

ÖSTRÜSÜN TANISI AMACIYLA PRATİK SÜT PROGESTERON TESTİNİN KULLANIMI

Kenan ÇOYAN¹
Bülent GÜVEN²

Semin ÖZSAR²
Tevfik TEKELİ¹

Die Brunsterkennung Mit Einem Milch Progesteron Schnelltest

Zusammenfassung : Bei 17 Kühen wurden durch die Beobachtung der Tierhalter und nach den klinischen Untersuchungen die Brunst festgestellt. Von den Tieren wurden Blut-und Milchproben für die Progesteronbestimmung entnommen, um diese Brunst-diagnose zu sichern. Das Progesteron wurde in der Milch nach einem EIA methode, im Blut serum nach RIA methode bestimmt.

Die Ergebnisse zeigen, dass 3 von 17 Tieren (18 %) nach Progesteron bestimmung nicht in Brunst waren.

Die Einsatzmöglichkeiten des Milchprogesteron-tests wurde für die Brunstbestimmung diskutiert. Der Einsatz des Tests für die Brunsterkennung wird empfohlen.

Özet : Bu çalışma da hayvan sahiplerinin gözlemleri ve klinik muayeneler sonucu östrüste olduklarına karar verilen 17 adet inekten alınan süt örneklerinde EIA, kan örneklerinde ise RIA yöntemi ile progesteron tayini ile östrüsün tanı şansları araştırıldı.

Çalışma sonunda klinik muayeneler sonucu östrüste olduğu belirlenen 17 adet inek'ten 3'nün (% 18)'nin progesteron değeri yüksek bulunarak östrüste olmadığı belirlendi.

Çalışma bulguları ile birlikte testin olumlu ve olumsuz yönleri tartışılarak testin östrüsün tanısı amacı ile kullanılabileceği belirlendi.

Giriş

Östrüsün tespiti tohumlamanın başarısı yönünden son derece önemlidir. Özellikle günümüz yetiştiriciliğinde ahırlardaki hayvan sayısının artması ve bir çok işlemin makinalar aracılığı ile yapılması sonucunda hayvan başına ayrılan süre azalmakta, östrüs iyi gözlenememekte

ve buna bağlı olarak ineklerin boş kaldıkları süre uzayarak, bunun sonucunda döl verimi aksamaktadır.

Östrüsün tespitinde, veteriner hekim ve suni tohumlama teknisyenleri tarafından uygulanan en geçerli yöntem rektal palpasyondur. Ancak tecrübeli veteriner hekimlerin bile bu yöntemle yapılan muayenede ovaryum üzerindeki yapıların tanısında % 20-30 oranında yanlışlıkları bildirilmektedir (5).

Sütte veya kanda progesteron tayini ile siklusun dönemini tesbit etmekte kullanılan enzim immunoassay (EIA) testleri geniş bir kullanım alanı bulmuştur (1,7,15).

Grünert ve ark. (6), yaptıkları araştırmada sütteki progesteron konsantrasyonu ile klinik bulguların arasında pozitif bir korelasyonun varlığını bildirmişlerdir.

Endokrinolojik olarak aktif bir corpus luteumun varlığı halinde progesteron değerinin radio immunoassay (RIA) yöntemi ile 1ng/ml, EIA ile ise 5 ng/ml'nin üzerinde olması gerektiği, progesteron konsantrasyonunun bu basal değerlerin altına inmesi halinde östrüsün 24-36 saat içinde oluşacağı % 85 doğrulukla bildirilmektedir (2,8,9,10,17).

Siklusun döneminin belirlenmesi amacıyla sütteki progesteronun 12 saat süreyle depolanması, kandaki değerinin ise salıya bağlı olarak değişmesi nedeniyle süt progesteron değerlerinin kan progesteron değerlerine göre daha güvenli olduğu bildirilmektedir (3,14).

