

بررسی ورم پستان تحت بالینی گاوداری‌های سنتی شهرستان خرم آباد بر اساس شمارش سلول‌های سوماتیک شیر مخزن (BTSCC)

دکتر آرش خردمند^{۱*} و دکتر همایون بابایی^{۲*}

خلاصه

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی سطح ورم پستان تحت بالینی در میان گاوداری‌های سنتی شهر خرم‌آباد بر اساس شمارش سلول‌های سوماتیک شیر مخزن (BTSCC) بود. به همین جهت در طی پنج ماه مطالعه از اسفند ۸۳ لغایت تیرماه ۱۳۸۴، در سکوی دریافت کارخانه شیر پاستوریزه خرم آباد، ۱۷۱ نمونه شیر از تانکرهای مخصوص حمل شیر که شیر دامداران را از نقاط مختلف اطراف شهر جمع‌آوری می‌کردند، اخذ شد. بلافاصله پس از انتقال نمونه‌ها به آزمایشگاه و رنگ‌آمیزی آنها با محلول گیمسا، سلول‌های سوماتیک با ضرب کردن فاکتور کار (W.F) در تعداد سلول‌های شمارش شده محاسبه می‌شد. میانگین تعداد سلول‌های سوماتیک مخزن در ماه‌های اسفند، فروردین، اردیبهشت، خرداد و تیر به ترتیب ۱۸۴/۱±۲/۲، ۱۵۴/۱±۲/۴، ۱۶۵/۱±۲/۶، ۱۲۱/۷±۲/۶ و ۱۷۳/۴±۲/۲ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر بود. همچنین متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک در کل ماه‌های مطالعه ۱۵۹/۶±۱۰/۶ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر بدست آمد و بدلیل عدم وجود معیاری برای گاوهای شیری سنتی، یافته‌های این مطالعه با معیارهای پذیرفته شده گاوداری‌های صنعتی سنجیده شد.

بر اساس نتایج بدست آمده، متوسط BTSCC در ۱۶۴ مورد (۹۵/۹۱ درصد) کمتر از ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر یعنی کمتر از آستانه قابل قبول برای شیوع ورم پستان تحت بالینی بوده است و تنها در ۷ مورد (۴/۰۹ درصد) اندکی بیش از ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر داشته‌اند. از این مطالعه چنین نتیجه‌گیری شد که بر اساس معیارهای موجود در گاوداری‌های صنعتی، اشاعه ورم پستان تحت بالینی در بین گاوهای شیری گاوداری‌های سنتی منطقه خرم‌آباد بسیار پایین بود.

کلمات کلیدی: ورم پستان تحت بالینی، شمارش سلول‌های سوماتیک، شیر، BTSCC، خرم‌آباد

مقدمه

ورم پستان تحت بالینی افزایش تعداد سلول‌های سوماتیک (SCC) شیر می‌باشد که خود بعنوان یک معیار در ارزیابی کیفیت شیر و سلامت پستان بکار می‌رود (۱۶). به همین جهت یکی از راه‌های تشخیص ورم پستان تحت بالینی، اندازه‌گیری تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر می‌باشد. عوامل عفونی مهمترین عاملی هستند که می‌توانند تعداد سلول‌های سوماتیک در شیر را تحت تأثیر قرار دهند. در مقابل، بقیه عوامل نقش کمتری دارند (۴، ۱۱، ۱۳، ۱۴، ۱۶ و ۲۰).

در مناطقی مثل خرم‌آباد، بدلیل اینکه پرورش گاوهای شیری عمدتاً به شکل سنتی بوده و گاوداری‌های صنعتی

ورم پستان یکی از بیماری‌های عفونی مهم و شایع در گله‌های شیری است که سالیانه زیان‌های اقتصادی بالایی را به صنعت دامپروری وارد می‌کند (۵، ۱۴، ۱۹، ۲۱ و ۲۲). زیان‌های اقتصادی ناشی از این بیماری تنها به گاو بیمار باز نمی‌گردد، بلکه عمده خسارات به ورم پستان‌های تحت بالینی و کاهش تولید شیر متعاقب آن مربوط می‌شود (۱۴).

