‌توان گفت که در سطح ۲≤ نانوگرم در میلی لیتر، ارزش تشخیصی این تست ۰/۹۵۹ است (P=۰/۰۰) (تصویر ۲). **سطح دوم:** جهت ارزیابی ارزش تشخیص نوار پروژسترونی در سطح دوم اسکورهای یک، دو و سه که به ترتیب نشان دهنده غلظت‌های کمتر از ۰/۵ و ۲-۰/۵ و ۵-۲ نانوگرم در میلی لیتر پروژسترون خون هستند به عنوان گروه منفی و اسکورهای چهار و پنج به عنوان گروه مثبت در نظر گرفته شدند. با توجه به سطح زیر نمودار منحنی ROC، می‌توان گفت که در سطح ۵≤ نانوگرم، ارزش تشخیصی این تست، ۰/۹۸۶ است (P=۰/۰۰) (تصویر ۳). **سطح سوم:** جهت ارزیابی ارزش تشخیص نوار پروژسترونی در سطح سوم اسکورهای یک، دو، سه و چهار که



تصویر ۲. منحنی ROC مربوط به ارزش تشخیصی نوار پروژسترونی در سطح اول (مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲ نانوگرم در میلی لیتر).



تصویر ۳. منحنی ROC مربوط به ارزش تشخیصی نوار پروژسترونی در سطح دوم (مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ نانوگرم در میلی لیتر).



تصویر ۴. منحنی ROC مربوط به ارزش تشخیصی نوار پروژسترونی در سطح سوم (مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر).

به ترتیب نشان دهنده غلظت‌های کمتر از ۰/۵، ۲-۰/۵، ۵-۲ و ۱۰-۵ نانوگرم در میلی‌لیتر پروژسترون خون هستند به عنوان گروه منفی و اسکور پنج که نشان دهنده غلظت پروژسترون بیشتر از ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر است به عنوان گروه مثبت در نظر گرفته شدند. با توجه به سطح زیر نمودار منحنی ROC، می‌توان گفت که در سطح ≤۱۰ نانوگرم در میلی‌لیتر، ارزش تشخیصی این تست ۰/۹۵۹ است (P=۰/۰۰) (تصویر ۴).

به منظور ارزیابی میزان توافق این دو روش در سه سطح آستانه (سطح اول: ۲ نانوگرم، سطح دوم: ۵ نانوگرم و سطح سوم: ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر) از آزمون Kappa استفاده گردید. علاوه بر این حساسیت (Sensitivity)، ویژگی (Specificity)، ارزش پیشگویی مثبت (Positive predictive value) و منفی (Negative predictive value) نوارهای مورد استفاده نیز در سه سطح مذکور با استفاده از فرمول‌های زیر محاسبه گردید:

حساسیت= تعداد مثبت واقعی / (تعداد مثبت واقعی + تعداد منفی کاذب)

ویژگی = تعداد منفی واقعی / (تعداد منفی واقعی + تعداد مثبت کاذب)

ارزش پیشگویی مثبت= تعداد مثبت واقعی / (تعداد مثبت واقعی + تعداد مثبت کاذب)

ارزش پیشگویی منفی= تعداد منفی واقعی / (تعداد منفی واقعی + تعداد منفی کاذب

تعریف مثبت واقعی = نمونه‌هایی که به درستی مثبت نشان داده شده‌اند.

تعریف مثبت کاذب = نمونه‌هایی که به اشتباه مثبت نشان داده شده در حالی که منفی هستند.

تعریف منفی واقعی = نمونه‌هایی که به درستی منفی نشان داده شده‌اند.

تعریف منفی کاذب = نمونه‌هایی که به اشتباه منفی نشان داده شده در حالی که مثبت هستند.

