

**KAN PROGESTERON KONSANTRASYONU
TAYİNİ İLE KOYUNLARDA GEBELİK TANISI
(Traechtighkeitsdiagnose beim Schar mittels
der Progesteronbestimmung im Blutserum)**

Ali EROĞLU *

İrfan ÇELİK **

Fazıl DELİGÖZOĞLU ***

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorliegenden Arbeit wurde die Genauigkeit der Traechtighkeitsdiagnose bei insgesamt 62 Schafen von den Rassen Kıvırcık (28), Dağlıç (20) und Sakız (14) anhand des Progesterongehaltes im Blut ohne Kenntnis der individuellen Deckungsdaten untersucht. Im Versuch I wurde die Traechtighkeitsdiagnose durch dreimalige Progesteronbestimmung im Blutserum nach der einmonatigen Deckungsperiode gestellt, während die Feststellung der Traechtighkeit im Versuch II anhand zweimaliger Progesteronbestimmung im Blutserum nach der zehntägigen Deckungsperiode erfolgte. In beiden Versuchen wurden 11 Tage nach den Deckungsperioden gewartet und dann erfolgten die Blutentnahmen im Abstand von je 6 Tagen. Im Versuch II standen 42 Schafe, die gleichzeitig im Versuch I verwendet wurden, zur Verfügung.

Jeweils nach der niedrigsten der 3 bzw. 2 am gleichen Tier gemessenen Progesteronkonzentrationen wurden die Schafe als traechtigh oder untraechtigh beurteilt. Im Versuch I lag die Diagnosegenauigkeit bei 85.5 %, während sie im Versuch II 80.9 % war.

ÖZET

Bu çalışmada, Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsü' ne ait 28 adet Kıvırcık, 20 adet Dağlıç ve 14 adet Sakız olmak üzere toplam 62 koyun üzerinde, tohumlama tarihi bilinmeden serum progesteron konsantrasyonlarına göre gebelik

* : Öğr. Gör. Dr.; U. Ü. Vet. Fak. Doğum ve Reprod. Hast. Anabilim Dalı, Bursa/Türkiye.

** : Vet. Hek.; Koyunculuk Araştırma Enstitüsü, Bandırma -Türkiye.

*** : Dr. Vet. Hek.; Koyunculuk Araştırma Enstitüsü, Bandırma -Türkiye.

tanısının yapılabilirliği aynı anda iki araştırmada test edildi. Araştırma I' de, yaklaşık 1 aylık tohumlama süresinden sonra 11 gün beklenip 6 gün arayla 3 kez kan alınarak serum progesteron konsantrasyonu tayini yapıldı. Araştırma II için, araştırma I' de kullanılan koyunlardan son 10 gün içinde tohumlananlar (18 adet Kıvırcık, 16 adet Dağlıç, 8 adet Sakız) alındı. On günlük tohumlama periyodundan sonra 11 gün beklenip 6 gün arayla 2 kez alınan kan örneklerinde progesteron düzeylerine bakıldı.

Her koyunun en düşük serum progesteron konsantrasyonu değerlendirmeye alınarak gebeliği hakkında karar verildi. Araştırma I' de % 85.5, araştırma II' de % 80.9 oranında doğru gebelik tanısı konuldu.

GİRİŞ

Döl veriminin artırılmasında, erken dönemde yüksek doğruluk oranı ile yapılabilen gebelik tanısı büyük öneme sahiptir. Gebe olanlarla olmayanların ayırt edilmesi ile, bir taraftan gebe olmayanların varsa döl verimi problemleri çözülerek tekrar tohumlanmaları ve gebe kalmaları, diğer taraftan gebelere bakım ve beslemede gerekli özen gösterilerek gebeliklerini sorunsuz bir şekilde sürdürmeleri sağlanabilecektir. Gebelik tanısı yapılarak döl tutmayanların ayıklanması ise işletmenin bakım ve besleme için yaptığı harcamaları azaltacaktır.

