



Review
(Derleme)



J. Anim. Prod., 2019, 60 (2): 171-179

DOI: 10.29185/hayuretim.458620

Mehmet AKKÖSE¹  0000-0001-7517-4927
Çiğdem ÇEBİ ŞEN²  0000-0001-6876-2069

¹ Tarım İşletmeleri Genel Müdürlüğü, Ceylanpınar Tarım İşletmesi, Şanlıurfa

² Harran Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama AD, Şanlıurfa

Corresponding author: akkosem2012@gmail.com

Sütçü Sığırlarda Erken Gebelik Tanısı

Early Pregnancy Diagnosis in Dairy Cattle

Alınış (Received): 10.09.2018

Kabul tarihi (Accepted): 26.08.2019

Anahtar Kelimeler:

Erken gebelik tanısı, PAG, Rektal palpasyon, Ultrasonografi.

Keywords:

Early pregnancy diagnosis, PAG, rectal palpation, ultrasonography.

ÖZ

Sütçü sığırlarda erken gebelik tanısı reproduktif yönetim açısından oldukça önemlidir. Erken gebelik tanısı, gebe olmayan hayvanların zamanında tedavi edilmeleri ve yeniden tohumlanmaları yoluyla buzağılama aralığındaki uzamayı engeller. Suni tohumlamadan sonraki 18 – 24 günler arasında östrusa gelme, gebe olmayan hayvanların tespit edilmesindeki en kolay yöntemdir. Rektal palpasyon ve transrektal ultrasonografi erken gebelik tanısı amacıyla en sık kullanılan klinik yöntemlerdir. Progesteron veya gebelik ile ilişkili glikoproteinlerin tespiti esasına dayanan gebelik testleri de erken gebelik tanısı amacıyla sıklıkla kullanılan laboratuvar yöntemleridir. Süt sığırlarında erken gebelik teşhisine yönelik yeni bir yaklaşım sağım sırasında, sağım sistemine yerleştirilmiş bir cihaz tarafından sütte bulunan gebeliğe özgü maddelerle gebeliklerin ve embriyo canlılığının izlenmesidir. Bu yazıda sütçü sığırlarda kullanılan erken gebelik tanı yöntemleri ve gebelik tanısı alanındaki gelişmeler hakkında bilgiler derlenmiştir.

ABSTRACT

Early pregnancy diagnosis is an important criterion for better reproductive management in dairy cattle. Early pregnancy diagnosis allows shortening the calving interval through timely treatment and rebreeding of the non-pregnant animal. Return to estrus from 18 to 24 days after artificial insemination is the easiest method for determining nonpregnancy in dairy cattle. Rectal palpation and transrectal ultrasonography are the most frequently used clinical methods for early pregnancy diagnosis. Pregnancy tests based on the detection of progesterone or pregnancy associated glycoproteins are also the most commonly used laboratory methods for early pregnancy diagnosis. A novel approach to early pregnancy diagnosis in dairy cattle is to follow-up of pregnancies and of embryo viability with pregnancy specific substances secreted sufficient quantities in milk to be detected by an inline milk-sensing device during normal milking. This paper reviews early pregnancy diagnostic methods used in dairy cattle and advances in pregnancy diagnosis.

GİRİŞ

Sütçü sığırlarda erken ve kesin gebelik tanısı koymak, reproduktif yönetim açısından önemli bir kriterdir (Balhara ve ark., 2013; Alaçam, 2015). Gebelik kontrolünün asıl amacı gebe hayvanları tespit etmekten ziyade, gebe olmayan hayvanları doğru bir şekilde tespit etmektir (Youngquist, 2006; Fricke, 2011; Fricke ve ark., 2015). Erken gebelik tanısı ile gebe kalmayan hayvanlar erkenden tespit edilerek tekrar tohumlamaya hazırlanır ve buzağılama aralığı kısaltılabilir. Buzağılama aralığının ideal ve kabul edilebilen standartlardan sapmasının önemli ekonomik kayıplara yol açtığı belirtilmektedir (Kumuk

ve ark., 1999). Buzağılama aralığının kısaltılmasıyla gebe olmayan hayvanların uzun süre laktasyonda tutulmaları önlenir, sığırlardan yaşamları boyunca alınacak buzağı sayısı artar ve işletmelerdeki en önemli ekonomik girdiyi oluşturan besleme maliyetleri azaltılabilir. Böylece erken gebelik tanısı işletmede verimliliğin ve ekonomik kazancın artırılmasına katkı sağlar. Sunulan derlemede ideal bir gebelik testinin özellikleri, sütçü sığırlarda kullanılan çeşitli erken gebelik tanı yöntemleri (görsel, klinik ve laboratuvar yöntemleri) ve gebelik tanısı alanındaki yeni gelişmeler hakkında bilgiler verilmiştir.



İdeal Bir Gebelik Testinin Özellikleri

İdeal bir gebelik testi, yüksek sensitivite ve spesifiteye sahip olmalı, ucuz olmalı, saha koşullarında kolayca uygulanabilmeli ve gebelik durumunu testin uygulandığı anda ortaya koymalıdır. Gebelik tanı yöntemlerinin birçoğu bu özelliklerin bir veya daha fazlasına sahiptir, ancak halen tüm özelliklere sahip bir gebelik tanı yöntemi bulunmamaktadır (Fricke ve ark., 2016). Ayrıca ideal bir gebelik testinin, tohumlamayı izleyen ilk östrüstan önce gebelik durumunu doğru bir şekilde ortaya koyması istenir. Ancak erken gebelik tanısına yönelik geliştirilen birçok test suni tohumlamayı izleyen 25-40 gün arasında gebelik tanısı koyabilmektedir (Youngquist, 2007).

Gebeliklerin daha erken tanısı hataları da beraberinde getirir. Bir gebelik testinin güvenilirliği testin sensitivitesi, spesifitesi, pozitif prediktif değeri, negatif prediktif değeri ve doğruluk oranı referans (altın standart) bir teste göre, hesaplanarak belirlenir (Çizelge 1).

- Sensitivite: Gerçekte gebe olan hayvanların gebe olarak teşhis edilme olasılığıdır.
- Spesifite: Gerçekte boş olan hayvanların boş olarak teşhis edilme olasılığıdır.
- Pozitif prediktif değer: Testin gebe olarak belirlediği hayvanların gerçekten gebe olma olasılığıdır.
- Negatif prediktif değer: Testin boş olarak belirlediği hayvanların gerçekten boş olma olasılığıdır (Broaddus ve de Vries, 2005).

Çizelge 1. Gebelik tanı testlerinde sensitivite, spesifite, pozitif prediktif değer ve negatif prediktif değer örnek hesaplanması (Broaddus ve de Vries, 2005).

Table 1. Calculation and example of sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value in tests used for pregnancy diagnosis

	Gebelik Testinin Tanısı			
	Boş	Gebe		
Gerçek Gebelik Durumu	Boş	A=40	B=5	A+B=45
	Gebe	C=1	D=54	C+D=55
		A+C=41	B+D=59	A+B+C+D=100

A: Gerçekte boş olan hayvanların içinde gebelik testinin boş olarak belirlediği hayvanların sayısı.