کاهش میزان تولید شیر در کارتیبه‌های مبتلا به ورم پستان تحت بالینی بین ۱۰ تا ۲۶ درصد تخمین زده می‌شود (۱۶). مهمترین اختلال در شیر گاوهای مبتلا به

*^۱ استادیار گروه علوم درمانگاهی، آموزشکده دامپزشکی دانشگاه لرستان

*^۲ استادیار گروه علوم درمانگاهی، دانشکده دامپزشکی دانشگاه شهید باهنر کرمان

شمارش سلول‌های سوماتیک

شمارش سلول‌های سوماتیک براساس تکنیک و روش توصیه شده بین‌المللی (۹) انجام شد. در ابتدا نمونه‌ها در حمام آب گرم و در دمای 35°C گرم می‌شدند. سپس آن را کاملاً مخلوط کرده و در حد دمای آزمایشگاه سرد می‌شدند. برای هر نمونه بر روی یک عدد لام تمیز، مستطیلی به ابعاد 20×5 میلی‌متر (یک سانتی‌متر مربع) ترسیم کرده و با استفاده از سمپلر، ۱۰ میکرولیتر از نمونه شیر بطور یکنواخت داخل این مستطیل بر روی لام پنخش می‌شد. پس از خشک شدن نمونه در هوای آزمایشگاه، آنرا با اتانول فیکس کرده و در رنگ گیمسا که به نسبت ۱ به ۵ با آب مقطر رقیق شده بود برای مدت ۱۵ دقیقه غوطه‌ور می‌شد. سپس رنگ‌های اضافی روی لام با جریان ملایم آب شسته شده و مجدداً در هوای آزاد خشک می‌شد.

شمارش سلول‌های سوماتیک با استفاده از میکروسکوپ انجام و به کمک فرمول زیر تعداد آنها در هر میلی‌لیتر از شیر محاسبه می‌گردید:

$$W.F.(\text{work factor}) = \frac{20 \times 100}{d \times b}$$

در این فرمول d برابر با قطر میدان دید میکروسکوپ مورد استفاده می‌باشد که این میزان 0.48 میلی‌متر بود و b تعداد باندهای شمارش شده بر روی لام می‌باشد. تعداد سلول‌های سوماتیک در هر میلی‌لیتر شیر از حاصلضرب $W.F.$ (فاکتور کار) در تعداد سلول‌هایی که در تمام باندها شمارش شده‌اند، بدست می‌آید (۹).

تجزیه و تحلیل آماری

نتایج حاصله با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS10 تجزیه و تحلیل شدند. قبل از آنالیز، داده‌ها جهت بررسی برابری واریانس‌ها با آزمون Leven ارزیابی شدند. پس از این ارزیابی، متوسط تعداد SCC در طی ماه‌های مختلف مطالعه با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA)

وجود ندارد لذا در این مناطق استفاده از روش‌های در مجاورت دام (Cow-side methods) برای تشخیص ورم پستان‌های تحت بالینی بسیار دشوار بوده و رفتن به تک تک منازل دامداران جهت اخذ نمونه شیر امکان‌پذیر نیست. به همین دلیل اطلاعاتی درباره میزان ورم پستان تحت بالینی در گاوداری‌های این منطقه وجود ندارد.

شمارش تعداد سلول‌های سوماتیک مخزن شیر (Bulk-tank somatic cell count) یک روش علمی برای ارزیابی سطح ورم پستان تحت بالینی در میان گاوهای یک گله می‌باشد (۱۴). همچنین ارتباط بسیار زیادی بین BTSCC و متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک شیر در هر گاو می‌باشد (۱۶).

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی سطح ورم پستان تحت بالینی در میان گاوداری‌های سنتی شهر خرم‌آباد براساس شمارش سلول‌های سوماتیک شیر مخزن (BTSCC) بود.

مواد و روش کار

این مطالعه بر روی شیرهای ارجاعی به کارخانه شیر باستوریزه شهر خرم‌آباد و در طی ماه‌های اسفند ۱۳۸۳ لغایت تیرماه ۱۳۸۴ انجام شد.