Son yıllarda saha koşullarında uygulanabilen ve yetiştiriciler tarafından da kullanılabilen sütte progesteron hormonu düzeylerini kalitatif ve kantitatif olarak belirleyecek EIA test kitleri geliştirilmiştir. Bu testlerde progesteron hormonuna karşı immunolojik reaksiyon veren monoklonal antikorlardan yararlanılmaktadır. Test sonucunda tüp içerisindeki substratın enzimatik transformasyonu ile verdiği renk reaksiyonuna göre bulgular kalitatif olarak izlenebilmektedir (12,13).

1. S.Ü. Veteriner Fakültesi Doğum ve Reprodüksiyon Hastalıkları Ana Bilim Dalı, Konya

2. Lalahan Nükleer Araştırma Merkezi, Ankara
(☎) Paul Hartmann, 7290 Heidenheim, Almanya

Sunulan çalışmada, hayvan sahiplerinin gözlemi ve klinik muayeneler sonucunda östrüste olduğu tespit edilen ineklerde EIA esasına göre çalışan pratik bir test yardımı ile süt progesteron düzeyini kalitatif olarak ölçen pratik EIA kitlerinin, östrüsün tespiti amacıyla kullanılabilirliğini araştırmak ve yetiştirici düzeyinde tanıtımı amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Bu çalışma S.Ü. Veteriner Fakültesi kliniklerine suni tohumlama isteği ile getirilen, yaşları 3-8 arasında değişen, değişik ırklara mensup 17 adet inek üzerinde gerçekleştirildi.

Rektal palpasyon ile uterus ve ovaryumların muayenesinden sonra ineklerden süt örnekleri, sabah sağımasını takiben, bir kaç çekim sütün atılmasından sonra özel tüplerdeki işarete kadar sağılarak alındı. Kontrol amacıyla RIA yöntemi ile progesteron tayini için vena jugularisten alınan kan örnekleri santrifüje edildikten sonra çıkartılan serumlar hormon analizine kadar -20 °C saklandı. Süt örneklerinin değerlendirilmesinde Hygia Diagnostic® isimli EIA esasına göre çalışan ve kalitatif olarak progesteron hormon düzeyini gösteren pratik test kitleri kullanıldı. Testin uygulanmasından önce test solüsyonları ve örnekler ortalama olarak 2 saat oda sıcaklığında bekletilerek, örneklerin ve test solüsyonlarının aynı ısı derecesine gelmeleri sağlandı. Testin uygulanmasında aşağıdaki yol izlendi;

a) Örnek ve kontrol tüpünün test sehпасına yerleştirilmesinden sonra, kontrol tüpüne A işaretli test solüsyonundan işaretli noktaya kadar konuldu. Örnek ve kontrol solüsyonunun tüp içerisindeki progesteron antiyeni ile reaksiyona girmesi için 1dk. beklendi.

b) Belirtilen süre sonrasında tüpler ters çevrilerek boşaltıldı, her iki tüpede B solüsyonundan işaretli noktaya kadar konuldu.

c) Bir dakikalık beklemeden sonra tüpler tekrar boşaltıldı, akan suyun altında 5 kez yıkandı ve silkelenerek tüplerdeki kalan su atıldı.

d) Her iki tüpe de önce işaret noktasına kadar C solüsyonundan, daha sonra da D solüsyonundan iki damla damlatılarak 10 saniye süre ile test sehпасı sallandı.

e) 1-2 dk. içerisinde oluşan renkler okundu. Değerlendirmede kontrol tüpünden daha koyu mavi renk gösteren örneklerde progesteron düzeyi düşük, açık olanlarda ise yüksek, kontrol tüpü ile aynı olanlar ise kritik dönemde kabul edildi.

Test sonuçları (Lalahan Nükleer Araştırma Merkezinde), kan serumunda RIA yöntemi ile yapılan progesteron ölçümleri ile karşılaştırılarak kontrol edildi.