Sonuç olarak, gebelik tanısı yöntemlerinin geliştirilmesi, hem döl verimini artırarak hemde işletme harcamalarını azaltarak koyuncululuğun ülke ekonomisine katkısını artıracaktır.

Koyunlarda gebelik tanısı kan progesteron konsantrasyonu tayini (1, 7, 10), ultrasonografi (9, 10), servikal mukus muayenesi (2, 10), abdominal ve rektoabdominal palpasyon (7, 9), laparotomi ve laparoskopi (1, 2), vaginal biyopsi (3), radyografi (12), gebeliğe özgü antijenlerin araştırılması (12) gibi çok çeşitli yöntemlerle yapılabilmektedir.

Bunlardan kan progesteron konsantrasyonuna göre gebelik tanısı, siklik progesteron değerleri ile gebelik progesteron değerlerinin belli bir dönemde farklılık göstermesine dayanır. Koyunlarda östrüstan 3 gün sonra corpus luteum artan bir şekilde progesteron salgılamaya başlar. Kan progesteron konsantrasyonu siklusun 10. ile 14. günleri arasında maksimum düzeydedir (3 - 4) ng/ml). Gebe kalınma durumunda endometriumdan 12. günde salgılanmaya başlayan PGF_{2α}, 14. günde zirveye ulaşır ve corpus luteum'u regrese eder. 14/15. günden itibaren kandaki progesteron konsantrasyonu düşmeye başlar ve 16. günde bazal (<0.2 ng/ml) düzeydedir (11). Buna karşın gebe olan hayvanlarda corpus luteum regrese olmadığından progesteron konsantrasyonu yüksek kalır. Dolayısıyla tohumlama

sonrası 17.-20. günler arasındaki serum progesteron konsantrasyonu yüksek ise hayvan gebe olarak nitelendirilmektedir (8).

Bu yöntem, yüksek doğruluk oranı ile gebelik tanısına olanak sağlamakta (10), ancak her hayvan için tohumlama tarihinin bilinmesini gerektirmektedir. Bu da sıfat sezonu boyunca her gün kızgınlık muayenesi yapılması ve tohumlama tarihine göre belli günlerde her hayvandan tek tek kan alınması sonucunu doğurmaktadır. Tohumlama tarihinin bilinmemesi halinde bu yöntem çalışmamaktadır. Bu durumda, gebelik progesteron değerleri, siklik progesteron konsantrasyonu dalgalanmalarından, 6 gün arayla 3 kez kan progesteron konsantrasyonu tayini yapılarak ayırt edilebilir. Sıfat sezonundaki koyunlar, gebe olmama halinde siklusun hangi evresinde olurlarsa olsunlar, son tohumlamadan 10 -11 gün sonra 6 gün arayla 3 kez kan alınması durumunda teorik olarak enaz bir kere-sinde östrusa yakın bir dönemde bulunacaklar, dolayısıyla kan progesteron konsantrasyonu düşük olacaktır. Gebe olma halinde ise, her defasında progesteron konsantrasyonu yüksek çıkacaktır. Böylece gebe olanlarla olmayanlar birbirlerinden ayırt edilebileceklerdir.

Yine teorik olarak, 10 günlük tohumlama periyodundan sonra 11 gün beklenip 6 gün arayla 2 kez kan progesteron konsantrasyonu tayini yapılırsa, gebe olmayan koyunlar, östrus döneminde yakalanabilecek ve kan progesteron konsantrasyonunun düşük olması ile gebelerden ayırt edilebileceklerdir.

Bu çalışmada, tohumlama tarihi bilinmeden kan progesteron konsantrasyonu tayini ile gebelik tanısının yapılabilirliği iç içe iki araştırmada test edildi.

MATERYAL ve METOD

Bu çalışmada, Bandırma Koyunculuk Araştırma Enstitüsüne ait 28 adet Kıvırcık, 20 adet Dağlıç ve 14 adet Sakız olmak üzere toplam 62 koyun kullanıldı. Çalışmada iç içe iki araştırma birarada yürütüldü (Bkz. Şekil 1).