B: Gerçekte boş olan hayvanların içinde gebelik testinin gebe olarak belirlediği hayvanların sayısı.

C: Gerçekte gebe olan hayvanların içinde gebelik testinin boş olarak belirlediği hayvanların sayısı.

D: Gerçekte gebe olan hayvanların içinde gebelik testinin gebe olarak belirlediği hayvanların sayısı.

Sensitivite: $D/(C+D) \times 100$, $54/55 \times 100=98,2$;

Spesifite: $A/(A+B) \times 100$, $40/45 \times 100=88,9$;

Pozitif Prediktif Değer: $D/(B+D) \times 100$, $54/59 \times 100=91,5$;

Negatif Prediktif Değer: $A/(A+C) \times 100$, $40/41 \times 100=97,6$; Doğruluk Oranı: $(A+D)/(A+B+C+D) \times 100$, $94/100 \times 100=94$

Görsel Gebelik Tanı Yöntemleri

Tohumlanan hayvanların bir sonraki siklusta (suni tohumlamadan 18 – 24 gün sonra) tekrar kızgınlık göstermesi gebe olmayan hayvanların tespit edilmesindeki en ucuz ve kolay yöntemdir. Genellikle aile tipi işletmelerde yetiştiriciler tarafından gebe ve gebe olmayan hayvanların ayırımında başvurulan ilk yöntemdir. Ancak görsel gebelik tanı yöntemlerinin doğruluk oranları düşüktür. Bu nedenle bu yöntemler diğer gebelik tanı yöntemleri ile desteklenmelidir (Bekele ve ark., 2016; Fricke ve ark., 2016)

Gebelik Tanısında Kullanılan Klinik Yöntemler

Rektal palpasyon

Rektal palpasyon (RP), sütçü sığırlarda en yaygın kullanılan ve en ucuz gebelik tanı yöntemidir. Veteriner Hekimin tecrübesine ve gebelik kontrolü yapılacak hayvanın yaşı ve büyüklüğüne göre RP ile gebeliğin yaklaşık 30'uncu gününden sonra gebelik tanısı konulabilir (Youngquist, 2006). Amniyon kesesinin palpasyonu, yavru zarlarının kayması, plasentomların palpasyonu ve fetusun palpasyonu RP ile gebelik tanısında esas bulgulardır. Bunun yanında kornularda asimetri, fluktuasyon, uterus arterinde hipertrofi, fremitus denilen gebeliğe özel bir nabız hissedilmesi ve genellikle gebeliğin şekillendiği kornu tarafındaki ovarium üzerinde bulunan gebelik korpus luteumunun palpasyonu ise gebeliğin yardımcı bulgularıdır. RP ile erken gebelik teşhisinde asimetrik ve fluktuan kornuda amniyon kesesinin palpasyonu veya koryoallantoik membranın (fetal membran) başparmak ile işaret parmağı arasında kaydırılması ile gebelik doğrulanır (Balhara ve ark., 2013). Gebe kornudaki fetal membranların kayması gebeliğin yaklaşık 35'inci gününde tespit edilebilir. Plasentomların ve fetusun palpasyonunun ise erken gebelik teşhisinde pratik bir önemi olmayıp, fetusun palpasyonu gebeliğin ikinci ayından sonra, plasentomların palpasyonu ise gebeliğin 75-80'inci günlerinde mümkündür (Youngquist, 2007).

RP ile erken gebelik tanısının en önemli riski iatrojenik embriyonik mortalitedir (Balhara ve ark., 2013). Ayrıca gebeliğin 40'inci gününden önce amniyon kesesinin palpasyonunun atreziya koliye (kalınbağırsakların doğuştan gelişmemiş veya tıkalı durumda olması) neden olabileceği belirtilmektedir (Ducharme ve ark., 1990). Buna karşın Romano ve ark. (2007), RP tekniği ile fetal membran kaymasının nazikçe kontrol edilmesinin embriyo/fetus canlılığını etkilemediğini belirtmektedir. Yine de tecrübesiz kişilerce ve kaba bir teknikle yapılan muayenelerde embriyonik ölümlerin şekillenebileceği unutulmamalıdır.

Ultrasonografi

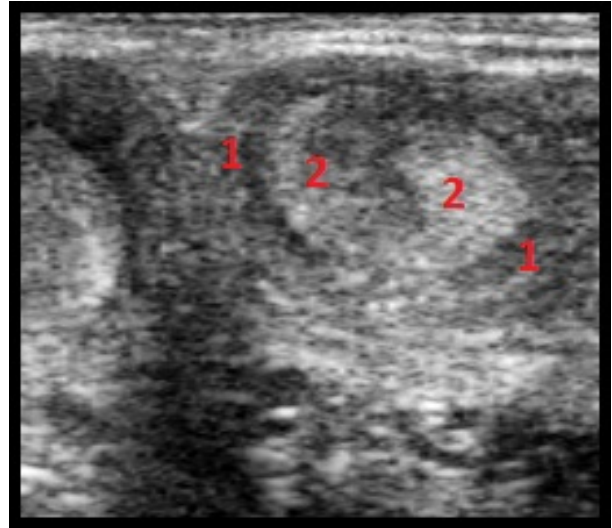
Veteriner sahada ultrasonografi (USG) 1980'li yıllardan itibaren kullanılmaya başlamış ve reproduktif alanda en sık kullanılan tanı yöntemlerinden biri haline gelmiştir. Sığırlarda USG ile suni tohumlamadan sonraki 19 – 24'üncü günden itibaren hızlı ve doğru bir gebelik tanısı konabilir. USG'nin önemli bir avantajı invaziv olmaması yani hayvanların reproduktif fizyolojilerini etkilemeden ve embriyo/fetus üzerinde herhangi bir yan etki oluşturmadan reproduktif kanalın tekrarlayan muayenelerine izin vermesidir. USG erken gebelik tanısı yanında, fetal cinsiyetin belirlenmesi, fetal yaş tayini, ikiz gebeliklerin tespit edilmesi, embriyo ve fetusun canlılığının belirlenmesi ve genital kanal patolojilerinin belirlenmesine de olanak tanır (Fricke, 2002; Colloton, 2011). Ayrıca senkronizasyon protokolleri ve embriyo transferi uygulamaları için östrus siklusunun aşaması belirlenebilir (Colloton, 2011).

Ultrasonografik muayene amacıyla, hayvanlarda kullanılmak üzere farklı frekanslarda geliştirilen problar bulunmaktadır. Bunlardan en sık kullanılanları 5-MHz ve 7,5MHz gücündeki rektal (Linear) problardır. Uygulamada probun frekansı uygulama amacına ve gözlenen dokunun proba olan uzaklığına göre seçilmelidir. Düşük frekanslı problar ile daha derin dokular görüntülenebilmekte ancak görüntü kalitesi kötü olmaktadır. Yüksek frekanslı problarda ise görüntü kalitesi daha iyi olmakla birlikte sadece yakın dokular görüntülenebilmektedir (Dinç, 2008).

