

**İNEK VE DÜVELERDE GEBELİĞİN ERKEN TANISI İÇİN HIZLI
PROGESTERON TESTİNİN KULLANIMI**
**The Use of Rapid Progesterone Test for Early Diagnosis of
Pregnancy in Cows and Heifers**

Armağan ÇOLAK¹, Bülent POLAT², Ömer UÇAR³

Özet : Sunulan çalışma, inek ve düvelerde gebeliğin erken tanısında hızlı progesteron testinin uygulanabilirliğinin belirlenmesi amacıyla yapıldı. Östrusu takiben tohumlanan hayvanlardan tohumlamayı izleyen 18., 21. ve 24. günlerde hızlı progesteron testi için kan alındı. Tohumlamadan sonraki 35. günde ultrasonografik muayene yapılarak gebeliğin erken tanısında hızlı progesteron testinin uygulanabilirliği tespit edilmeye çalışıldı. Sonuç olarak, hızlı progesteron testinin sığırlarda gebeliğin erken tanısında etkin bir şekilde kullanılabileceği kanısına varıldı.

Anahtar kelimeler: İnek, düve, hızlı progesteron testi, gebelik

İneklerde süt veya kan progesteron düzeylerinin belirlenmesi ovaryumlardaki luteal yapının durumu konusunda bilgi vermektedir. Bu bilgi, gebelik tanısında, östrus zamanının postpartum ovaryum aktivitesinin, uygun tohumlama zamanının tespitinde ve ovaryuma bağlı infertilite nedenlerinin açıklanmasında kullanılabilir (1,2).

Hızlı progesteron testi, Enzimmunoassay (EIA) reaksiyon prensibinin geliştirilmesi ile gerçekleştirilmiş ve bu; hormonun süt ve kan düzeylerinin sahada kolayca belirlenmesini sağlamıştır (3).

Renk değişimi esasına dayalı olan kalitatif testler sahada özellikle gebe olmayan hayvanların belirlenmesinde kullanılmaktadır (1). Kalitatif ve kantitatif test kitlerinin karşılaştırıldığı bir çalışmada(4), fonksiyonel korpus luteumun varlığının belirlenmesinde

Summary : The objective of the present study was to determine the benefit of rapid progesterone test (EIA) for early diagnosis of pregnancy in cows and heifers. Blood samples were collected on days 18, 21 and 24 post-inseminations in cows with natural oestrus. On the 35th day (of post-insemination), ultrasound examinations were made for verification of the progesterone test. As a result, it was suggested that rapid progesterone test could be used effectively for early diagnosis of pregnancy in cattle.

Key words: Cattle, heifer, rapid progesterone test, pregnancy

kalitatif testlerin yeterli olabileceği bildirilirken kalitatif testin RIA (Radioimmunoassay) ile karşılaştırıldığı başka bir çalışmada da kısa sürede sonuç alınan kalitatif testin rahatlıkla kullanılabileceği ileri sürülmüştür (5). Görüldüğü üzere kalitatif testlerin progesteron tayininde güvenle kullanılabilirliği konusunda kısmen farklı görüşler vardır.

Bu nedenle sunulan çalışmada, inek ve düvelerde suni tohumlamayı izleyen 18.-24. günlerde gebeliğin erken teşhisinde hızlı progesteron test sonuçlarının; ultrasonografi tanı sonuçları ile karşılaştırılarak saha şartlarında kolayca uygulanabilirliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma Erzurum ilinde özel bir işletmede bulunan yaşları iki-altı arasında değişen Holstein ırkı 15 inek ve düvede yapıldı.