روش نمونه‌برداری

در طی مدت مطالعه، هفته‌ای ۲-۱ مرتبه جهت اخذ نمونه از تانکرهای حمل شیر که شیر گاوداری‌های سنتی را در نقاط مختلف شهر خرم‌آباد و حومه جمع‌آوری می‌کردند، به محل کارخانه مراجعه کرده و در مجموع تعداد ۱۷۱ نمونه شیر جمع‌آوری گردید. بلافاصله پس از تخلیه شیر، از شیر مخلوط شده هر تانکر ۵ میلی‌لیتر شیر اخذ و نمونه پس از جمع‌آوری در داخل فلاسک حاوی یخ و بدون اضافه کردن هیچ ماده نگهدارنده‌ای، بلافاصله به آزمایشگاه آموزشکده دامپزشکی منتقل می‌گردید.

مخزن در ماه‌های مختلف این مطالعه در جدول شماره ۱ خلاصه شده است.

آستانه BTSCC برای تعیین سطح سلامت یا آلودگی پستان بسیار مورد بحث بوده است. بطوریکه محققین مختلف اعداد متفاوتی را از ۱۰۰ هزار تا ۳۹۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر عنوان کرده‌اند (۱، ۲، ۳، ۷، ۸، ۱۴، ۱۶ و ۱۸). ولی تعداد ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر بیش از بقیه اعداد بعنوان آستانه مورد قبول بوده است، بطوریکه BTSCC بیش از ۲۰۰ هزار سلول در یک گله نشان دهنده وجود ورم پستان تحت بالینی در سطح گله است که باعث کاهش تولید بویژه کاهش تولید شیر می‌گردد.

مورد ارزیابی قرار گرفته و برای مقایسه وجود اختلاف بین ماه‌های مختلف، از آزمون Bonferroni استفاده شد (۱۵). داده‌ها به شکل میانگین \pm خطای استاندارد نشان داده شده‌اند و سطح معنی‌دار آنها در حد $P < 0.05$ در نظر گرفته شده است.

نتایج و بحث

تعداد سلول‌های سوماتیک شمارش شده در کل نمونه‌های شیر بین ۲۱۱-۷۹ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر متغیر بود. تنها یک نمونه ۶۷۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر داشت. متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک شیر

جدول ۱: میانگین (\pm خطای استاندارد) تعداد سلول‌های سوماتیک در ماه‌های مختلف مطالعه

جمع کل (Mean \pm S.E.M)	تیر	خرداد	اردیبهشت	فروردین	اسفند	
۱۷۱	۳۷	۴۵	۳۸	۳۰	۲۱	تعداد نمونه‌ها
۱۰۰	۲۱/۲۶	۲۶/۳۱	۲۲/۲۲	۱۷/۵۴	۱۲/۲۸	درصد
۱۵۹/۶ \pm ۱۰/۶	۱۷۳/۴ \pm ۲/۲ ^{abc}	۱۲۱/۷ \pm ۲/۶ ^{hcc}	۱۶۵/۱ \pm ۲/۶ ^{abcd}	۱۵۴/۱ \pm ۲/۴ ^{bc}	۱۸۴/۱ \pm ۲/۲ ^{abc}	SCC ($\times 10^3$)
(۷۹-۲۱۱)	(۱۵۱-۲۰۶)	(۷۹-۱۵۲)	(۱۳۲-۲۱۱)	(۱۲۴-۱۷۵)	(۱۶۲-۱۹۸)	دامنه (هزار)

میانگین‌های با حروف متفاوت (a, b, c, d, e) در هر ریف با یکدیگر تفاوت معنی‌دار دارند ($P < 0.01$).

حاضر با همین هدف یعنی تعمیم و اعمال این روش در مخازن شیر گاوداری‌های سنتی صورت گرفت.

