

**T.C.**  
**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ**  
**SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNEKLERDE ERKEN GEBELİK TANISINDA FASSİSİ®BOVIPREG  
TEST KİTİNİN TAM KAN VE KAN SERUMUNDA ETKİNLİĞİNİN  
ARAŞTIRILMASI**

**(YÜKSEK LİSANS TEZİ)**

**Veteriner Hekim Ozan KARAKUŞ**

**DANIŞMAN**  
**Prof. Dr. Cihan KAÇAR**

**DOĞUM VE JİNEKOLOJİ ANABİLİM DALI**

**2017-KARS**

**T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNEKLERDE ERKEN GEBELİK TANISINDA  
FASSİSİ®BOVIPREG TEST KİTİNİN TAM KAN VE KAN  
SERUMUNDA ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim Ozan KARAKUŞ  
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Cihan KAÇAR**

**2017-KARS**

**T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**İNEKLERDE ERKEN GEBELİK TANISINDA  
FASSİSİ®BOVIPREG TEST KİTİNİN TAM KAN VE KAN  
SERUMUNDA ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Veteriner Hekim Ozan KARAKUŞ  
Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Cihan KAÇAR**

**2017-KARS**

**Bu çalışma KAÜ Araştırma Fonu (Proje No: 2016-TS-59) tarafından desteklenmiştir.**

T.C.  
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Veteriner Hekim Üsteğmen Ozan Karakuş tarafından hazırlanmış olan “**İneklerde Erken Gebelik Tanısında Fassisi® Bovipreg Test Kitinin Tam Kan ve Kan Serumunda Etkinliğinin Araştırılması**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sonucunda jüri üyeleri tarafından Lisansüstü Eğitim ve Öğretim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy ...**birliği**... ile ... **Kabul**... edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 08/12/2017

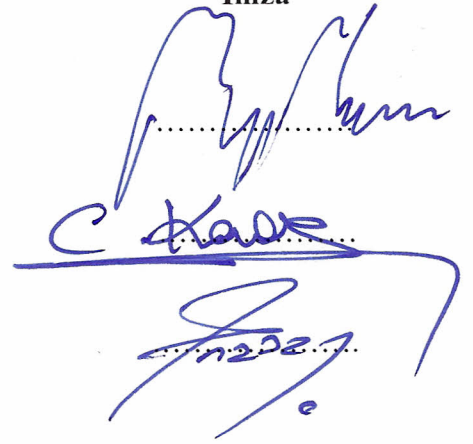
**Adı-Soyadı**

Başkan: Prof. Dr. Rifat VURAL

Üye: Prof. Dr. Cihan KAÇAR

Üye: Prof. Dr. Hasan ORAL

**İmza**



Bu tezin kabulü, Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun ...../...../..... gün ve ..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

**Doç. Dr. Duygu KAYA**  
**Enstitü Müdürü**

## ÖNSÖZ

Günümüze kadar çiftlik hayvanlarında gebelik muayenesi ile ilgili birçok yöntem geliştirilmiştir. Bu yöntemlerde temel amaç suni tohumlama sonrası en erken günde gebe hayvanların belirlenmesidir. Bu sayede gebe kalmayanlar ile ilgili stratejiler geliştirilerek üremenin denetlemesi için yeni manüplasyonlar yapılabilir.

Çiftlik hayvanlarında gebelik muayenesi için en sık başvuru yöntem rektal muayene ve transrektal ultrasonografidir. Söz konusu uygulamalardan farklı olarak biyokimyasal testler ile indirekt olarak da gebelikler belirlenmeye çalışılmaktadır. Özellikle biyokimyasal testler için laboratuvar ortamlarına ihtiyaç duyulması indirekt testlerin kullanılabilirliğini olabildiğince sınırlamaktadır.

Son yıllarda ineklerde gebelik durumlarında sentezlenen ve gebelik ile alakalı bazı proteinlerin ölçümü ile gebelik teşhisi yapılabilmektedir. Yine saha koşullarında gebelik teşhisi için kullanılabilen hızlı test kitlerinin üretilmesi kan kaynaklı hormon ve gebelik ile ilgili proteinlerin ölçümünde laboratuvara olan bağılılığı azaltabilecektir. Fakat hızlı test kitleri ile elde edilecek bulguların güvenilirliğinin olabildiğince yüksek olmasına ihtiyaç vardır. Bundan dolayı da bu konuda detaylı çalışmaların yapılması gerekmektedir.