Sığır reproduktif organlarının ultrasonografik muayenesi genellikle transrektal yolla yapılır (Fricke, 2002). USG öncesinde rektumda bulunan dışkı temizlenir ve genital organların konumu belirlenir. Probon görüntü alan yüzeyine jel dökülür, prob avuç içerisinde olacak şekilde rektuma giriş yapılır ve muayene edilecek bölgeye gelindiğinde proba biraz baskı yapılarak rektum mukozası ile probun görüntü alan yüzeyi arasında boşluk kalmayacak şekilde temas alanı sağlanır. Prop reproduktif kanal üzerinde yavaşça hareket ettirilerek farklı kesitlerde (longitudinal, transversal, çapraz) görüntüler alınır. Rektum içinde prop baş, orta ve işaret parmaklarıyla yönlendirilmeli diğer parmaklar dokuyu sabitlemede kullanılmalıdır. USG'nin mümkün olduğu kadar loş bir ortamda yapılması, ultrason ekranındaki görüntüleri değerlendirmede kolaylık sağlaması açısından önemlidir (Vural ve ark., 2012).

Gebe olmayan uterusu anekojen (siyah) alan görülmez (Şekil 1). Tohumlamadan sonraki 11'inci

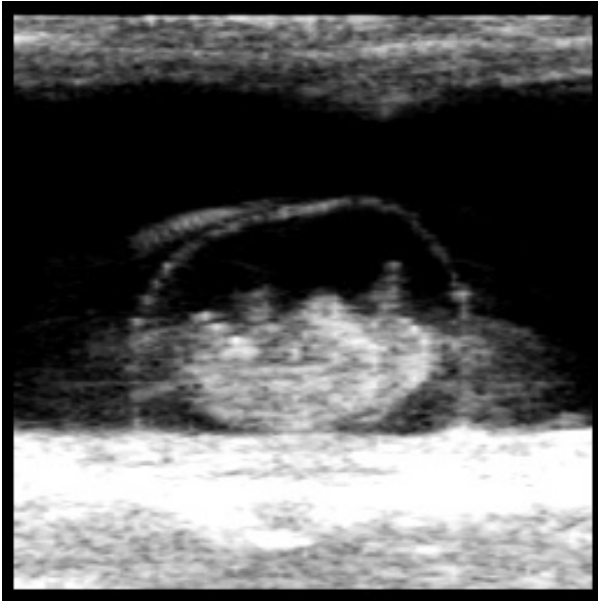
günden itibaren gebe ineklerde, korpus luteumun bulunduğu kornuda 2-3 mm çapında anekojen bir kesenin (gebelik kesesi-embriyonik vezikül) tespit edilebileceği belirtilmektedir. Gebelik kesesi gebeliğin 25'inci gününde 5-7 mm, 30'uncu gününde 10 mm, 35'inci gününde de 18-20 mm çapa ulaşır (Dinç, 2008; DesCôteaux ve ark., 2010).



Şekil 1. Gebe olmayan uterusun transversal kesiti (1: miyometriyum, 2:endometriyum)

Figure 1. Transversal section of nonpregnant uterus horn (myometrium, 2:endometrium)

Amniyon kesesi, gebeliğin 19'uncu gününden başlamak üzere, çok ince hiperekojen bir yapı olarak görülebilir. Embriyo, gebelik kesesi içinde en erken 20-22 (19-24) günler arasında belirgin ekojen bir yapı olarak görülmeye başlar ancak gebeliğin 25'inci gününden önce bütün hayvanlarda görülmeyebilir. USG'nin sensitivitesi ST'dan sonraki 26'ncı günden önce %50'den düşük olmasına rağmen; 26'ncı günden sonra %95'ten daha fazla ve 29'uncu günden sonra hemen hemen %100'dür (Fricke, 2002; DesCôteaux ve ark., 2010). Gebelik kesesinin görülmesi gebeliğin önemli bir ultrases bulgusu olmakla birlikte uterus içinde bulunan mukus ile gebelik kesesinin karıştırılması da mümkündür. Bu nedenle USG ile gebelik tanısı tohumlamayı izleyen 4'üncü hafta sonunda, gebelik kesesi içinde amniyon kesesi veya embriyonun (Şekil 2) da görülmesi ile yapılmalıdır (Dinç, 2008). Ayrıca embriyonun canlılığı, kalp atımları kontrol edilerek belirlenmelidir. Çizelge 2'de sığırlarda erken gebelik tanısında ultrasonografik muayene bulguları verilmiştir.



Şekil 2. İneklerde gebeliğin 35'inci gününde embriyo ve amniyon kesesinin ultrasonografik görünümü

Figure 2. The ultrasonographic appearance of embryo and amniotic sac on the 35th day of pregnancy in cows.

Çizelge 2. İneklerde gebeliğin 20-60 günleri arasında ultrasonografik muayene bulguları (Curan ve ark., 1986; Vural ve ark., 2012).

Table 2. The ultrasonographic examination findings between 20 – 60 days of pregnancy in cows.

Gebelik günleri	Ultrases Bulguları
20-24. Günler	Embriyonik kese 6 mm genişliğindedir 20-21 günlerde embriyo, embriyonik kesenin dorsal kesitinde ve 3 mm uzunluğunda ekojenik düz bir hat şeklinde gözlenir Embriyo 24'üncü günde "C" harfi şeklinde görülür Kalp atımı gözlenir
25-27. Günler	Embriyo, kese içinde dorsoventral yöne yer değiştirir Ön ayak tomurukları belirlenir
29-31. Günler	Embriyo 12-14 mm uzunluğundadır Amniyon kesesi belirginleşir
32-34. Günler	Arka ayak tomurukları belirginleşir Embriyo kese içinde ventrolateral pozisyon alır Embriyo "L" harfine benzer forma dönüşür
38-40. Günler	Embriyo 21 mm uzunluğundadır Baş, boyun ve abdomen belirginleşir, optik çukurluk gözlenir Göbek kordonu görüntülenir
41-45. Günler	Embriyo kese içinde sagittal pozisyonunda yer alır (25mm) Embriyoda tırnak yapısı netleşir
46-60. Günler	Fetusun kemiksel çatısı ve göbek kordonu belirgin görüntü verir

Gebelik Tanısında Kullanılan Laboratuvar Yöntemleri

Progesteron

Progesteron pubertastan sonra her östrus siklusunun belirli dönemlerinde salınan ve gebeliğin devamı için gerekli olan bir dişi steroid hormondur.

Progesteron korpus luteum tarafından üretilir ve kana salınır. Kan ve süt progesteron düzeyi fonksiyonel bir korpus luteumun güvenilir bir göstergesidir. Progesteron düzeyleri gebe olmayan hayvanlarda 1 ng/ml'nin altında iken; gebelerde 2-11 ng/ml arasında değiştiği belirtilmektedir (Alaşam, 2015). Progesteron ölçümü, çiftlik hayvanlarında gebe kalmayan hayvanları saha şartlarında en erken tespit edilebilen gebelik tanı yöntemidir (Balhara ve ark., 2013; Fricke ve ark., 2015).