Araştırma I' de yaklaşık 1 aylık tohumlama süresinden sonra 11 gün beklenip 6 gün arayla 3 kez kan alınarak serum progesteron konsantrasyonlarına göre gebelik tanısı yapıldı.

Araştırma II de 10 günlük tohumlama periyodundan sonra 11 gün beklenip 6 gün arayla 2 kez alınan kan örneklerindeki progesteron düzeyleri gebelik tanısında kullanıldı. Araştırma II' de kullanılmak üzere araştırma I' de kullanılan koyunlardan son 10 gün içinde tohumlananlar (18 adet Kıvırcık, 16 adet Dağlıç, 8 adet Sakız) seçildi.

Her koyunun en düşük serum progesteron konsantrasyonu değerlendirmeye alınarak gebeliği hakkında karar verildi. Bir koyundan alınan kan örneklerinden hepsinde progesteron değeri 2 ng/ml' nin üzerinde ise, o hayvan gebe; kan örneklerinden birinde progesteron konsantrasyonu sınır değerinin altında ise boş olarak nitelendirildi.

Kan örnekleri vena jugularisten alınarak serumları ayrıldı ve işleninceye kadar geçen süre içinde -20 °C' de saklandı. Serum progesteron düzeyleri Türkiye Atom Enerjisi Kurumu Lalahan Hayvan Sağlığı Nükleer Araştırma Enstitüsünde "microtitration plate enzymeimmunoassay" yöntemiyle belirlendi.

Doğumlar tamamlandıktan sonra, bulgularla karşılaştırılarak "Diyagnoz Doğruluğu", "Diyagnoz Duyarlılığı", "Diyagnoz Spesifikliği", "Pozitif Sonuçların Öngörülmesi", "Negatif Sonuçların Öngörülmesi", Haschen ve Neef' in (6) tanımlamasına göre şu şekilde hesaplandı.

$$\text{Diyagnoz Doğruluğu} = \frac{\text{n doğru diyagnoz}}{\text{n muayene edilmiş hayvan}} \times 100$$