Bu çalışmada; Türkiye’de ilk defa saha koşullarında, ineklerde gebeliğin 30. ve 50. günlerinde, gebelik tanısı amacıyla tam kan ve kan serumunda erken gebelik spesifik proteini göstergesi olan Fassisi® BoviPreg test kitinin etkinliğini ortaya koymak amaçlandı. Bu test kitinin uygulanmasında erken gebelik spesifik proteinin miktarı direkt olarak ölçülmeyecek, inekler gebe ve gebe değil şeklinde değerlendirilecektir. Bu çalışmadan elde edilecek bulguların özellikle saha şartlarında çalışan meslektaşlarımız veteriner hekimlere bu test ile ilgili bilgi sağlayacağı kanaatindeyiz.

## TEŞEKKÜRLER

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım, tez çalışmam boyunca katkı desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen ve öğrencisi olmaktan gurur duyduğum saygıdeğer danışmanım Prof. Dr. Cihan KAÇAR'a,

Tezimin her aşamasında katkı ve desteklerini esirgemeyen Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Doğum ve Jinekoloji Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Hasan ORAL, Doç. Dr. Duygu KAYA, Yrd. Doç. Dr. Semra KAYA ve Yrd. Doç. Dr. Mushap KURU ve Doktora Öğrencisi Murat Can DEMİR'e

Saha çalışmalarında yardımlarından dolayı Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dölerme ve Suni Tohumlama Anabilim Dalı öğretim üyeleri Prof. Dr. Yavuz ÖZTÜRKLER ve Doç. Dr. Umut Çağın ARI'ya,

Saha ve laboratuvar çalışmalarımda elde ettiğimiz verilerin istatistiksel olarak sonuçlarını değerlendiren Ankara Üniversitesi Veteriner Fakültesi Biyoistatistik Anabilim Dalı öğretim üyesi Dr. Doğukan ÖZEN'e,

Yaşamım boyunca destek ve sevgileriyle sürekli yanımda olan, beni motive eden, sevgilerini bir an bile eksik etmeyen eşim Meltem KARAKUŞ'a ve aileme en samimi duygularıyla teşekkür ederim.

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
Kısaltmalar ve Simgeler	I
Şekiller Dizini	II
Grafikler Dizini	III
Tablolar Dizini	IV
Özet	V
Summary	VII
<b>1. GİRİŞ</b>	1
1.1. Gebelik Tanısının Ekonomik Önemi	2
1.2. İdeal Bir Gebelik Testinin Özellikleri	2
1.3. İneklerde Gebelik Tanı Yöntemleri	3
1.3.1. Direkt Yöntemler	5
1.3.1.1. Rektal Palpasyon	5
1.3.1.2. Real-time Transrektal Ultrasonografi	6
1.3.2. Endirekt Yöntemler	8
1.3.2.1. Progesteron	9
1.3.2.2. Gebelikle İlişkili Proteinler	9
1.3.2.3. Erken Gebelik Faktörü/Erken Konseption Faktör	9
1.3.2.4. İnsulin Uyarımlı Gen Ekspresyonu (ISGs)	10
1.3.2.5. Gebelik İlişkili Glikoproteinler	11
<b>2. MATERYAL VE METOT</b>	15
2.1. Hayvan Materyali	15
2.2. Etik Kurul	15
2.3. Çalışma Prosedürü	15
2.4. İstatistiksel Analiz	20
<b>3. BULGULAR</b>	21
<b>4. TARTIŞMA</b>	29
<b>5. SONUÇ</b>	35
<b>KAYNAKLAR</b>	37
<b>ÖZGEÇMİŞ</b>	43