Süt, serum veya plazmada progesteron ölçümü kalitatif (renk esasına dayalı) ve kantitatif (miktar esasına dayalı) yöntemlerle belirlenir (Vural ve ark., 2012). Her iki yöntemin de doğruluk oranları benzer olup sahaya yönelik geliştirilen (kalitatif) test kitlerinin gebe kalmayan hayvanları bulmada oldukça etkili olduğu belirtilmektedir (Alaşam ve ark., 1987; Dionysius, 1991; İzgür ve ark., 1995).

Sütçü sığırlarda östrus siklusunun 21 veya 22'nci günlerinde (18-24 günler arası) gebe kalmayan hayvanlar tespit edilebilir (Zaied ve ark., 1979; Dionysius, 1991; İzgür ve ark., 1995; Alaşam, 2015). Östrus siklusu dikkate alınarak tohumlamadan sonraki ikinci östrus zamanında da progesteron düzeyi ölçülerek gebe kalmayan hayvanların yaklaşık % 100 doğrulukla belirlenebileceği belirtilmiştir (Şekerden ve ark. 2009).

Süt progesteron testlerinde hatalı negatif sonuçların sebepleri, hayvanın kayıt hataları, süt örneğinin saklanmasıdaki aksaklıklar, süt örneğinin yeterince karıştırılmaması sonucu süt yağı düzeyinin düşük olması ve korpus luteumun yeterince progesteron üretmemesi gibi nedenlerdir. Hatalı pozitif sonuçlar ise kızgınlık siklusunun kısa olması, tohumlama sonrası 16'ncı günden itibaren embriyonik ölüm şekillenmesi, korpus luteumun yaşam süresinin uzamasına neden olan patolojiler (luteal kistler, hidrometra, mukometra vb.) ve tohumlamanın yanlış dönemde yapılması gibi nedenlerle şekillenir (Vural ve ark., 2012).

Östron sülfat

Östron sülfat plesentanın fetal/kotilodonar bölümü tarafından üretilen ve konjuge edilen gebelikle ilişkili bir hormondur (Hoffman ve ark., 1979). Östron sülfat fetal sıvılarda ve maternal plazmada en fazla bulunan östrojen türüdür (Robertson ve King, 1979). Plazma östron sülfat düzeyi plasenta fonksiyonunun ve bununla ilişkili olarak da fetal gelişimin iyi bir göstergesidir (Hirako ve ark., 2002). Ancak plazma, süt veya idrarda östron sülfat ölçümü erken gebelik tanısına olanak tanıyan bir gebelik tanı yöntemi



değildir. Östron sülfat ölçümü ile gebelik tanısı sığırlarda gebeliğin 100'üncü gününden sonra yapılabilir (Youngquist, 2007).

Erken gebelik faktörü (EGF)

Erken gebelik faktörü, gebelik ile ilişkili ve immunsupresif bir proteindir (Morton ve ark., 1976; Ohnuma ve ark., 1996). Fertilizasyondan sonraki 6-24 saat içinde gebe dişilerin serumunda tespit edilebilir ve embriyo ölümü veya embriyonun uterustan uzaklaştırılmasından 24-48 saat sonra da ortadan kalkar (Balhara ve ark., 2013). EGF embriyo canlılığının güvenilir bir indikatörüdür (Sakonju ve ark., 1993). EGF ilk olarak Morton ve ark. (1974) tarafından, gebe farelerde tespit edilmiştir. EGF'nin insan (Smart ve ark., 1982; Zhihai ve Zhen-Qun 1987), koyun (Morton ve ark., 1979; Wilson ve ark., 1983), sığır (Nancarrow ve ark., 1981), domuz (Grewal ve ark., 1985), kısrak (Ohnuma ve ark., 1996) ve bazı yaban hayvanlarını (Lash ve ark., 1997; Cruz ve ark., 2001) kapsayan birçok gebe memelinin serumlarında bulunduğunu belirten çalışmalar mevcuttur. EGF'nin EGF-A ve EGF-B olmak üzere iki bileşeni bulunmaktadır. EGF-A oviduktan salınırken, EGF-B ovaryumdan salınır. EGF-B üretimi fertilize ovumdan gelecek bir sinyale (ovum faktörüne) bağlıdır (Youngquist, 2006). EGF immunmodülatör etkili bir proteindir. Anne tarafından antijen olarak algılanan embriyoyu, maternal immun yanıtı baskılayarak korumaya yardımcı olur (Gandy ve ark., 2001). EGF, Rozet-inhibisyon testi (*rosette inhibition test-RIT*) ile tespit edilmektedir. RIT testinin sütçü sığırlarda erken gebelik tanısı ve embriyonik ölümlerin tespiti amacıyla kullanılabilirliği belirtilmektedir (Laleh ve ark., 2008). Ancak RIT testinin saha koşullarında uygulanması pratik değildir (Cain ve Christiansen, 2014). EGF'nin sütçü sığırlarda erken gebelik yöntemi olarak kullanılabilmesi için ticari bir test kiti geliştirilmiştir. Ancak yapılan çalışmalarda bu test kitinin güvenilir bir gebelik tanı yöntemi olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Adams ve Jordon, 1999; DesCôteaux ve ark., 2000; Cordoba ve ark., 2001; Whisnant ve ark., 2001; Ambrose ve ark., 2007; Baştan ve ark., 2007). Henüz EGF'nin tespit edilebileceği pratik bir yöntem bulunmamaktadır.

Interferon Tau

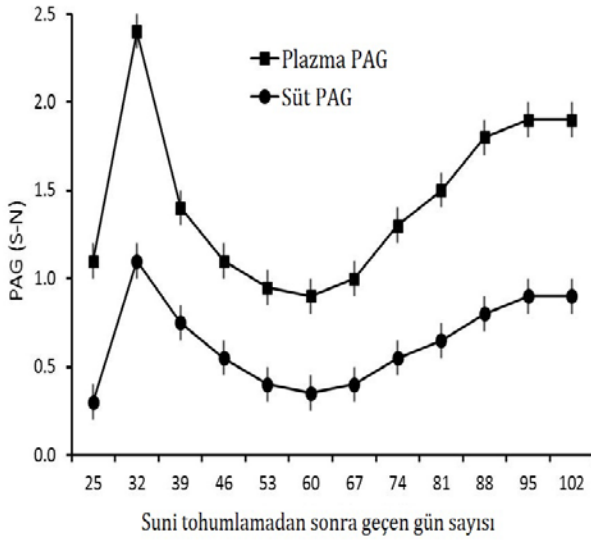
Interferon-tau (IFN- τ), gebeliğin anne tarafından kabulü sürecini başlatan bir sitokindir. Gebeliğin anne tarafından tanınması ve devam etmesi embriyonun trafoblast hücrelerinden salınan proteinler vasıtasıyla başlatılır. Bu spesifik trofoblast proteinlerinden birinin interferon proteinleri ile homolog olduğu tespit edilmiş ve daha sonra Interferon-tau (IFN- τ) olarak tanımlanmıştır (Güzeloğlu, 2006). Ruminatlarda IFN- τ ,

embriyonun blastosit safhasından başlayarak implantasyona kadar olan preimplantasyon dönemi boyunca, trofektoderm'in mononükleer hücrelerinden salgılanır (Güzeloğlu, 2006; Balhara ve ark., 2013). Sığırlarda gebeliğin 14-16'ncı günleri arasında yoğun olan INT- τ salınımı (Balhara ve ark., 2013), gebeliğin 20-24'üncü günlerine kadar artarak devam eder ve 30'uncü gününde ortadan kalkar. INT- τ kan veya idrara da geçmez. Bu yüzden gebelik tanı yöntemi olarak kullanılamamaktadır (Lucy ve Poock, 2012).