جهت ارزیابی در سطح اول، مقادیر پروژسترون خون کمتر از ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر در روش RIA و اسکورهای یک و دو نوار به عنوان گروه منفی و مقادیر پروژسترون خون بیشتر مساوی ۲ در روش RIA و اسکورهای سه، چهار و پنج نوار به عنوان گروه

مثبت در نظر گرفته شدند. با توجه به نتایج آزمون کاپا، توافق آماری بسیار معنی‌داری بین دو روش مشاهده گردید (P=۰/۰۰۱) (Kappa value=۰/۵۵۲). حساسیت و ویژگی نوار تشخیصی در این سطح به ترتیب ۱۰۰ و ۴۵/۵ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی نوار تشخیص در این سطح به ترتیب ۸۳/۸ و ۱۰۰ درصد محاسبه گردید (جدول ۴). جهت ارزیابی در سطح دوم، مقادیر پروژسترون خون کمتر از ۵ در روش RIA و اسکورهای یک، دو و سه نوار به عنوان گروه منفی و مقادیر پروژسترون خون بیشتر مساوی ۵ در روش RIA و اسکورهای چهار و پنج نوار به عنوان گروه مثبت در نظر گرفته شدند. با توجه به نتایج آزمون کاپا، توافق آماری معنی‌داری بین دو روش مشاهده گردید (P=۰/۰۰) (Kappa value=۰/۸۰۳). حساسیت و ویژگی نوار تشخیصی در این سطح به ترتیب ۸۸/۵ و ۹۳/۷ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی نوار تشخیص در این سطح به ترتیب ۹۵/۸ و ۸۳/۳ درصد محاسبه گردید (جدول ۵). جهت ارزیابی در سطح سوم، مقادیر پروژسترون خون کمتر از ۱۰ در روش RIA و اسکورهای یک، دو، سه و چهار نوار به عنوان گروه منفی و مقادیر پروژسترون خون بیشتر مساوی ۱۰ در روش RIA و اسکور پنج نوار به عنوان گروه مثبت درنظر گرفته شدند. با توجه به نتایج آزمون کاپا، توافق آماری معنی‌داری بین دو روش مشاهده گردید (P=۰/۰۰۱) (Kappa value=۰/۴۳). حساسیت و ویژگی نوار تشخیصی در این سطح به ترتیب ۸۲/۴ و ۹۶ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی نوار تشخیص در این سطح به ترتیب ۹۳/۳ و ۸۸/۹ درصد محاسبه گردید (جدول ۶).

بحث

ارزش تشخیص و میزان توافق نوارهای پروژسترونی جهت اندازه‌گیری پروژسترون در سه سطح مختلف ۲، ۵ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر در مقایسه با روش RIA ارزیابی گردید. حساسیت و ویژگی نوار برای مقادیر کمتر از ۲ و بیشتر مساوی ۲ به ترتیب ۱۰۰ و ۴۵/۵ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی به ترتیب ۸۳/۸ و ۱۰۰ بود (پروژسترون ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر زمان تقریبی غلیان LH). حساسیت و ویژگی نوار برای مقادیر کمتر از ۵ و بیشتر مساوی ۵ به ترتیب ۸۸/۵ و ۹۳/۷ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی به ترتیب ۹۵/۸ و ۸۳/۳ بود (پروژسترون ۵ نانوگرم در میلی لیتر زمان تخمک گذاری). حساسیت و ویژگی نوار برای مقادیر کمتر از ۱۰ و بیشتر مساوی ۱۰ به ترتیب ۸۲/۴ و ۹۶ درصد و ارزش پیشگویی مثبت و منفی به ترتیب ۹۳/۳ و ۸۸/۹ بود (پروژسترون ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر زمان مناسب جفت گیری). بنابراین نوارهای پروژسترونی برای مقادیر ۵ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار هستند.