¹Prof.Dr.Atatürk Ün.Vet Fak, Doğum-Jin. AD, Erzurum

²Yrd.Doç.Dr.Atatürk Ün.Vet Fak, Doğum-Jin. AD, Erzurum

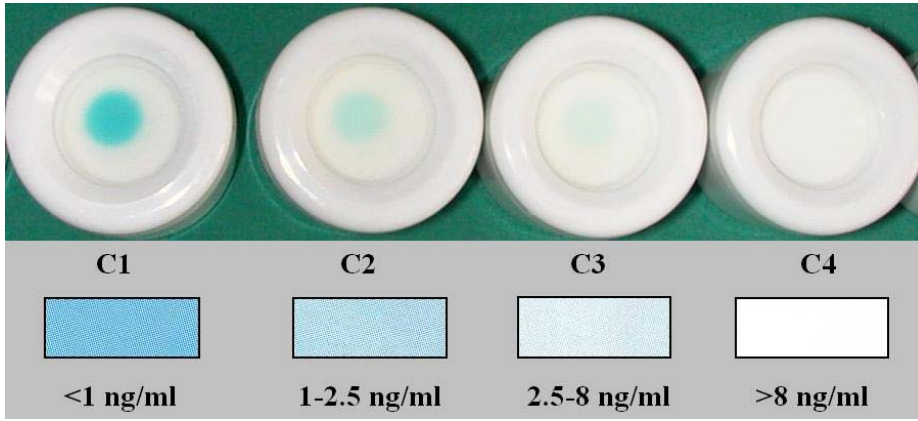
³Yrd.Doç.Dr.Atatürk Ün.Vet Fak, Döl.Suni Toh. AD, Erzurum

Hayvanların siklus süresinde farklılıklar olabileceği göz önüne alınarak, tohumlamayı izleyen 18., 21. ve 24. günlerde hayvanlardan kan alındı.

Kan serumunda progesteron düzeyleri hızlı progesteron testi (HPT) ile belirlendi. Bu amaçla EIA esasına göre çalışan bir test (Ovulation Test, Bio Veto Test, France) kullanıldı.

Çalışmanın başlangıcında; östrus gösteren bir hayvandan (kontrol negatif) ve gebe olduğu saptanan bir hayvandan (kontrol pozitif) kan alınarak testin duyarlılığı belirlendi. Kan numuneleri 2000 g'de on dakika santrifuj edilerek serumları ayrıldı. Test kiti, kullanımdan iki saat önce buzdolabından çıkarıldı. Testin uygulanması prospektüsünde önerildiği şekilde yapıldı:

1. Ölçüm kabının merkezine sekiz damla serum eklenerek iki dakika beklendi.
2. Birinci yıkama solüsyonundan dört damla eklenip, sıvının tam olarak kabın içine süzülmesinden sonra dört damla daha eklendi.
3. Enzimden üç damla eklenerek bir dakika beklendi.
4. İkinci yıkama solüsyonundan 20 damla eklendi.
5. Yeni hazırlanmış substrat solüsyonundan dört damla eklendi.
6. Dokuz dakika beklendikten sonra sonuçlar kit içerisindeki renk skalasına göre değerlendirildi (Şekil 1).



Şekil 1. Test kitinin değerlendirilmesi

Tohumlamayı izleyen 18. günde inek ve düvelerden alınan kanda negatif sonuç (C1) elde edildiği takdirde, bu hayvanlardan 21 ve 24. günlerde numune alınmadı ve östruslarının belirlenmesi amacıyla üç-dört gün süre ile gözlemlendi.

Onsekizinci günde HPT ile pozitif sonuç alındığında (C2-C3), 21 ve 24. günlerde test tekrar edildi. Üç uygulamada da progesteronun yüksek olduğu bir sonuç elde edildiği takdirde gebelik pozitif olarak değerlendirildi

Hızlı progesteron testi ile elde edilen bulgular suni tohumlamaları izleyen 35. günde yapılan ultrasonografik muayene ile (Pie Medical, 100 Falco Vet, 6-8 MHz Lineer prob) karşılaştırıldı (Tablo I).

Tablo I. Hızlı progesteron test bulgularının ultrasonografi ile karşılaştırılması

HPT	USG				Toplam	
	Gebelik Var		Gebelik Yok		Sayı	%
	Sayı	%	Sayı	%		
+	5	100.0	0	0.0	5	38.5
-	0	0.0	8	100.0	8	61.5
Toplam	5	100.0	8	100.0	13	100.0

BULGULAR

Çalışmanın başlangıcında testin duyarlılığını belirlemek amacı ile alınan kan örneklerinde; ultrasonografik muayenede gebe olduğu belirlenen bir inekte (kontrol pozitif) C4,  strusta olduğu gözlenen bir inekte ise (kontrol negatif) C1 değeri saptandı.