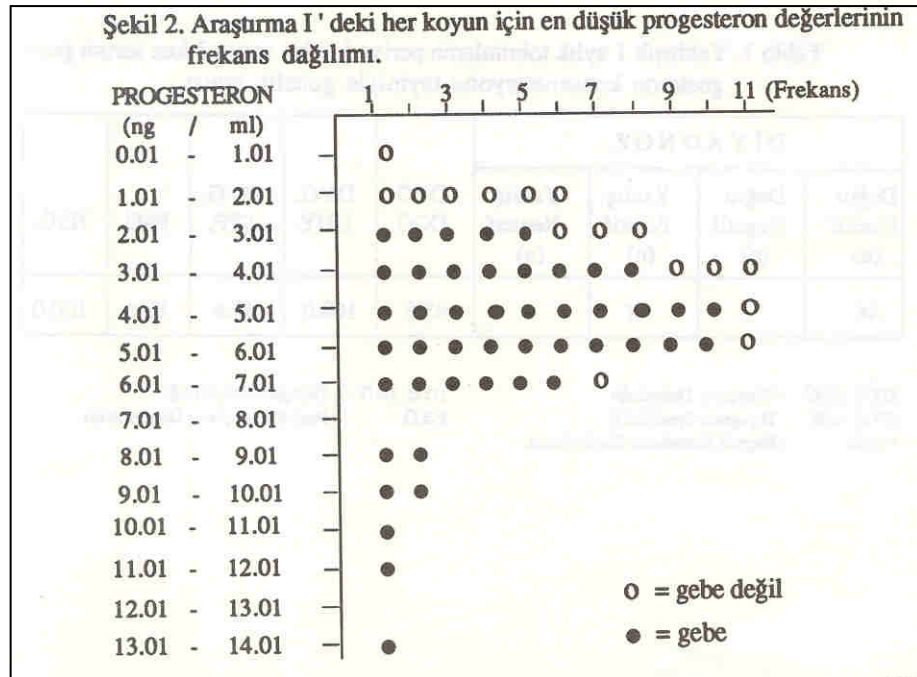
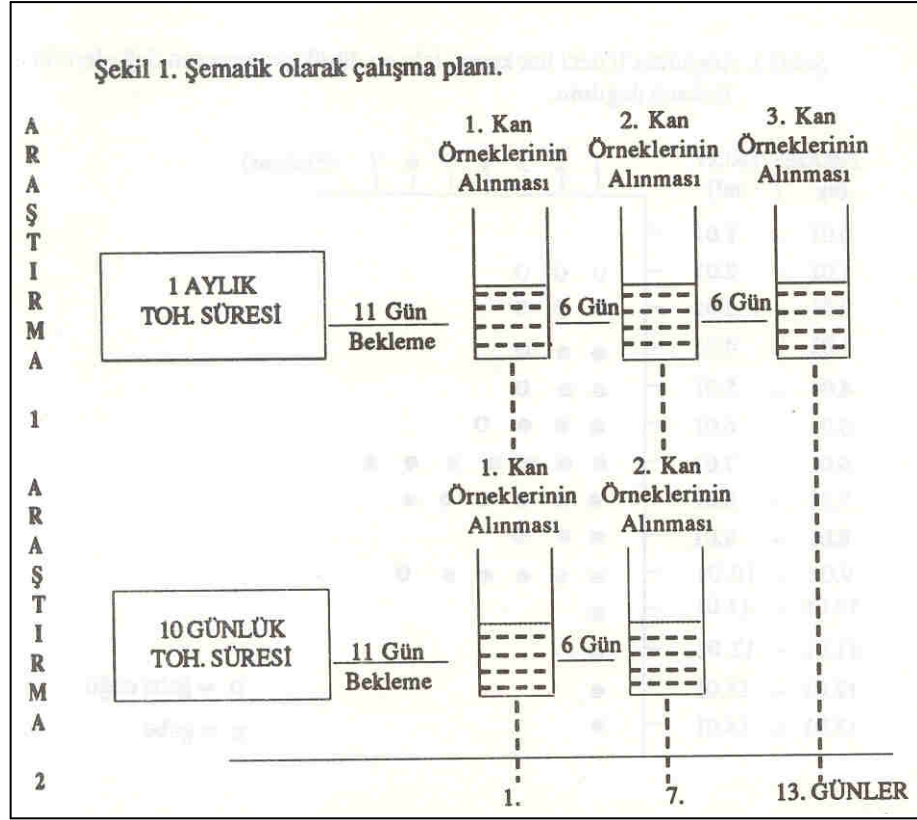
$$\text{Diyagnoz Duyarlılığı} = \frac{\text{n doğru pozitif sonuçlar}}{\text{n gebe hayvanlar}} \times 100$$