در مرحله آنستروس میزان پروژسترون سرم خون در ۵ قلاده سگ بر اساس RIA بین ۰/۱۵ تا ۰/۳ نانو گرم در میلی لیتر اندازه‌گیری شد که نوار مورد استفاده جهت تخمین غلظت پروژسترون در طی انستروس در ۴۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۱ و در ۶۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۲ را نشان داد. در انتهای مرحله پرواستروس میزان پروژسترون سرم خون در ۵ قلاده سگ بر اساس RIA بین ۰/۲ تا ۵/۶ نانو گرم در میلی‌لیتر اندازه‌گیری شد که نوار مورد استفاده جهت تخمین غلظت پروژسترون در طی انتهای مرحله پرواستروس در ۲۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۲، ۷۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۳، ۱۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۴ را نشان داد. در مرحله استروس میزان پروژسترون سرم خون در ۵ قلاده سگ بر اساس RIA بین ۲تا ۳۷/۷ نانوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد که نوار مورد استفاده جهت تخمین غلظت پروژسترون در طی استروس در ۱۴/۸درصد نمونه‌ها اسکور ۳ در ۲۹/۶ درصد نمونه‌ها اسکور ۴ و در ۵۵/۵ درصد نمونه‌ها اسکور ۵ را نشان داد. در زمان تخمک گذاری پروژسترون سرم خون در ۵ قلاده سگ بر اساس RIA بین ۵/۳ تا ۳۷/۷ نانوگرم در میلی لیتر اندازه گیری شد که نوار مورد استفاده جهت تخمین غلظت پروژسترون در طی تخمک‌گذاری در ۵۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۴ و در ۵۰ درصد نمونه‌ها اسکور ۵ را نشان داد.

Johnston و همکاران در سال ۱۹۹۵؛ نشان دادند که میزان پروژسترون در روز پیک LH معادل ۲ نانوگرم در میلی‌لیتر است و در روز تخمک گذاری بین ۴ تا ۱۰ نانوگرم در هر میلی لیتر است (۱۰). در مطالعه حاضر میزان پروژسترون در روز تخمک گذاری بین ۵/۳ تا ۳۷/۷ اندازه گیری شد. Concannon و همکاران در سال ۲۰۱۱؛ بیان کردند پروژسترون در طول فاز پرواستروس به طور آهسته افزایش می‌یابد و از ۰/۲-۰/۴ نانوگرم در میلی لیتر به میزان ۰/۸-۰/۶ نانوگرم در میلی‌لیتر یک روز قبل از غلیان LH می‌رسد. سپس میزان پروژسترون از ۰/۸-۰/۵ نانوگرم در هر میلی لیتر به ۰/۹ تا ۲/۲ نانوگرم در هر میلی لیتر در حین یا چند ساعت قبل از آغاز غلیان LH می‌رسد. اولین روزی که میزان پروژسترون ۵ نانوگرم در میلی لیتر یا بالاتر است را باید روز تخمک‌گذاری در نظر گرفت. مجموعه‌ای از نمونه‌های خون در طی پرواستروس و استروس جهت دقت زمان تخمک‌گذاری با استفاده از اندازه‌گیری

پروژسترون مورد نیاز است (۲). در مطالعه حاضر اولین روزی که میزان پروژسترون ۵ نانوگرم در لیتر یا بالاتر است را نمی‌توان روز تخمک گذاری در نظر گرفت زیرا فقط در یک سگ اولین روزی که میزان پروژسترون ۵ نانوگرم در لیتر یا بالاتر بود تخمک گذاری رخ داد. در مطالعه Hadley در سال ۱۹۷۴؛ بررسی میزان پروژسترون و استروژن خون سگ‌های آبستن از ۳ سگ آبستن در یک نژاد بیگل و دو سگ نژاد مخلوط نشان داده شد که میزان پروژسترون در روز اول پرواستروس ۰/۲ نانوگرم در هر میلی لیتر سرم خون می‌باشد و میزان پروژسترون در طی این فاز پایین می‌ماند ولی ۳ روز قبل از پایان پرواستروس شروع به افزایش کرده و به ۱/۲ نانوگرم در میلی لیتر در روز اول استروس می‌رسد. افزایش پروژسترون به صورت آرام در طی سه روز فاز استروس ادامه می‌یابد و سپس در طی ۵ روز بعدی بخصوص از روز دوم استروس افزایش سریع پروژسترون آغاز می‌شود (۶).