Gebelikle ilişkili glikoproteinler

Ruminant embriyonun trafoblast hücrelerinden gebeliğin anne tarafından tanınması için salgılanan proteinlerden bir kısmı da gebelikle ilişkili glikoproteinler (pregnancy associated glycoproteins; PAG) olarak adlandırılmaktadır. PAG'lar embriyonun implantasyonu aşamasında salınmaya başlar ve plasentasyon aşamasında annenin dolaşımına geçer (Sousa ve ark., 2006; Cain ve Christiansen, 2014). Ruminant plasentası histolojik olarak sinepitelyokoryal tiptir. Bu plasenta tipinde koryon epiteli ile endometriyum epiteli birbiriyle kaynaşmıştır. Ruminant koryon epitelleri mononükleer ve binükleer olmak üzere iki tip hücre içerir. Binükleer hücreler mononükleer trafoblast hücrelerinden farklıdır. İmplantasyon aşamasında mononükleer hücrelerin bir kısmında, çekirdek bölünmesinin gerçekleştiği ancak sitoplazma bölünmesinin gerçekleşmediği bir hücre bölünmesi gerçekleşir. Oluşan bu hücreler iki çekirdeğe sahiptir. Binükleer hücreler bu bölünme sırasında içlerinde birtakım proteinlerin bulunduğu granüller sentezler. Plasentasyon aşamasında binükleer hücreler, trafoblasttan maternal endometriyal epitel hücrelerine doğru göç ederler ve endometriyal hücreler arasına yerleşirler. İşte tam bu aşamada binükleer hücrelerin içerdiği salgı granülleri maternal doku içeresine salınır. Bu salgılar PAG'ların büyük bir çoğunluğunu oluşturur (Gordon, 2004). PAG'ların salınımı gebelik boyunca devam eder (Sousa ve ark., 2006; Cain ve Christiansen, 2014). Pregnancy-specific protein B (PSPB) sığırlarda tanımlanan ilk gebelik proteindir (Cain ve Christiansen, 2014). Günümüzde 22 PAG gen ailesi tespit edilmiştir (Telugu ve ark., 2009).

Süt verimi, gebelik dönemi, laktasyon sayısı, ırk, fetal cinsiyet, buzağının doğum ağırlığı, annenin ağırlığı, ikizlik, sıcaklık stresi, postpartum dönemde görülen hastalıklar ve embriyonik ölümlerin serum ve süt PAG düzeylerini etkilediği belirtilmektedir (López-Gatius ve ark., 2007; Lobago ve ark., 2008; Serrano ve ark., 2009; Ricci ve ark., 2015; Mercadante ve ark., 2016). Plazma PAG düzeyi süte göre yaklaşık iki kat daha fazladır (Şekil 3).



Şekil 3. Siyah Alaca ineklerde plazma ve süt PAG profilleri (Fricke ve ark., 2015; Ricci ve ark., 2015).

Figure 3. Plasma and milk PAG profiles in Holstein cows.

Sığırlarda erken gebelik tanısı amacıyla tohumlamadan sonraki 26-30'uncu günler arasında plazma PAG düzeylerinin değerlendirilmesi oldukça güvenilir bir yöntemdir (Fricke ve ark., 2016). PAG'lar RIA (radioimmunoassay) (Zoli ve ark., 1992) ve ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) (Friedrich ve Hotz, 2010) teknikleriyle tespit edilmektedir. PAG-ELISA'nın ST'den sonraki 27'nci günde ultrasonografi (Silva ve ark., 2007), 28'inci günde RIA ve ultrasonografi (Karen ve ark., 2015) yöntemleriyle aynı doğrulukta gebelikleri tespit ettiği ve belirtilen günlerde bu testlere alternatif olarak kullanılabilmesi belirtilmektedir. Sütçü sığırlarda plazma, serum, süt veya tam kan kullanılarak PAG-ELISA yöntemiyle erken gebelik teşhisi yapılabilmektedir (Gábor ve ark., 2007; Romano ve Larson, 2010; Piechotta ve ark., 2011; LeBlanc, 2013; Gajewski ve ark., 2014; Lawson ve ark., 2014; Kaya ve ark., 2016; Akköse ve ark., 2019). Kan ve süt PAG-ELISA testlerinin doğrulukları arasında farklılık bulunmamaktadır (Çizelge 3).

Çizelge 3. Sütçü sığırlarda PAG ELISA testlerinin güvenilirliği.

Table 3. Reliability of PAG ELISA tests in dairy cattle.

Referans	ST'den sonra geçen gün	Test	Sensitivite	Spesifite	Pozitif Prediktif Değer	Negatif Prediktif Değer
Zoli ve ark., 1992	22-30	RIA (kan PAG)	98,8	87,5	93	97,9
Silva ve ark., 2007	27	ELISA (kan PAG)	94-96	92-97	90-98	97-98
Romano ve Larson, 2010	28-35	ELISA (PSPB)	94-97	94-96	92-95	95-98
Piechotta ve ark., 2011	26-58	ELISA (PSPB)	98	97,1	99,3	91,9
LeBlanc, 2013	>60	ELISA (süt PAG)	99,2	95,5	99,8	80,8
Lawson ve ark., 2014	30-95	ELISA (süt PAG)	98-100	98-100	99-100	83-100
Ricci ve ark., 2015	32	ELISA (süt PAG)	100	87	84	100
		ELISA (kan PAG)	98	83	79	99
		ELISA (kan PAG)	90,2	98,3	97,4	93,7
Karen ve ark., 2015	28	RIA (kan PAG)	100	94,9	93,2	100
		USG	92,7	91,5	88,4	94,7
Akköse ve ark., 2019	28	ELISA (kan PAG)	100	94,9	94,4	100

ST: Suni tohumlama (Artificial Insemination)

Gebelik tanısı amacıyla kan veya süt PAG ELISA testlerinden hangisinin tercih edileceği, testin mevcudiyeti ve örneklerin toplama kolaylığına bağlıdır. Çiftliklere göre değişmekle birlikte, süt örneklerinin toplaması daha kolaydır (Fricke ve ark., 2015). Dolaşımdaki PAG düzeyinin erken fetal ölümlerin erken teşhisi (örneğin gebeliğin 2'nci ayında şekillenecek fetal ölümlerin, gebeliğin 4'üncü haftasında tahmin edilmesi) için de iyi bir belirteç olduğu belirtilmektedir (Gábor ve ark., 2007; Pohler ve ark., 2016a).