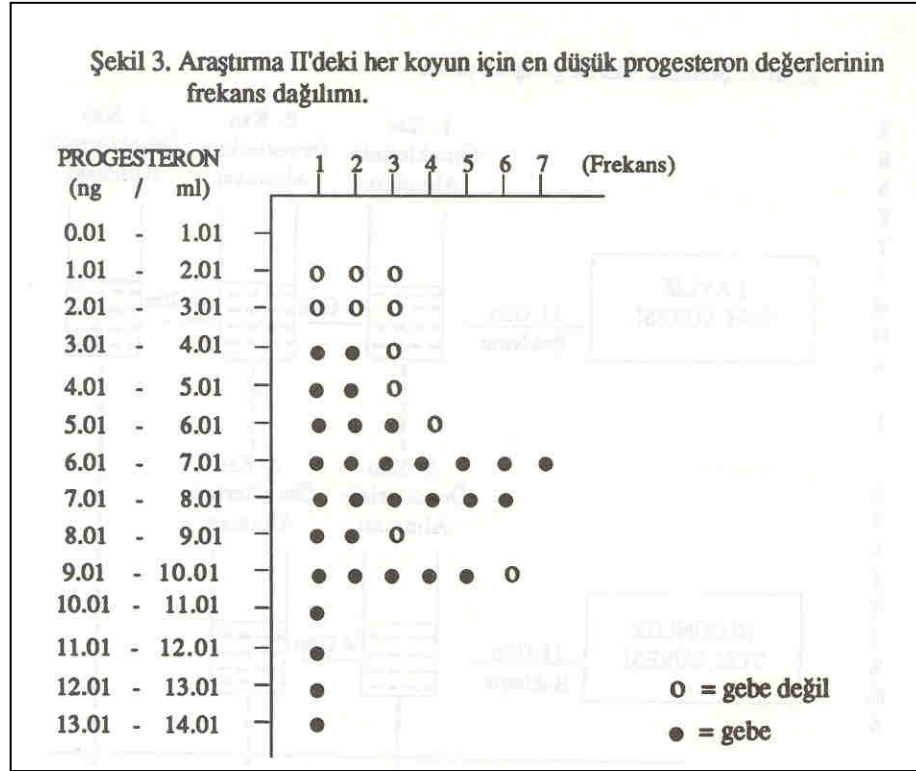
$$\text{Diyagnoz Spesifikliği} = \frac{\text{n doğru negatif sonuçlar}}{\text{n boş hayvanlar}} \times 100$$

$$\text{Pozitif Sonuçların Öngörülmesi} = \frac{\text{n doğru pozitif sonuçlar}}{\text{n toplam pozitif diyagnozlar}} \times 100$$

$$\text{Pozitif Sonuçların Öngörülmesi} = \frac{\text{n doğru negatif sonuçlar}}{\text{n toplam negatif diyagnozlar}} \times 100$$

Araştırma I ve II' deki progesteron değerlerinin frekans dağılımında her koyun için en düşük değer alındı.





Tablo 1. Yaklaşık 1 aylık tohumlama periyodundan sonra 3 kez serum progesteron konsantrasyonu tayiniyle gebelik tanısı.

DİYAGNOZ				DYG. DOĞ.	DYG. DUY.	DYG. SPF.	PSÖ.	NSÖ.
Doğru Pozitif (n)	Doğru Negatif (n)	Yanlış Pozitif (n)	Yanlış Negatif (n)					
46	7	9	-	85.5	100.0	43.8	83.6	100.0

DYG. DOĞ. : Diyagnoz Doğruluğu

DYG. DUY. : Diyagnoz Duyarlılığı

DYG. SPF. : Diyagnoz Spesifikliği

P.S.Ö. : Pozitif Sonuçların Öngörülmesi

N.S.Ö. : Negatif Sonuçların Öngörülmesi.

Tablo 2. On günlük tohumlama periyodundan sonra 2 kez serum progesteron konsantrasyonu tayiniyle gebelik tanısı.

DİYAGNOZ				DYG. DOĞ.	DYG. DUY.	DYG. SPF.	PSÖ.	NSÖ.
Doğru Pozitif (n)	Doğru Negatif (n)	Yanlış Pozitif (n)	Yanlış Negatif (n)					
31	3	8	-	80.9	100.0	27.3	79.5	100.0

DYG. DOĞ. : Diyagnoz Doğruluğu

DYG. DUY. : Diyagnoz Duyarlılığı

DYG. SPF. : Diyagnoz Spesifikliği

P.S.Ö. : Pozitif Sonuçların Öngörülmesi

N.S.Ö. : Negatif Sonuçların Öngörülmesi.