در مطالعه حاضر از روز دوم یا سوم استروس افزایش سریع پروژسترون نیز آغاز می‌شود که با نتایج این مطالعه مشابه بود. درمطالعه Graf و همکاران در سال ۱۹۷۸؛ اندازه گیری میزان پروژسترون بر روی ۸ سگ نژاد بیگل انجام شد و افزایش مشخصی در میزان پروژسترون در اواخر فاز پرواستروس و استروس مشاهده گردید (۵). در مطالعه حاضر هم افزایش پروژسترون در اواخر پرواستروس و استروس نیز صورت گرفت. در مطالعه Heersche و همکاران در سال ۱۹۹۴؛ نوارهای پروژسترونی را جهت بررسی میزان پروژسترون در شیر گاو استفاده کردند. بر اساس نتایج مطالعه فوق زمانی که نوارهای پروژسترونی میزان بالای پروژسترون را نشان می‌دهند به این معناست که گاو در مرحله استروس قرار ندارد. میزان پایین پروژسترون نشان دهنده فاز فولیکولی مرحله استروس است و نمی‌توان زمان مناسب دقیقی برای تلقیح مصنوعی تعیین کرد (۸).

در مطالعه حاضر زمان تخمک گذاری در سگ را با استفاده از نوارها می‌توان تعیین کرد. که با مطالعه فوق هم خوانی نداشت. علت عدم هم خوانی می‌تواند تفاوت در نوع حیوان باشد. Masayoshi و همکاران در سال ۱۹۹۹؛ رابطه بین تعیین روز تخمک‌گذاری با استفاده از اولتراسونوگرافی و میزان هورمون LH و پروژسترون را بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که فولیکول‌های تخمدان ۸-۳ روز (میانگین ۰/۵±۵/۱ روز) پس از آغاز خون‌ریزی از فرج توسط اولتراسونوگرافی قابل مشاهده شدند. اندازه فولیکول‌ها در زمان مشاهده ۰/۵-۰/۳ سانتی‌متر (میانگین ۴/۰۲±۰/۰ سانتی‌متر) بود. فولیکول‌های تخمدان در طی ۱۲-۶ روز (میانگین ۰/۶۰±۹/۱۰ روز) پس از آغاز خون‌ریزی از فرج به بزرگ‌ترین اندازه خود رسیدند (۷).

در مطالعه حاضر فولیکول‌های تخمدان در طی ۹ تا ۱۳ روز با میانگین ۱/۷±۱۰/۵ روز پس از آغاز خون ریزی از فرج به بزرگ‌ترین اندازه خود رسیدند که با نتایج این مطالعه هم خوانی داشت. England و همکاران در سال ۲۰۰۹؛ رشد فولیکولی، تخمک‌گذاری و میزان گیرایی را در سیکل طبیعی استروس سگ‌ها بررسی کردند. آن‌ها گزارش کردند که فولیکول‌ها در اواخر آنستروس (۶۰ تا ۱۰۰ روز مانده به غلیان LH) به وسیله اولتراسونوگرافی قابل تشخیص اند و با نزدیک شدن به شروع سیکل اندازه‌ی آن‌ها افزایش می‌یابد و اندازه‌ی آن‌ها تقریباً دو روز قبل از غلیان LH به بیش از چهار میلی‌متر می‌رسد. فولیکول‌های بزرگ ۱۰ روز قبل از غلیان LH قابل تشخیص‌اند. همچنین آن‌ها رشد فولیکولی را در سگ‌هایی که سیکل استروس در آن‌ها با استفاده از کابرگولین و PMSG القاء شده بود بررسی کردند و گزارش نمودند که رشد فولیکولی در سگ‌هایی که سیکل استروس در آن‌ها با استفاده از کابرگولین با دوز ۵ میکروگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن تا شروع پرواستروس القاء شده بود مشابه رشد فولیکولی در سیکل استروس طبیعی است و تنها تفاوت آن باقی ماندن تعداد بیشتری فولیکول کوچک در فاز لوتئال در سیکل القاء شده با استفاده از کابرگولین در مقایسه با سیکل استروس طبیعی است. در سگ‌هایی که سیکل استروس در آن‌ها با استفاده از PMSG با دوز ۲۰ واحد به ازای هر کیلوگرم وزن بدن به مدت ۵ روز و تجویز ۵۰۰ واحد hCG در روز پنجم القاء شده بود تعداد زیادی فولیکول کوچک قبل از تخمک‌گذاری در تخمدان وجود داشت که در فاز لوتئال هم حضور داشتند (۳). در مجموع نتایج این مطالعه نشان داد که استفاده از نوار پروژسترونی مخصوصاً برای مقادیر ۵ و ۱۰ نانوگرم در میلی لیتر از حساسیت و ویژگی بالایی برخوردار است، همچنین هزینه نسبتاً مشابه با اندازه گیری پروژسترون در آزمایشگاه با روش RIA یا الایزا دارد و نکته مهم‌تر اینکه در این روش نتایج پروژسترون در همان لحظه مشخص می‌شود و به دامپزشک کمک می‌کند که جهت انجام تلقیح در همان مراجعه تصمیم بگیرد، لذا به نظر می‌رسد استفاده از نوار پروژسترونی برتری بیشتری نسبت به روش اندازه‌گیری آزمایشگاهی داشته باشد. با این وجود به دلیل تعداد کم سگ‌های مورد مطالعه در طرح