**KISALTMALAR ve SİMGELER**

<b>bPAG</b>	Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein
<b>bPAGs</b>	Pregnancy-associated glycoproteins B
<b>bPSPB</b>	Sığır Gebelik Spesifik Protein B
<b>CL</b>	Korpus Luteum
<b>cm</b>	Santimetre
<b>ECF</b>	Early conception factor
<b>ECLIA</b>	Electrochemiluminescent Immunoassay
<b>ELISA</b>	İmmunosorbent Assay
<b>EPF</b>	Erken Gebelik Faktörü
<b>EPF-A</b>	Erken Gebelik Faktörü-A
<b>EPF-B</b>	Erken Gebelik Faktörü-B
<b>IFN-<math>\tau</math></b>	İnterferon Tau
<b>ISG</b>	İnterferon İle Uyarılan Genler
<b>ISGs</b>	İnsulin Uyarımlı Gen Ekspresyonu
<b>mL</b>	Mililitre
<b>ng</b>	Nanogram
<b>P</b>	Olasılık
<b>P4</b>	Progesteron
<b>PAG</b>	Gebelik Spesifik Protein
<b>PCR</b>	Polymerase Chain Reaction
<b>PGF2 alfa</b>	Prostaglandin F2 alfa
<b>PSP</b>	Gebelik Spesifik Protein
<b>RIA</b>	Radyoimmunoassay
<b>SEM</b>	Standart error of mean
<b>USG</b>	Ultrasonografi
<b><math>\mu</math>L</b>	Mikrolitre
<b>°C</b>	Santigrat derece
<b>&gt;</b>	Büyük
<b>&lt;</b>	Küçük
<b>%</b>	Yüzde



**ŞEKİLLER DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Şekil 1</b> İneklerde gebelik için dört kimyasal test	4
<b>Şekil 2</b> Yirmisekiz günlük gebeliğin B-Mod ultrasonografi ile belirlenmesi	8
<b>Şekil 3</b> İneklerde çalışmanın uygulama şeması	16
<b>Şekil 4</b> Fassisi®BoviPreg Test Kiti	17
<b>Şekil 5</b> İneklerde kan serumunda Fassisi®BoviPreg Test Kiti uygulaması. Gebe ve gebe negatif test kitleri.	17
<b>Şekil 6</b> İneklerde tam kanda Fassisi®BoviPreg Test Kiti uygulaması. Gebe ve gebe negatif test kitleri.	18
<b>Şekil 7</b> İneklerde serum ve tam kanda Fassisi®BoviPreg Test Kiti uygulaması: Gebelik negatif ineklerde “T” harfi hizasında kırmızı çizgi belirlenmedi.	19

## GRAFİKLER DİZİNİ

		Sayfa No
<b>Grafik 1</b>	Gebe Nelore ırkı ineklerde gebeliğin 0. gününden 30. gününe kadar sığır gebelik ilişkili glikoproteinlerin (bPAG) serum konsantrasyonları	12
<b>Grafik 2</b>	Suni tohumlamadan 28 gün sonra canlı embriyo ve gebeliğin 100. gününe kadar embriyonik ölüm şekillenen etçi Nelore ırkı ineklerde ortalama serum bPAG konsantrasyonu	13
<b>Grafik 3</b>	Brangus ve Angus ırkı ineklerde gebelik günleri ve bu günlerdeki plazma PAG konsantrasyonu	13
<b>Grafik 4</b>	Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ırkı ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda sensitivite ve spesifite oranları (%)	25
<b>Grafik 5</b>	Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ırkı ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda spesifite oranları (%)	26
<b>Grafik 6</b>	Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoruna göre serumda sensitivite ve spesifite oranı (%)	27
<b>Grafik 7</b>	Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoruna göre tam kanda sensitivite ve spesifite oranı (%)	28
<b>Grafik 8</b>	Çalışmaki gebe hayvan sayıları ve embriyonik ölümler	28

**TABLolar DİZİNİ**

	<b>Sayfa No</b>
<b>Tablo 1</b> İneklerde gebelik tanı yöntemleri	4
<b>Tablo 2</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra yapılan değerlendirmede sensitivite ve spesifite oranları	21
<b>Tablo 3</b> İneklerde suni tohumlamadan 50 gün sonra yapılan değerlendirmede sensitivite ve spesifite oranları	21
<b>Tablo 4</b> İneklerde 30 ve 50. günlerdeki doğruluk oranları	22
<b>Tablo 5</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serum ve tam kanda pozitif tanımlama, negatif tanımlama, yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları	22
<b>Tablo 6</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra gebe ve gebe olmayan ineklerde serum progesteron düzeyleri	23
<b>Tablo 7</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serum progesteron düzeyleri ile serumdan Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen gebelik oranlarının karşılaştırılması	23
<b>Tablo 8</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serumda Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen gebelik oranlarının serum progesteron düzeyleri ile karşılaştırılması	24
<b>Tablo 9</b> İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra tam kanda Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen parametrelerin serum progesteron düzeyleri ile karşılaştırılması	24