Tablo 3. Bir aylık tohumlama periyodundan sonra 3 kez alınan kan örneklerinde, gebelerdeki progesteron konsantrasyonları.

	n	P R O G E S T E R O N (ng / ml)			
		X	SD	X min.	X max.
1. Kan Örneklerinde	46	9.4	± 3.8	3.6	16.3
2. Kan Örneklerinde	46	9.5	± 3.6	3.3	16.3
3. Kan Örneklerinde	46	6.2	± 3.3	2.2	20.0

Tablo 4. On günlük tohumlama periyodundan sonra 2 kez alınan kan örneklerinde, gebelerdeki progesteron konsantrasyonları.

	n	P R O G E S T E R O N (ng / ml)			
		X	SD	X min.	X max.
1. Kan Örneklerinde	31	10.2	± 4.1	3.6	16.3
2. Kan Örneklerinde	31	9.7	± 3.3	3.3	15.9

BULGULAR ve TARTIŞMA

Çalışma bulguları Tablo 1, 2, 3 ve 4 ile Şekil 2 ve 3' de özet olarak verilmiştir.

Aşım sezonunda, tohumlamadan yaklaşık 17 - 18 gün sonra (gebe kalma halinde sonraki östrusun görüleceği günlerde) kan progesteron değerlerine

bakılarak koyunlarda gebelik tanısı yüksek bir doğruluk oranı ile yapılabilmektedir (10). Erken dönemde gebelik tanısına olanak veren bu yöntemde her hayvanın tek tek tohumlama tarihinin bilinmesi gerekmektedir. Dolayısıyla bu yöntem aşım sezonu boyunca her gün kızgınlık muayenesi yapılmasını ve tohumlama tarihine göre belli günlerde her hayvandan tek tek kan alınmasını gerektirmektedir. Bu da önemli zaman ve iş gücü kaybına yol açmaktadır.

Bu çalışmada, yukarıda sayılan dezavantajlar söz konusu olmadan kan progesteron değerlerine bakılarak gebelik tanısına olanak verebilecek iki yöntem test edildi. İlk yöntemde, yaklaşık bir aylık tohumlama periyodundan sonra 6 gün arayla 3 kez kan progesteron konsantrasyonu tayini ile gebelik tanısı, ikincide ise, 10 günlük tohumlama periyodundan sonra 6 gün arayla iki kez kan progesteron konsantrasyonu tayini ile gebelik tanısı araştırıldı.

Literatürde gebe olanlarla olmayanların kan progesteron konsantrasyonuna göre ayırımında 0.5 ng/ml (8), 1 ng/ml (6) ve 2 ng/ml (1) sınır değer olarak kabul edilip, bu değerlerin üzerinde kan progesteron konsantrasyonuna sahip olanlar gebe, daha düşük değere sahip olanlar ise gebe değil diye nitelendirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan Kıvrıkcık, Dağlıç ve Sakız ırkından her koyun için araştırma I ve II' de en düşük progesteron değeri alınarak frekans dağılımı incelenmiş ve gebe olanlarla olmayanlar arasında iki ayrı gruplaşma saptanamamıştır (Bkz. Şekil 2 ve 3). Dolayısıyla kan progesteron değerlerinin frekans dağılımından giderek bir sınır değer seçmek mümkün olmadığından, Alaçam ve arkadaşlarının (1) kullandığı 2 ng/ml değeri, sınır değer olarak alınmıştır. Buna göre, serum progesteron konsantrasyonlarının değerlendirilmesiyle araştırma I' de % 85,5 oranında ve araştırma II' de % 80,9 oranında doğru gebelik tanısı (diyagnoz doğruluğu) yapılmıştır. Araştırma I ve II' de kullanılan her iki yöntemle de gebe olanların tanısında (diyagnoz duyarlılığı) % 100' lük doğru tanı oranı bulunmuştur. Negatif sonuçların öngörülmesindeki doğruluk oranları, yine her iki yöntemde % 100 iken, pozitif sonuçların öngörülmesindeki doğruluk oranları araştırma I ve II' de sırasıyla % 83,6 ve % 79,5 olarak saptanmıştır.