پیشنهاد می‌گردد که مطالعات تکمیلی با تعداد دام بیشتر و ترجیحاً با انجام تلقیح مصنوعی انجام گیرد.

سپاسگزاری

از همکار محترم جناب آقای سیدعلی کارگر در کلینیک دانشکده دامپزشکی مشهد که در اجرای این طرح همکاری داشتند صمیمانه سپاسگزاری می‌شود. بودجه انجام طرح از دانشگاه فردوسی مشهد و با کد ۳/۴۰۶۰۹ در تاریخ ۱۳۹۴/۱۱/۲۷ تأمین گردید.

تعارض منافع

بین نویسندگان تعارض در منافع گزارش نشده است.

References

1. Concannon, P.W., Castracane, V.D., Temple, M., Montanez, A. (2018). Endocrine control of ovarian function in dogs and other carnivores. Anim Reprod, 6(1), 172-193.
2. Concannon, P.W. (2011). Reproductive cycles of the domestic bitch. Anim Reprod Sci, 124(3-4), 200-210. https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2010.08.028
3. England, G., Russo, M., Freeman, S. (2009). Follicular dynamics, ovulation and conception rates in bitches. Reprod Domest Anim, 44(s2), 53-58. https://doi.org/10.1111/j.1439-0531.2009.01416.x
4. Ettinger, S.J., Feldman, E.C., Cote, E. (2017). Textbook of Veterinary Internal Medicine. (8th ed.) Elsevier Ltd. Missouri, USA. p. 1873-1954.
5. Gräf, K.J. (1978). Serum oestrogen, progesterone and prolactin concentrations in cyclic, pregnant and lactating beagle dogs. J Reprod Fertil, 52(1), 9-14. https://doi.org/10.1530/jrf.0.0520009
6. Hase, M., Hori, T., Kawakami, E., Tsutsui, T. (2000). Plasma LH and progesterone levels before and after ovulation and observation of ovarian follicles by ultrasonographic diagnosis system in dogs. J Vet Med Sci, 62(3), 243-248. https://doi.org/10.1292/jvms.62.243
7. Heersche Jr, G., Nebel, R.L. (1994). Measuring efficiency and accuracy of detection of estrus. J Dairy Sci, 77(9), 2754-2761. https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(94)77218-0
8. Jeffcoate, I., Lindsay, F. (1989). Ovulation detection and timing of insemination based on hormone concentrations, vaginal cytology and the endoscopic appearance of the vagina in domestic bitches. J Reprod Fertil. Supplement, 39, 277-287. PMID: 2621729
9. Johnston, S.D., Root Kustritz, M.V., Olson, P.S. (2001). Canine and Feline Theriogenology, (1st ed.) Saunders Ltd. Philadelphia, USA. p. 32-40.
10. Olson, P., Bowen, R., Behrendt, M., Olson, J., Nett, T. (1984). Concentrations of progesterone and luteinizing hormone in the serum of diestrous bitches before and after hysterectomy. Am J Vet Res, 45(1), 149-153 .
11. Pineda, M.H., Dooley, M.P. (2003). McDonald's Veterinary Endocrinology and Reproduction. (5th ed.) Iowa state press. Ames, USA. p. 475-499.