در مطالعه حاضر، متوسط تعداد سلول‌های سوماتیک در طول مدت مطالعه ۱۵۹/۶ \pm ۱۰/۶ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر بود که کمتر از حد آستانه آغاز آلودگی و عفونت در پستان می‌باشد و این موضوع نشان می‌دهد که میزان ورم پستان تحت بالینی در میان گاوداری‌های سنتی شهر خرم‌آباد پایین است. بیشترین و کمترین میانگین SCC بترتیب مربوط به ماه‌های اسفند و خرداد بود (جدول ۱). همچنین اختلاف معنی‌داری در میانگین تعداد SCC بین ماه‌های اسفند، فروردین، اردیبهشت و خرداد مشاهده شد ($P < 0.01$). ولی تفاوت بین ماه‌های اسفند و اردیبهشت با ماه تیر معنی‌دار نبود ($P > 0.05$).

در بیشتر نمونه‌ها، تعداد سلول‌های سوماتیک شیر کمتر از ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر بود که این آستانه نشان دهنده سلامت پستان و شیر می‌باشد. در ۷ نمونه شیر تعداد سلول‌های سوماتیک اندکی بیش از ۲۰۰ هزار بود (حداکثر تا ۲۱۱ هزار سلول در هر میلی‌لیتر).

اساساً روش BTSCC و استاندارد ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر شیر مخزن در گاوداری‌های صنعتی مطالعه و بکارگیری آن برای همین نوع گاوداری‌ها توصیه شده و همانطور که اشاره شد در حال حاضر مورد استفاده قرار می‌گیرد. در خصوص بررسی ورم پستان تحت بالینی گاوهای سنتی، دستورالعمل، روش و یا استاندارد ویژه‌ای برای این نوع گاوداری‌ها معرفی نشده است. مطالعه

کمتر از حدی باشد که با روش‌های معمول قابل شناسایی باشند. همچنین ممکن است عامل پاتوژن توسط سیستم دفاعی گاو حذف شده باشد اما SCC بدلیل کامل نشدن فرآیند ترمیم بافتی همچنان بالا باشد، اگرچه نباید احتمال حضور پاتوژن‌های غیر معمول همچون مایکوپلاسما را نادیده گرفت. در ضمن در موارد بالینی ورم پستان ناشی از ارگانسیم‌های محیطی، یافتن نتایج منفی کشت باکتریایی معمول می‌باشد (۶ و ۱۲). به همین جهت آزمایشات باکتریولوژیک جهت تشخیص ورم پستان ضروری نیست. بلکه تنها جهت کنترل و درمان ورم پستان (چه بالینی و چه تحت بالینی) کشت نمونه و آنتی‌بیوگرام ضروری است و چون در مطالعه حاضر درمان ورم پستان مطرح نبوده، لذا کشت باکتریولوژیک نیز انجام نشد.

از طرف دیگر پاسخ سلولی به عفونت بسا عوامل غیر معمول باکتریایی نظیر استافیلوکوک‌های کوآگولاز منفی به اندازه پاسخ سلولی به عوامل مهم و اصلی باکتریایی نیست (۱۶ و ۱۷). در نتیجه این موضوع قابل انتظار است که میزان و شیوع ورم پستان تحت بالینی در ماه‌های مختلف این مطالعه احتمالاً بیشتر باشد. اگرچه تحقیقات و مطالعات کاملتر باکتریولوژیک در این زمینه ضروری بنظر می‌رسد.

نتایج مطالعه حاضر نشان می‌دهد که متوسط BTSCC در طول مدت مطالعه کمتر از حد آستانه قابل قبول برای آغاز و شیوع آلودگی پستان بوده و لذا میزان ورم پستان تحت بالینی در میان گاوهای شیری شهر خرم‌آباد در طی زمان این مطالعه پایین بود.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله مؤلفین مقاله از معاونت محترم پژوهشی دانشگاه لرستان جهت تامین هزینه انجام این طرح تحقیقاتی تشکر و قدردانی می‌نمایند.