Çeşitli literatürlerde, tohumlama tarihi dikkate alınarak kan progesteron değerlerine göre yapılan gebelik tanısının doğruluk oranı gebelerde % 78 - 90, gebe olmayanlarda % 86 - 100 olarak bildirilmiştir (1, 7, 8, 12). Bu çalışmada, tohumlama tarihi bilinmeden kan progesteron konsantrasyonlarına göre yapılan gebelik tanısında yukarıdaki oranlar düzeyinde doğruluk oranı bulunmuştur. Yine Döbeli ve Schwander' in (4) araştırma I' deki yöntemi kullanarak elde ettikleri gebelerdeki % 98,8, gebe olmayanlardaki % 100' lük doğru tanı oranları, tohumlama tarihi bilinmeden kan progesteron konsantrasyonlarına göre yapılan gebelik tanısıyla, tohumlama tarihi gözönünde tutularak kan progesteron değerlerine göre yapılan gebelik tanısında olduğu kadar iyi sonuçlar alınabileceğini göstermektedir.

Ancak, bu çalışmada, diyagnoz spesifikliğindeki doğruluk oranı her iki yöntemde de düşük olmuştur. Bunun da nedeni yanlış pozitif diyagnozlardır.

Serum progesteron değerleri, sınır değerinin üzerinde olmasına karşın araştırma I ve II' de sırasıyla 9 ve 8 koyunun doğum yapmaması, bunların seksüel siklus sürelerindeki sapmalardan kaynaklanıyor olabilir. Bu çalışmada, kan örneklerinin alınacağı tarihler, gebe olmama halinde ve normal seksüel siklus süresinde, en azından bir kez östrus dönemine (kan progesteron konsantrasyonlarının düşük olduğu günlere) rastgelecek şekilde planlanmıştır. Bu durum siklus süresinde sapma olması halinde yanlış diyagnozu da birlikte getirmektedir. Bilindiği gibi aşım sezonunun başlangıcında ve sonunda seksüel siklus süreleri değişiklik gösterebilmektedir (11). Bu çalışma da aşım sezonunun sonuna doğru yapıldığından, kullanılan koyunların seksüel siklus süresinde sapma olması büyük bir olasılıktır.

Rawlings ve arkadaşlarının (7), tohumlama tarihini dikkate alarak kan progesteron konsantrasyonuna göre yaptıkları gebelik tanısında, doğruluk oranının sezona göre değiştiğini ve düzensiz seksüel siklus halinde doğruluk oranının % 46' ya kadar düştüğünü bildiren bulguları da yukarıdaki düşünceleri desteklemektedir. Ayrıca hastalık hallerinden ve koyunlarda % 20-30 olduğu bildirilen (5) erken embriyonik ölümlerden kaynaklanan sapmalar da burada gözönünde tutulmalıdır.

SONUÇ

Bu çalışmada kullanılan her iki yöntemle de yüksek bir doğruluk oranı ile gebelik tanısı yapılabilmektedir. Yapılacak araştırmalarla, bu çalışmada da kullanılan yerli koyun ırklarına ait endokrinolojik parametrelere daha açıklık getirilmesi ve çok sayıdaki bulgulardan yola çıkılarak daha güvenilir referans değerlerinin oluşması ile gebelik tanısı daha yüksek bir doğruluk oranı ile yapılabilecektir. Yine her iki yöntemin, aşım sezonu sırasında, seksüel siklusun düzenli olduğu dönemlerde kullanılmasıyla daha iyi sonuçlar alınabilir.