Journal of Veterinary Research
J Vet Res, Volume 75, Number 3, 2020
Original Article

Evaluation of Bovine Progesterone Semi-Quantitative Test Kit (Rapid p4) for Estimation of Blood Serum Progesterone Levels in Follicular Phase of Bitch

Nooshin Nezamdoost, Mohammad Heidarpour, Masoud Rajabioun, Pezhman Mirshokraei, Babak Khoramian

Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran

10.22059/jvr.2020.291512.2983

Received: *22 August 2020,* ***Accepted:*** *18 October 2020*

Abstract

BACKGROUND: Detection of ovulation time using progesterone measurement is important to inseminate or breeding during the optimum time.

OBJECTIVES: The aim of present study was evaluation of bovine progesterone semi-quantitative test kit for estimation of blood serum progesterone levels in bitch.

METHODS: Five healthy intact anestrus bitches were used in the present study. Dogs were treated with cabergolin until onset of proestrus. Vaginal cytology, ultrasonography and blood sampling were performed from the 7th day of proestrus until two days after ovulation. Blood serum samples were divided as follows: one part to measure progesterone level by using RIA, and the other part was investigated by bovine progesterone semi-quantitative test kit. Ovarian changes were evaluated by ultrasonography and assessment of the estrus cycle was performed by vaginal cytology examination.

RESULTS: Following Spearman analysis, significant positive correlation was observed between the semi-quantitative test kit and RIA results (r=0.916; *P*=0.00). The results of ROC and Kappa analysis suggested that the highest diagnostic accuracy of progesterone semi-quantitative test kit was observed in the blood serum progesterone levels of 2 and 5 ng/ml. The sensitivity and specificity of the used kit at the level of 5 ng/ml of progesterone were 88.5 and 93.7 %, respectively. The sensitivity and specificity of the used kit at the level of 10 ng/ml of progesterone were 82.4 and 96 % and at the level of 10 ng/ml were 82.4 and 96%, respectively. The observed scores during the late proestrus were 2-3 and just one dog showed score 4. During the estrus phase, in two dogs scores 4-5 and in three dogs scores 3-5 were revealed.

CONCLUSIONS: Bovine progesterone semi-quantitative test kit is useful for estimation of estrus cycles in bitch. Scores of 4 and 5 of semi-quantitative test kit indicate ovulation time and proper breeding time.

Keywords: Dog, Cabergolin, Vaginal cytology, Bovine progesterone semi-quantitative test kit, Insemination time

Copyright © 2020. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution- 4.0 International License which permits Share, copy and redistribution of the material in any medium or format or adapt, remix, transform, and build upon the material for any purpose, even commercially.

Corresponding author's email: Khoramian@um.ac.ir Tel/Fax: 051-38805611/051-36579105

How to cite this article:

Nezamdoost, N., Heidarpour, M., Rajabioun, M., Mirshokraei, P., Khoramian, B. (2021). Evaluation of Bovine Progesterone Semi-Quantitative Test Kit (Rapid p4) for Estimation of Blood Serum Progesterone Levels in Follicular Phase of Bitch. J Vet Res, 75(4), 519-528. https://doi.org/10.22059/jvr.2020.291512.2983

Figure Legends and Table Captions

Table1. Analysis of progesterone semi-quantitative test kit.
Table 2. Comparison of progesterone semi-quantitative test result with P4 measurement by RIA.
Table 3. Evaluation of progesterone semi-quantitative test result in different estrus cycle in bitch.
Table 4. Agreement between two tests at first cut-off (2 ng/ml).
Table 5. Agreement between two tests at 2nd cut-off (5 ng/ml).
Table 6. Agreement between two tests at 3rd cut-off (10 ng/ml).
Figure 1. Progesterone semi-quantitative test scores.
Figure 2. Roc curve for predictive value of 2 ng/ml.
Figure 3. Roc curve for predictive value of 5 ng/ml.
Figure 4. Roc curve for predictive value of 10 ng/ml.