Gebelik Tanısının Geleceği

Erken gebelik tanısında yeni yaklaşım, gebelik spesifik hormon veya maddelerin sütte yeterli

düzeyle tespit edilmesi ve normal sağım sistemine yerleştirilecek cihazlarla normal sağım işlemi esnasında ölçülmesidir. Geliştirilecek bu sistem sayesinde laktasyondaki tüm hayvanların gebelikleri ve erken embriyonik ölümler düzenli olarak takip edilebilir (Fricke ve ark., 2016). Bunun için bilinen gebelik markırları üzerinde çalışmalar yapılmakla birlikte yeni gebelik ilişkili yeni markırların keşfedilmesiyle ilgili çalışmalar da yoğunluk kazanmıştır. Erken gebelik tanısı amacıyla yeni biyomarkırların tespit edilmesi ile ilgili çalışmalar içinde geleceğe yönelik en umut verici adayların mikroRNA'lar (miRNA) olduğu belirtilmektedir (Pohler ve ark., 2016b). Kısa nükleotid zincirine sahip olan (18-20) miRNA'lar, gen ifadesinde (gene expression)



önemli rol oynarlar (Ul-Hussein M. 2012). Kanserden kalp damar hastalıklarına kadar birçok hastalığın belirteci olarak kullanılmaya başlanan miRNA'ların (Reid ve ark., 2011), hayvanlarda potansiyel gebelik biyomarkırı olarak kullanılabilmesi ile ilgili kanıtlar da bulunmaktadır (Cameron ve ark., 2011; Burns ve ark., 2014; Ioannidis ve Donadeu, 2016; Fiandanese ve ark. 2016; Reese ve ark., 2016). Bununla birlikte gebelik tanısı için etkili miRNA'ların belirlenmesi ve bunları biyolojik sıvılarda tespit edilmesi için araştırmalara ihtiyaç vardır (Pohler ve ark., 2016b).

SONUÇ

Süt sığırcılığında verimlilik ve ekonomik başarı her hayvandan yaşamı boyunca optimum sayıda yavru almaya bağlıdır. Yüksek verimli sütçü sığırlarda iki

buzağılama arası sürenin 12-13 ay olması hedeflenmektedir. Sürüde ne kadar gebe olmayan hayvan bulunduğunun bilinmemesi ve bu hayvanlara herhangi bir reproduktif müdahalede bulunulmaması iki buzağılama arası sürenin uzamasına neden olmaktadır. Bu nedenle reproduktif yönetimin önemli bir parçası olan erken gebelik tanısı, gebe olmayan hayvanların en kısa sürede tespit edilmesini amaçlamalıdır. Günümüzde erken gebelik tanısında yaygın olarak kullanılan yöntem transrektal ultrasonografidir. Bununla birlikte gebelik tanısı alanındaki biyoteknolojik gelişmeler sağım sistemine yerleştirilecek sensörlerle gebe olmayan hayvanların daha kolay tespit edilmesi ve fetal canlılığın gebelik boyunca izlenmesi üzerine yoğunlaşmaktadır.

KAYNAKLAR

- Adams CS, Jardon PW. 1999. Evaluation of the early conception factor tests in cows 3-7 days post-breeding. *Bovine Practitioners*, 32:240-241.
- Akköşe M, Çebi-Şen Ç, Kirit A, Korkmaz Ö, Yazlık MO, Göcen M, Kuru M, Akçay E. 2019. Pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) and progesterone concentrations in Holstein heifers following two methods of estrus synchronization. *Veterinaria Mexico OA*, 6(2): 1-11.
- Alaçam E, Tekeli T, Türkarlan T. 1987. İneklerde erken gebeliğin enzim immunoassay kiti ile pratik tanısı. *Lalahan Hayvancılık Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 27(14):12-18.
- Alaçam E. 2015. Gebelik tanısı. Editör: Alaçam E. *Evcil hayvanlarda doğum ve infertilite*. 8. Baskı, Medisan, Ankara, s. 115-126.
- Ambrose DJ, Radke B, Pitney PA, Goonewardene LA. 2007. Evaluation of early conception factor lateral flow test to determine nonpregnancy in dairy cattle. *Canadian Veterinary Journal*, 48:831-835.
- Balhara AK, Gupta M, Singh S, Mohanty AK, Singh I. 2013. Early pregnancy diagnosis in bovines: current status and future directions. *The Scientific World Journal*, 2013:1-10.
- Baştan A, Özenc E, Macun HC, Acar DB, Güngör Ö. 2007. Use of early conception factor test for determining pregnancy and embryonic mortality status of dairy cows. *Medycyna Weterynaryjna*, 63(6):670-673.
- Bekele N, Addis M, Abdela N, Ahmed WM. 2016. Pregnancy diagnosis in cattle for fertility management: a review. *Global Veterinaria*, 16(4):355-364.
- Broadus BMS, de Vries A. 2005. A comparison of methods for early pregnancy diagnosis. *Proceedings 2nd Florida Dairy Road Show*, 7-11 February 2005, p. 22-30.
- Burns G, Brooks K, Wildung M, Navakanitworakul R, Christenson LK, Spencer TE. 2014. Extracellular vesicles in luminal fluid of the ovine uterus. *PLoS One* 9(3):1-11.
- Cain AJ, Christiansen D. 2015. Biochemical pregnancy diagnosis. Editor: Hopper RM. *Bovine Reproduction*. 1th ed. Wiley Blackwell, Pondicherry, India, p. 320-325.
- Cameron A, da Silveira JC, Bouma G, Bruemmer JE. 2011. Evaluation of exosomes containing miRNA as an indicator of pregnancy status in the mare. *Journal of Equine Veterinary Science* 31(5-6):314-315.
- Colloton JD. 2011. Applications of ultrasonography in dairy cattle reproductive management. Editors: Risco CA, Melendez P. *Dairy production medicine*, Wiley-Blackwell, UK, p. 99-116.
- Cordoba MC, Sartori R, Fricke PM. 2001. Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 84(8):1884-1889.
- Cruz YP, Selwood L, Morton H, Cavanagh AC. 2001. Significance of serum early pregnancy factor concentrations during pregnancy and embryonic development in *Sminthopsis macroura* (Spencer) (Marsupialia: Dasyuridae). *Reproduction*, 121(6):933-939.
- Curan S, Pierson RA, Ginther OJ. 1986. Ultrasonographic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 60. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 189(10):1295-1302.
- DesCôteaux L, Carrie`re PD, Bigras-Poulin M. 2000. Evaluation of the Early Conception Factor (ECF) dipstick test in dairy cows between days 11 and 15 post-breeding. *Bovine Practitioner*, 34:87-91.
- DesCôteaux L, Colloton J, Gayraud V, Picard-Hagen N. 2010. Bovine pregnancy. Editors: DesCôteaux L, Colloton J, Gnemmi G. *Ruminant and camelid reproductive ultrasonography*. WileyBlackwell, Hong Kong, pp.81-124.
- Dinç DA. 2008. Ultrason fiziği ve ineklerde reproduktif ultrasonografi. 1. Baskı, ATAVET, Konya.
- Dionysius DA. 1991. Pregnancy diagnosis in dairy goats and cows using progesterone assay kits. *Australian Veterinary Journal*, 68(1):14-16.
- Ducharme N, Gilbert R, Smith DF. 1990. Atrisia coli: genetics or iatrogenics? *Proceedings of the Annual Meeting of the Society for Theriogenology*, Toronto, ON, s.112.
- Fiandanese N, Viglino A, Strozzi F, Stella A, Williams JL, Lonergan P, Forde N, Lamartin D. 2016. Circulating microRNAs as potential biomarkers of early pregnancy in high producing dairy cows. *Reproduction Fertility and Development*, 28(2):165.
- Fricke PM, Ricci A, Carvalho PD, Amundson MC. 2015. Milk vs. Blood - which is best for PAG pregnancy prediction? *Western Dairy Management Conference*, 3-5 March 2015, Reno, NV.
- Fricke PM, Ricci A, Giordano JO, Carvalho PD. 2016. Methods for and implementation of pregnancy diagnosis in dairy cows. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal Practice*, 32:165-180.
- Fricke PM. 2002. Scanning the future -ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *Journal of Dairy Science*, 85:1918-1926.
- Fricke PM. 2011. Use of chemical tests for pregnancy diagnosis in a reproductive management program. *Proceeding Dairy Cattle Reproduction Conference*, Kansas City, MO, p.48-56.
- Friedrich M, Holtz W. 2010. Establishment of an ELISA for measuring bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum or milk and its application for early pregnancy detection. *Reproduction in Domestic Animals*, 45(1):142-146.