TARTIşMA

S tu bir işletmenin karlı olabilmesi için; yüksek süt veriminin yanında, reprodüktif verimlilik esastır. Bu açıdan, östrusların doğru tespiti, zamanında tohumlama ve tohumlandığı halde gebe kalmayan hayvanların erken dönemde tespiti, büyük önem taşımaktadır.

Günümüzde saha şartlarında kolaylıkla uygulanabilen hızlı progesteron test kitleri; doğumu takiben ovaryum aktivitesinin belirlenmesi, ekzojen hormon verilerek kontrollü tohumlama, tohumlama gününün doğrulanması ve tohumlama sonrası gebeliklerin erken dönemde tanısı amacıyla kullanılabilir (1,2). Ancak özellikle gebeliğin erken döneminde tanısı konusunda bildirilen sonuçlar farklıdır.

Alaçam ve ark. (6), nicel EIA ile HPT'yi karşılaştırdıklarında; HPT'nin %86.61 oranında doğru sonuç verdiğini saptamışlardır. Aslan (7), hızlı progesteron testi ile gebelik negatif olguları %100 oranında belirlemiş, bu oranı gebelik pozitif olgularda elde edemediğini bildirmiştir. Salmanoğlu ve ark (2), tohumlama sonrası 21. günde yaptıkları

HPT ile %85 oranında doğrulukla gebelik pozitif sonucu elde etmişlerdir. Romagnolo ve Nebel (8), testin gebe hayvanlarda %92.3, gebe olmayanlarda ise %100 oranında doğrulukla sonuç verdiğini saptamışlardır. Araştırmacıların gebelik negatif olguları %100 oranında belirlemelerine karşın, gebelik pozitif olgularda aynı oranı elde edemedikleri görülmektedir.

Çalışmada kullanılan yöntemle gebelik pozitif tanısı konulan hayvanlarda, daha sonra yapılacak ultrasonografik ve rektal muayenelerde gebelik tespit edilememesinin, ovaryum kistleri, endometritisler ve erken embriyonik ölümlere bağlı olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Sunulan çalışmada, elde edilen progesteron sonuçlarına göre belirlenen gebeliklerin, tohumlamayı izleyen 35. günde yapılan ultrasonografi muayenesi ile %100 oranında doğrulandığı belirlendi. İzgür ve ark. (1), sütte t p ve plak test kitleri ile progesteron ölçerek erken gebelikleri belirledikleri çalışmalarında testin %100 doğrulukla çalıştığını bildirmişlerdir. Bu sonuç bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir.

Simersky ve ark. (3) tohumlama sonrası 18. günde aldıkları süt numunelerinde progesteronun düşük çıkması durumunda ineklerin  struslarını gözlemleyerek tohumlamışlar, 18. ve 22. günlerde aldıkları süt numunelerinde progesteron düzeyleri yüksek olan hayvanları gebe olarak kabul etmişlerdir. Sönmez ve ark. (9), hızlı progesteron testi ile C1 sonucu elde ettikleri hayvanlarda suni tohumlama sonucu en yüksek gebelik oranını elde etmişlerdir. Su-

nulan çalışmada, 18. günde kan numunesinde C1 sonucu saptanan hayvanlara gebelik negatif tanısı konularak, bu hayvanlardan tekrar numune alınmayıp, östrusların gözlemlenmesi araştırmacıların uygulamalarına benzerlik göstermektedir.