Bulgular

17 adet inekten elde edilen süt örneklerinin EIA yöntemi ile yapılan kalitatif progesteron tayininde 1 adet inekte progesteron değerinin yüksek, 2 adet inekte şüpheli ve 14 adet inekte ise düşük olduğu tespit edilip, kontrol amacıyla aynı ineklerden alınan kan örneklerinden RIA yöntemi ile yapılan progesteron tayinleri ile elde edilen sonuçlar tam bir paralellik arzettiği belirlendi. (Tablo 1)

Tablo : 1. Çalışma Bulguları

Inek numarası	Pratik E.I.A	Progesteron (ng/ml)
1	yüksek	4.98
2	düşük	0.25
3	şüpheli	1.92
4	şüpheli	1.80
5	düşük	0.14
6	düşük	0.11
7	düşük	0.01
8	düşük	0.37
9	düşük	0.02
10	düşük	0.10
11	düşük	0.30
12	düşük	0.02
13	düşük	0.01
14	düşük	0.12
15	düşük	0.21
16	düşük	0.03
17	düşük	0.45

EIA yöntemi ile progesteron değeri yüksek olarak bulunan 1 numaralı ineğin RIA yöntemi ile 4.98ng/ml, yine EIA yöntemi ile progesteron konsantrasyonu şüpheli bulunan 3 ve 4 numaralı ineklerde ise progesteron düzeyi RIA yöntemi ile 1.92ng/ml, 1.80ng/ml olarak bulundu.

Tartışma ve Sonuç

Tohumlama açısından son derece önemli olan östrüsün, doğru olarak belirlenmemesi nedeniyle hayvanların gebe kalması için geçen süre uzamakta buda önemli ekonomik kayıplara neden olmaktadır.

Son yıllarda östrüsün tespitinde kullanılan, laboratuvara gereksinim göstermeyen, EIA esasına göre çalışan bazı pratik tanı testleri geliştirilmiş ve saha koşullarında yaygın olarak kullanım alanı bulmuştur (12,13).

Yapılan çalışmalar tohumlanan ineklerin % 31'inin hayvanların östrüste olmadıklarını göstermektedir (4,11). Ayrıca bakım ve beslenmenin iyi olduğu gebe ineklerin % 10'nunda gebe olmalarına rağmen östrüs gösterdikleri ve bunlarında hatalı olarak tohumlandıkları bildirilmektedir (16). Pratik süt progesteron testleri ile gerek luteal dönemdeki, gerekse östrüs gösteren gebe ineklerin tohumlanmalarının önlenmesi mümkün görülmektedir.

Sunulan çalışmada klinik muayeneler sonucu östrüste oldukları tesbit edilen ineklerin 3'ünün (%18) gerek pratik süt progesteron testi gerekse RIA ile yapılan progesteron tayinlerinde östrüste olmadıkları belirlenmesine rağmen ve bu oran literatürlerde belirtilen orandan düşük bulunmuştur.

Mgongo (14), EIA esasına dayalı pratik süt progesteron testleri ile elde ettiği kalitatif sonuçları RIA yöntemi ile elde ettiği kantitatif değerler ile karşılaştırarak aralarında paralellik olduğunu bildirmektedir. Çalışmada kullanılan pratik süt progesteron testinin RIA ile karşılaştırılmasında Mgongo (14)'nun da ifade ettiği gibi bir paralellik görülmektedir.

Araştırmacılar (2,8) düşük progesteron sonuçlarının yalnızca östrüste değil östrüs öncesi ve sonrası 6 günlük sürede, foliküler kistlerde hakiki anöstrüs olgularında da elde edilebileceğini bildirmektedirler.

Sunulan çalışmada 17 olgunun 14'ünde pratik süt progesteron testi ile düşük sonuçlar elde edilmesine rağmen, yukarıdaki araştırmacıların (2,8)'da bildirdikleri gibi oğtrs dışındada bu test ile düşük sonuçlar elde edilebilmesi olasılığı nedeniyle bu hayvanlar için sadece düşük progesteron sonuçlarına bakılarak kesin olarak oğtrsn tesbit edilemeyeceği kanısına varılmıştır.