- Gábor G, Tóth F, Ozsvári L, Abonyi-Tóth Z, Sasser RG. 2007. Early detection of pregnancy and embryonic loss in dairy cattle by ELISA tests. *Reproduction in Domestic Animals*, 42(6):633-636.
- Gajewski Z, Petrajtis-Golobów M, Melo de Sousa N, Beckers JF, Pawliński B, Wehrend A. 2014. Comparison of accuracy of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) concentration in blood and milk for early pregnancy diagnosis in cows. *Schweiz Arch Tierheilkd*, 156(12):585-590.
- Gandy B, Tucker W, Ryan P, Williams A, Tucker A, Moore A, Godfrey R, Willard S. 2001. Evaluation of the early conception factor (ECF[™]) test for the detection of nonpregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, 56:637-647.
- Gordon I. 2004. *Reproductive Technologies in Farm Animals*. 1th ed, CABI Publishing, UK. p. 215-235.
- Grewal AS, Wallace ALC, Pan YS, Rigby NW, Donnelly JB, Eagleson GK, Nancarrow CD. 1985. Evaluation of a rosette inhibition test for pregnancy diagnosis in pigs. *Journal of Reproductive Immunology*, 7(2):129-138.
- Güzeloğlu A. 2006. İneklerde gebeligin maternal kabulü sürecinde anti-luteolizisin moleküler mekanizması. *Veteriner Bilimleri Dergisi*, 22(1-2):83-88.
- Hirako M, Takahashi T, Domeki I. 2002. Peripheral changes in estrone sulfate concentration during the first trimester of gestation in cattle: comparison with unconjugated estrogens and relationship to fetal number. *Theriogenology*, 57(7):1939-1947.
- Hoffman B, Wagner WC, Hixon JE, Bahr J. 1979. Observations concerning the functional status of the corpus luteum and the placenta around parturition in the cow. *Animal Reproduction Science*, 2(3-4):253-266.
- Ioannidis J, Donadeu FX. 2016. Circulating miRNA signatures of early pregnancy in cattle. *BMC Genomics*, 17(1):1-12.
- İzgür H, Küplülü Ş, Vural R, Salmanoğlu R, Kılıçoğlu Ç, Özdemir İ, Çerçel Ü. 1995. Süt progesteron test kitlerinin erken gebelik ve östrusların saptanmasında ultrasonografi ile karşılaştırılması olarak kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 42:71-75.
- Karen A, de Sousa NM, Beckers JF, Bajcsy AC, Tibold J, Madl I, Szenci O. 2015. Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radioimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Animal Reproduction Science*, 159:31-37.
- Kumuk T, Akbaş Y, Türkmüt L. 1999. Süt sığırcılığında döl verimine ilişkin ekonomik kayıplar ve yetiştiricilerin bilgi ve teknoloji ihtiyacı. *Hayvansal Üretim* 39:40: 1-12.
- Kaya MS, Köse M, Bozkaya F, Mutlu H, Uçar EH, Atlı MO. 2016. Early pregnancy diagnosis using a commercial ELISA test based on pregnancy-associated glycoproteins in Holstein-Friesian heifers and lactating cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 40:1-6.
- Laleh VG, Laleh RG, Pirany N, Ahrabi MM. 2008. Measurement of EPF for detection of cow pregnancy using rosette inhibition test. *Theriogenology*, 70(1):105-107.
- Lash GE, Legge M, Fisher M. 1997. Synthesis of early pregnancy factor using red deer (*Cervus elaphus*) as a delayed implantation model. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, 14(1):39-43.
- Lawson BC, Shahzad AH, Dolecheck KA, Martel EL, Velek KA, Ray DL, Lawrence JC, Silvia WJ. 2014. A pregnancy detection assay using milk samples: evaluation and considerations. *Journal of Dairy Science*, 97:6316-6325.
- LeBlanc SJ. 2013. Short communication: field evaluation of a pregnancy confirmation test using milk samples in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96:2345-2348.
- Lobago F, Bekana M, Gustafsson H, Beckers JF, Yohannes G, Aster Y, Kindahl H. 2008. Serum profiles of pregnancy-associated glycoprotein, oestrone sulphate and progesterone during gestation and some factors influencing the profiles in Ethiopian Borana and crossbred cattle. *Reproduction in Domestic Animals*, 44(4):685-692.
- López-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Y´aniz J, Ayad A, deSousa NM, Beckers JF. 2007. Milk production correlates negatively with plasma levels of pregnancy-associated glycoprotein (PAG) during the early fetal period in high producing dairy cows with live fetuses. *Domestic Animal Endocrinology*, 32:29-42.
- Lucy M, Poock S. 2012. Pregnancy determination by palpation and beyond. *Proceedings Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, 3 - 4 December 2012; Sioux Falls, SD, p.309-318.
- Mercadante PM, Ribeiro ES, Risco C, Ealy AD. 2016. Associations between pregnancy-associated glycoproteins and pregnancy outcomes, milk yield, parity, and clinical diseases in high-producing dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 99(4): 3031-3040.
- Morton H, Clunie GJA, Shaw FD. 1979. A test for early pregnancy in sheep. *Research in Veterinary Science*, 26(2):261-262.
- Morton H, Hegh V, Clunie GJA. 1976. Studies of the rosette inhibition test in pregnant mice: evidence of immunosuppression? *Proceedings of the Royal Society B*, 193(1113):413-419.
- Morton H, Rolfe B, Clunie GJA. 1974. Immunosuppression detected in pregnant mice by rosette inhibition test. *Nature*, 249:459-460.
- Nancarrow CD, Wallace ALC, Grewal AS. 1981. The early pregnancy factor of sheep and cattle. *Journal of Reproduction and Fertility Supplement*, 30:191-199.
- Ohnuma K, Kazuei ITO, Miyake YI, Takahashi J, Yasuda Y. 1996. Detection of early pregnancy factor (EPF) in mare sera. *Journal of Reproduction and Development*, 42(1):23-28.
- Piechotta M, Bollwein J, Friedrich M, Heilkenbrinker T, Passavant C, Branan J, Sasser G, Hoedemaker M, Bollwein B. 2011. Comparison of commercial ELISA blood tests for early pregnancy detection in dairy cows. *Journal of Reproduction and Development*, 57(1):72-75.
- Pohler KG, Franco GA, Reese ST, Dantas FG, Ellis MD, Payton RR. 2016b. Past, present and future of pregnancy detection methods. *Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, 7-8 September 2016, Des Moines, Iowa, p.251-259.
- Pohler KG, Pereira MH, Lopes FR, Lawrence JC, Keisler DH, Smith MF, Vasconcelos JL, Green JA. 2016a. Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. *Journal of Dairy Science*, 99(2):1584-1594.
- Reese ST, Pereira MC, Vasconcelos JLM, Smith MF, Green JA, Geary TW, Peres RFG, Perry GA, Pohler KG. 2016. Markers of pregnancy: how early can we detect pregnancies in cattle using pregnancy-associated glycoproteins (PAGs) and microRNAs? *Animal Reproduction*, 13(3):200-208.
- Reid G, Kirschner MB, van Zandwijk N. 2011. Circulating microRNAs: Association with disease and potential use as biomarkers. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 80:193-208.
- Ricci A, Carvalho PD, Amundson MC, Fourdraine RH, Vincenti I, Fricke PM. 2015. Factors associated with pregnancy-associated glycoprotein (PAG) levels in plasma and milk of holstein cows during early pregnancy and their effect on the accuracy of pregnancy diagnosis. *Journal of Dairy Science*, 98:2502-2514.
- Robertson H, King GJ. 1979. Conjugated and unconjugated oestrogens in fetal and maternal fluids of the cow throughout pregnancy. *Journal of Reproduction and Fertility*. 55:463-470.
- Romano JE, Larson JE. 2010. Accuracy of pregnancy specific protein-B test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Theriogenology*, 74(6):932-939.
- Romano JE, Thompson JA, Kraemer DC, Westhusin ME, Forrest DW, Tomaszewski MA. 2007. Early pregnancy diagnosis by palpation per rectum: influence on embryo/fetal viability in dairy cattle. *Theriogenology*, 67:486-493.
- Sakonju I, Enomoto S, Kamimura, S, Hamana K. 1993. Monitoring bovine embryo viability with early pregnancy factor. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 55:271-274.
- Serrano B, López-Gatius F, Santolaria P, Almería S, García-Ispuerto I, Bech-Sabat G, Sulon J, De Sousa NM, Beckers JF, Yániz YL. 2009. Factors affecting plasma pregnancy-associated glycoprotein 1 concentrations throughout gestation in high-producing dairy cows. *Reproduction in Domestic Animals*, 44:600-605.
- Silva, E, Sterry RA, Kolb D, Mathialagan N, McGrath MF, Ballam JM, Fricke PM. 2007. Accuracy of a pregnancy-associated glycoprotein