Araştırma I' de kullanılan yöntem, tohumlama tarihi dikkate alınarak kan progesteron konsantrasyonu tayini ile gebelik tanısı yapılan yöntemle göre, büyük bir zaman ve iş gücü kaybına neden olan aşım sezonu boyunca her gün kızgınlık muayenesini ve tohumlama tarihlerine göre her hayvandan değişik günlerde tek tek kan alınmasını gerektirmediği için tercih nedeni olabilir. Türkiye genelinde, yaygın olarak serbest sıfat uygulandığı dikkate alınırca, özellikle kızgınlık muayenesinin ve tohumlamanın kontrollü yapılmadığı bu tür işletmelerde, araştırma I' deki yöntem iyi bir alternatiftir. Böyle işletmelerde birkaç aylık süreyle koç katımından sonra, bu yöntemle kolayca gebelik tanısı yapılabilir.

İlk kez bu çalışmada, araştırma II' de denenen yöntem, özellikle kızgınlıkların 10 güne kadar olan süreç içinde toplulaştırılması ve bu süreç içinde tohumlama yapılması halinde uygulama alanı bulabilecektir.

LİTERATÜR LİSTESİ

1. ALAÇAM, E., DİNÇ, D. A., GÜLER. M., ERÖZ, S ., SEZER, A. N. (1988): Anöstrüs döneminde progesteragen (MAP), PMSG ve GnRH ile senkronize edilen koyunlarda radyoimmunoassay (RIA) yöntemi ile erken gebelik tanısı üzerinde çalışma. S. Ü. Vet. Fak. Dergisi 4. 91 -98.
2. BOSTEDT, H., BERCHTOW, M., GRASSLER, R. (1972): Graviditäts-Diagnose beim Schaf mit Hilfe von Zervikalschleim- Untersuchungen. Schw. Arch. Tierhkd. 114, 119 -128.
3. DOĞANELİ, M. Z., TANYOLAÇ, A., ALAÇAM, E. (1980): Koyunlarda gebeliğin çeşitli evrelerinde vaginal smear ve vaginal biyopsi yöntemleriyle çalışmalar. A. Ü. Vet. Fak. Dergisi 26. 177 -183.
4. DÖBELI. M., SCHWANDER. B. (1985): Trachtigkeitsdiagnose in einer Schafherde anhand dreimaliger Progesteronbestimmung im Blutplasma. Zuchthyg. 20, 192 -199.
5. EDEY. T. N. (1976): Embryo mortality in sheep breeding. Proceedings of the 1976 Int. Congress, Muresk. Pub. Western Australian Institute of Technology, P. 315.
6. HASCHEN, R.J., NEEF, L. (1980): Diagnosestrategie. Beurteilung von Laborparametern und Wege zur Auffindung Optimaler Parameter. Z. Med. Lab. Diag. 21, Beilage.
7. RAWLINGS, N. C., JEFFCOATE, I. A., SAVAGE, N. C., STEUART. D. M. K., STEUART, L. H. M.(1983): Pregnancy diagnosis and assessment of fetal numbers in the ewe in a commercial setting. Theriogenology 19, 655 -663.
8. SCHAEZT, F. (1983): Trachtigkeitsfeststellung bei Schaf und Ziege. In Fortpflanzungsstörungen bei den Haustieren, 6. Auflage, Eds.: F. Schaez, W. Leidl, Enke Verlag. Stuttgart. 437 -440.
9. SCHEIBE, K. M., EMELING. G., MARSHAIL. L. (1986): Vergleichende Untersuchung zur Trachtigkeitsdiagnose beim Schaf Mh. Vet. Med. 41, 158 -164.
10. ÜNAL, E. F., EROĞLU. A., DELİĞÖZOĞLU. F., NAK, Y. (1992): Koyunlarda gebelik tanısı ve yavru sayısının belirlenebilmesi konusunda karşılaştırmalı çalışmalar. U. Ü. Vet. Fak. Derg., 11, 2. 101 -112.
11. WARD, W. R. (1986): The Breeding season and the estrous cycle. In current therapy in theriogenology, second edition. Ed.: D. A. Morrow. Saunders, Philadelphia, 846 -847.
12. WEST, D.M.(1986): Pregnancy diagnosis in the ewe. In current therapy in the-riogenology. second edition, Ed.:D.A. Morrow, Saunders. Philadelphia. 850-852.