Sonuç olarak, yalnız süt progesteron testi sonucuna bakılarak oğtrs'n belirlenemeyeceği veteriner hekimlerin hayvanlara klinik muayeneler ve yetiştiricilerinde gözlemleri ile birlikte bu testi uygulayarak oğtrsn teşhisini doğrulamabilecekleri kanısına varıldı.

Kaynaklar

1. Alaçam, E., Tekeli, T. ve Türkarslan, T. (1987) : Ineklerde erken gebelik tanısının enzim immunoassay kiti ile pratik tanısı, L. H.A.E.D., 27, 1-4
2. Bamberg, E., Choi, H.S. und Möstl, E. (1981): Anwendungsmöglichkeiten der Progesteronbestimmung in der Milch von Kühen. Wien. tierarztl. Mschr., 68, 185-187
3. Caudle, A.B., Clekis, T., Thomson, F.N. and Van-Camp, C.D. (1980): Progesterone in bovine milk fat. Theriogenology., 14, 329-338
4. Claus, R., Münster, und Denhard, M. (1985): Überprüfung der Anwendbarkeit eines Mikrotiter Enzymimmuntest für Nach gemelk zur Fruchtbarkeitsanalyse bei der Kuh. Zuchthygiene., 20, 54-60
5. Grnert, E. (1979): Zur Problematik der rektalen Ovarkontrolle beim Rind. Prakt. Tierarzt., 60, 13-18
6. Grnert, E., Schallenberger, E., Quack, M., Grnert, D., und Karg, H. (1985): Die Anwendung des Milchprogesterontests zur berpr-

fung klinischer Diagnose sowie zur Kontrolle der Effektivität tierärztlicher Massnahmen in der Sterilittspraxis beim Rind. Tierarztl, Umschau 40, 639-651

7. Heap, R.B. and Holdsworth, R. V. (1981) : Hormone assays in reproduction and fertility. Br. Vet. J., 137, 561-571

8. Hodemaker, M. und Held. Th. (1985): Progesteron bestimmung in der Milch und im Blutsrum von Kühen mit einem Enzymimmuntest ohne vorherige Extraktion auf Mikrotiter platten und-teststreifen. Prakt. Tierarzt, 66, 878-884

9. Hoffmann, B. und Hamburger, R. (1973): Progesteron in der Milch. Zuchthyg, 8, 154-162

10. Karg, H. (1985): Neue Dimensionen der Endokrinologie und ihre Bedeutung für die Tierproduktion. Prakt. Tierarzt. 66, 103-113

11. Leidl, W. und Vaupel, H. (1973) : Methoden der Brunster kennung beim Rind. Tierzüchter 25, 13-14

12. Mahin, L. et Lasri, Kh. (1988): Comparison de trois tests rapides de dosage de la progesterone dans le lait de vache, qu point de We de leur facilite de realisation dans les conditions du terrain. Ann. Med. Vet., 132, 149-153

13. Mc pee, I.M. and Tiberghien, M.P. (1987): Assesment of pregnancy in sheep by analysis of plasma progesterone using an amplidenzyme immunoassay technique. Vet. Rec., 121, 63-65

14. Mgongo, F. (1988): Erfahrungen mit einem Progesteron Schnelltest in der Rinderbesamung. Vet. med. Diss., München

15. Norman, T. (1982): Laboratory methods for diagnosing pregnancy in cows. Vet. Med. SAC, 3, 465-468

16. Schnebelli, J. und Egenberger (1985): Klinische Untersuchungen über die Folikelbildung auf dem Rinderovar. Schweiz. Arch. Tierheilk. 127, 213-230

17. Vande wiel, D.F.M. and Koops W. (1986) Development and validation of enzyme immunoassay for progesterone in bovine milk or blood plasma Anim Reprod. Sci. 10, 201-213