- ELISA to determine pregnancy status of lactating dairy cows twenty-seven days after timed artificial insemination. *Journal of Dairy Science*, 90:4612-4622.
- Smart YC, Roberts TK, Fraser IS, Cripps AW, Clancy RL. 1982. Validation of the rosette inhibition test for the detection of early pregnancy in women. *Fertility and Sterility*, 37(6):779-785.
- Sousa NM, Ayad A, Beckers JF, Gajewski Z. 2006. Pregnancy-associated glycoproteins (PAG) as pregnancy markers in the ruminants. *Journal of Physiology and Pharmacology* 57(Supp 8):153-171.
- Şekerden Ö, Uraz H, Söğüt Ö. 2009. Kilis ineklerinde kan progesteron testi kullanılarak erken gebelik teşhisi imkânları. *Hayvansal Üretim*, 50(2):29-32.
- Telugu PBVL, Walker AM, Green JA. 2009. Characterization of the bovine pregnancy-associated glycoprotein gene family - analysis of gene sequences, regulatory regions within the promoter and expression of selected genes. *BMC Genomics*, 10:185-202.
- Ul-Hussein M. 2012. Micro-RNAs (miRNAs): genomic organisation, biogenesis and mode of action. *Cell and Tissue Research*, 349(2):405-413.
- Vural R, Güzeloğlu A, Küplülü Ş. 2012. Gebelik ve fizyolojisi. Editör: Semacan A, Kaymaz M, Fundık M, Rışvanlı A, Köker A. Çiftlik hayvanlarında doğum ve jinekoloji. 1. Baskı, Medipres, Malatya, s. 125-155.
- Whisnant CS, Pagels LA, Daves MG. 2001. Effectiveness of a commercial early conception factor test for use in cattle. *The Professional Animal Scientist*, 17(2):51-53.
- Wilson S, McCarthy R, Clarke F. 1983. In search of early pregnancy factor: isolation of active polypeptides from pregnant ewes' sera. *Journal of Reproductive Immunology*, 5(5):275-286.
- Youngquist RS, 2006. Pregnancy diagnosis using palpation, ultrasound, and blood testing. *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*, 30-31 August 2006, St. Joseph, Missouri, p.329-338.
- Youngquist RS. 2007. Pregnancy diagnosis. Editor: Youngquist RS, Threlfall WR. *Current Therapy in large animal theriogenology*. Saunders-Elsevier, USA. p. 294-303.
- Zaied AA, Bierschwal CJ, Elmore RG, Youngquist RS, Sharp AJ, Garverick HA. 1979. Concentrations of progesterone in milk as a monitor of early pregnancy diagnosis in dairy cows. *Theriogenology*, 12(1):3-11.
- Zhihai Q, Zhen-Qun Z. 1987. Detection of early pregnancy factor in human sera. *American Journal of Reproductive Immunology and Microbiology*, 13(1):15-18.
- Zoli AP, Guibault LA, Delahaut P, Ortiz WB, Beckers JF. 1992. Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biology of Reproduction*, 46(1):83-92.