اگر استاندارد ۲۰۰ هزار سلول را نیز برای گاوهای سنتی مبنا قرار دهیم، نتایج این بررسی نشان داد که ۷ مورد (۴/۰۹ درصد) از شیر تانک‌های نمونه‌برداری شده، تعدادی بیش از ۲۰۰ هزار سلول در هر میلی‌لیتر داشته‌اند. این یافته می‌تواند گویای این حقیقت باشد که گاوهایی که شیر آنها در این مخازن جمع‌آوری گردیدند به نوعی درگیر ورم پستان تحت بالینی بوده‌اند. وجود نوسانات قابل توجه از لحاظ آماری در مخازن مختلف، پایین بودن سلول در بین حدود ۹۶ درصد نمونه‌ها و بالا بودن سلول در ۴/۰۹ درصد موارد همگی حاکی از این هستند که روش BTSCC را نیز می‌توان در گاوهای سنتی بکار برد. ولی شاید ضروری باشد عدد استاندارد برای گاوهای سنتی بدست آید.

اگرچه آماده‌سازی نمونه‌های شیر بر روی لام و شمارش دستی تعداد سلول‌های سوماتیک وقت‌گیر است، ولی برای شمارش SCC در داخل شیر بسیار قابل اعتمادتر از روش شمارش الکترونیکی با استفاده از کولتر کاتر است (۹).

ورم پستان‌های محیطی در طی فصل زمستان بیش از فصول دیگر رایج می‌باشند و این در حالی است که این نوع ورم پستان تأثیر کمی بر افزایش SCC در شیر دارد (۳، ۱۶ و ۱۷). تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که متوسط تعداد SCC در اسفند ماه بطور معنی‌داری بالاتر از دیگر ماه‌ها بود و بدلیل فراوانی بیشتر ورم پستان‌های محیطی در طی فصل زمستان، احتمال داده می‌شود که میزان ورم پستان تحت بالینی بویژه توسط استرپتوکوک‌های محیطی در این ماه بیشتر از ماه‌های دیگر باشد.

از حدود ۳۵-۳۰ درصد نمونه‌های شیری که از موارد بالینی و یا از کارته‌های با SCC بالا اخذ می‌شوند، هیچ میکروارگانسمی جدا نمی‌شود. در برخی از انواع عفونت‌ها بخصوص عفونت‌های کلیفرمی مزمن، ممکن است تعداد باکتری‌های موجود در نمونه‌های شیر بسیار