Foliküler dalga sayısına bağlı olarak seksüel siklus süresi değişkenlik göstermektedir. Araştırmacılar, iki dalgalı siklus süresini 22.2 ± 0.4 gün (10), 19.8 ± 0.6 gün (11) ve 21.2 ± 0.5 gün (12) olarak saptamışlardır. Aynı araştırmacılar, üç dalgalı siklus süresini ise 24.5 ± 0.7 gün (10), 22.5 ± 0.8 gün (11) ve 24.5 ± 0.7 gün (12) olarak bildirmişlerdir. Çalışmalar incelendiğinde seksüel siklus süresinin 19-24 gün arasında değiştiği gözlenmektedir.

Seksüel siklus süresindeki değişkenlikler nedeniyle, çalışmamızda gebelik pozitif şüpheli olgularda tohumlama sonrası üç numune alındı. Bu uygulamanın diğer araştırmacıların (10,11,12) uygulamalarına göre maliyeti artırdığı görülmektedir. Ancak diğer çalışmalarda (2, 7, 8) belirlenen hatalı pozitif sonuçların ve siklus sürelerindeki değişkenliğe bağlı oluşacak reproduktif kayıpların önüne geçilebilmesi açısından gerekli olduğu düşünülmektedir.

Sonuç olarak; saha şartlarında hızlı progesteron EIA tekniğinin; inek ve düvelerde gebeliğin erken tanısında etkin bir şekilde kullanılabileceği kanısına varıldı.

Teşekkür

Test kitlelerini sağlayan ME-SA Medikal San.Tic.Paz.Ltd. Şti.'ne teşekkür ederiz.

KAYNAKLAR

1. İzgür H, Küplülü Ş, Vural R ve ark. Süt progesteron test kitlerinin erken gebelik ve östrusların saptanmasında ultrasonografi ile karşılaştırmalı olarak kullanılması. *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1995, 42:71-75.
2. Salmanoğlu R, Alaçam E, Çelebi M, Baş A Sütçü ineklerde hızlı progesteron testi yardımıyla yapılan prostaglandin F₂ alfa kontrollü tohumlamaların fertiliteye etkisi. *Türk J Vet Anim Sci* 1999, 23(Suppl.)1:115-121.
3. Simersky R, Swaczynova J, Morris DA, Franek M, Strnad M Development of an ELISA-based kit for the on farm determination of progesterone in milk. *Vet Med -Czech* 2007, 52:19-28.
4. Elmore RG Rapid progesteron assays: The latest in kit technology. *Veterinary Medicine* 1986, 7:659-662.
5. Davies J, Fletcher A, Newstead RA Evaluation of an enzyme immunoassay kit for the qualitative assessment of progesterone in bovine milk samples. *Vet Rec* 1987, 120:206-207.
6. Alaçam E, Salmanoğlu R, Çelebi M, Kutluca A, Baş A Holştayn ineklerde postpartum ovaryum fonksiyonlarının hızlı progesteron testi ile denetlemesi ve sorunlu hayvanlarda sağtım yaklaşımları. *Türk J Vet Anim Sci* 1997, 21:157-165.
7. Aslan S Erhobene befunde in verschieden Zyklusstadienund korrepondierende Progesteronwerte (RIA, Magermilch; EIA Vollmilch). *Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 1993, 40:155-165.

8. Romagnolo D, Nebel RL *The accuracy of enzyme linked immunosorbent assay and latex agglutination progesterone test for the validation of estrus and early pregnancy diagnosis in dairy cattle. Theriogenology* 1993, 39:1121-1128.
9. Sönmez M, Türk G, Demirci E *İneklerde gebelik oranı  zerine g zlem y ntemi ve progesteron test kitleriyle yapılan östrus tespitinin etkisi. Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* 2007, 54:81-86.
10. Pancarcı ŐM *Monitoring and comparing follicular and luteal function between genetically high- and low-producing dairy cows by ultrasonography. Turk J Vet Anim Sci* 1999, 23:141-147.
11. Noseir WMB *Ovarian follicular activity and hormonal profile during estrous cycle in cows: the development of 2 versus 3 waves. Reprod Biol Endocrinol* 2003, 1:1-6.
12. Townson DH, Tsang PCW, Butler WR *et al. Relationship of fertility to ovarian follicular waves before breeding in dairy cows. J Anim Sci* 2002, 80:1053-1058.