منابع

- 1- Badinand, F. (1994). Control of cell in milk. *Recueil-de-Medicine-Veterinaire*, 170: 419-427.
- 2- Barkema, H.W.; Van Der Ploeg, J.D.; Schukken, Y.H.; Lam, T.J.G.M.; Benedictus, G. and Brand, A. (1999). Management style and its association with bulk milk somatic cell and incidence rate of clinical mastitis. *Journal of Dairy Science*, 82: 1655-1663.
- 3- Blowey, R. and Edmondson, P. (1995). *Mastitis control in dairy herds*. Miller Freeman Professional, First edition, Philadelphia, pp: 119-139.
- 4- Brant, M.C. and Figueiredo, J.B. (1994). Incidence of subclinical mastitis and milk production losses in dairy cows. *Argvivo-Brasileiro-de-Medicina-Veterinaria-e-Zootenoia*. 46(6): 595-606.
- 5- Degraives, F. and Fetrow, J. (1993). Economics of mastitis and mastitis control. *Veterinary Clinics of North America, Food Animal Practice*, 9: 421-434.
- 6- Erskine, R.J. (2001). Mastitis control in dairy herds. In: Radostits, O.M.: *Herd Health, Food Animal Production Medicine*. 3th ed., Philadelphia, USA, pp: 398-427.
- 7- Hanus, O.; gajdusek, S. and Beber, K. (1995). Composition and technological properties of milk from dairy cows in the middle stage of lactation and their interrelationships. *Zivocisan-Vyroba*, 40(12): 555-561.
- 8- Hillerton, J.E. (1999). Redefinition mastitis based on somatic cell count. *Bulletin-FI-IDF*, 346:4-6.
- 9- International Dairy Federation. (1995). Enumeration of somatic cells in milk. *IDF Standard Doc.*, No. 148A, Brussels, Belgium, pp: 21-44.
- 10- Lee, S.J. and Chen-Hn, H.T. (1993). Studies of the relationship between milk somatic cell count, milking machine function and hygiene. *Journal of Chinese Society of Animal Science*, 22: 87-95.
- 11- Miller, R.H. and Pappé, M.J. (1985). Relationship between milk somatic cell count and milk yield. *Proceeding Natural Mastitis Council*, p: 60.
- 12- National Mastitis Council. (1996). *Current concepts of bovine mastitis*. 4th ed. Madison. USA: 37-55.
- 13- Oliszewski, R.; Nunez de Kairuz, M.S.; Gonzalez de Elias, S.N. and Oliver, G. (2002). β -glucuronidase levels as mastitis diagnosis method in goat milk, comparison with other methods. *Journal of Food Protection*, 65(5): 864-866.
- 14- Ott, S.L. and Novak, P.R. (2001). Association of herd productivity and bulk-tank somatic cell counts in US dairy herds in 1996. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 218(8): 1325-1330.
- 15- Petrie, A. and Watson, P. (1999). *Statistics for veterinary and animal science*. 1st ed., Blackwell Science, pp: 93-100.
- 16- Radostits, O.M.; Gay, C.C.; Blood, D.C. and Hinchcliff, K.W. (2000). *Veterinary Medicine*. 9th edition, W. B. Saunders, pp: 601-685.
- 17- Reneau, J.K. (1986). Effective use of dairy herd improvement somatic cell counts in mastitis control. *Journal of Dairy Science*, 69: 1708-1720.
- 18- Rice, D.N. and Bodman, G.R. (1997). The somatic cell count and milk quality. File G-19, Pubse Education, University of Nebraska, Lincoln.
- 19- Sargeant, J.M.; Leslie, K.E.; Shirley, J.E.; Pulkrabek, B.J. and Lim, G.H. (2001). Sensitivity and specificity of somatic cell count and California mastitis test for identifying intramammary infection in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 84: 2018-2024.
- 20- Schultz, L.H. (1977). Somatic cell counting of milk in production testing programs as a mastitis control technique. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 170: 1244.
- 21- Tyler, J.W.; Wilson, R.C. and Bowling, P. (1992). Treatment of subclinical mastitis. *Vet. Clin. N. Am.*, *Food Animal Practice*, 8(1): 17-28.
- 22- Wenz, J.R.; Barrington, G.M.; Garry, F.B.; Dinsmore, R.P. and Callan, R.J. (2001). Use of systemic disease signs to assess disease severity in dairy cows with acute coliform mastitis. *Journal of American Veterinary Medical Association*, 218(4): 567-572.

Evaluation of subclinical mastitis among traditional dairy husbandries based on BTSCC in Khorram-Abad, Iran

Kheadmand, A.^{1} and Babaei, H.^{2*}*

Abstract

The aim of this investigation was to assess the subclinical mastitis rate based on bulk-tank somatic cell count (BTSCC) among traditional dairy herds in Khorram-Abad in Iran. For this purpose, over a period of five months during March to July 2005, a total of 171 milk samples were taken from the milk vehicles that had been collected the farmers' milk production from the different areas of Khorram-Abad suburbs. Samples were carried to the laboratory and stained with Gimsa solution. The number of somatic cells was calculated by multiplication of work factor in the number of cells (at least 400 cells) which were calculated along the bands. The mean of SCC on March, April, May, June and July were 184.1 ± 2.2 , 154.1 ± 2.4 , 165.1 ± 2.6 , 121.7 ± 2.6 and $173.4 \pm 2.2 \times 10^3$ cells/ml, respectively. The overall mean of SCC was $159.6 \pm 10.6 \times 10^3$ cells/ml.

The results of this study showed that the mean of BTSCC in 164 (95.91 %) cases had less than 2×10^5 cells/ml and 7 (4.09%) were above the standard threshold for subclinical mastitis. It was concluded that subclinical mastitis rate was low during the study among Khorram-Abad dairy cattle.

Key words: Subclinical mastitis; Somatic Cell Count; Milk; BTSCC, Khorram-Abad, Iran

^{1*} Assistant Professor of Theriogenology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lorestan, Khorram-Abad, Iran

^{2*} Assistant Professor of Theriogenology, Department of Clinical Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, Shahid Bahonar University of Kerman, Iran