## ÖZET

Bu araştırmada Türkiye’de ilk defa saha koşullarında, ineklerde gebeliğin 30. ve 50 günlerinde, gebelik tanısı amacıyla ELISA ve RIA yöntemleri kullanılmadan, tam kan ve kan serumunda erken gebelik spesifik proteinin (PAG) göstergesi olan Fassisi® BoviPreg test kitinin etkinliğini ortaya koymak amaçlandı.

Sunulan araştırma Kars ilinde suni tohumlama tarihleri kayıtlı olan 50 baş inekte yapıldı. Suni tohumlamadan 30 ve 50 gün sonra heparinli ve boş tüplere serum ve tam kan için *vena cocygea*dan kan örnekleri alındı. Bu uygulamalardan hemen sonra transrektal ultrasonografi (Sonosite Titan®, Sonosite, USA) ile gebelik durumları kontrol edildi. Alınan tam kanda hemen saha koşulunda 15-30°C olan bir ortamda gebelik tanısı için Fassisi® BoviPreg Test Kiti (Fassisi, Goettingen, Germany) uygulaması üretici firmanın belirttiği şekilde yapıldı. Boş tüplere alınan kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Serumlar mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve progesteron ölçümleri yapıncaya kadar -20°C’de depolandı. Aynı zamanda elde edilen serumlarda Fassisi® BoviPreg Test Kiti uygulamalarıyla gebelik durumları tespit edildi. Hem serum hem de tam kanda gebelik durumları gebe, gebe değil şeklinde tespit edildi. Kan serumlarında; progesteron düzeyi analizi özel bir laboratuvarında Electrochemiluminescent Immunoassay (ECLIA) yöntemi ile Test Roche E170 analizatöründe gerçekleştirildi. Çalışmada sensitivite, spesifite, pozitif tanımlama, negatif tanımlama ve doğruluk oranı gibi parametreler belirlendi.

Transrektal ultrasonografi 30. gün yapılan gebelik muayenesinde %52 oranında gebelik tespit edildi (26/50). İneklerde 30. gün yapılan testte serum ve tam kandaki sırasıyla sensitivite oranları %61,54 ve %50,0, spesifite oranı %79,17 ve %75,0, doğruluk oranı %70,0 ve %62,0 pozitif tanımlama %76,2 ve %68,4, negatif tanımlama %65,5 ve %58,1, yanlış pozitif %23,8 ve %31,6, yanlış negatif %34,5 ve %41,9 olarak belirlendi. Ellinci günde ise serum ve tam kanda sırasıyla sensitivite %63,64 ve %50,0, spesifite oranı ise hem serum hem de tam kanda %100,0, doğruluk oranı %75,0 ve ve %65,62 olarak tespit edildi.

Gebe ineklerdeki progesteron düzeyi ortalama  $8,3\pm 3,5$  ng/mL iken gebe olmayan ineklerde  $2,5\pm 3,1$  ng/mL tespit edildi ( $P<0,001$ ). Otuzuncu gün serum

progesteron düzeyi 5 ng/mL'den yüksek olanlarda Fassisi® BoviPreg Test kiti uygulamaları ile daha yüksek gebelik oranlarına ulaşıldı ( $P<0,001$ ).

Simental ineklerin serumunda sensitivite oranlarının Brown Swiss ırkı ineklere göre daha yüksek olduğu belirlendi. Otuzuncu gün vücut kondüsyon skoru (VKS) 3 ve üzerinde olanlarda serumunda sensitivite oranı %83,33 ve VKS 3'ün altında olanlarda ise %12,50 olarak tespit edildi. Ellinci gün yapılan ultrasonografik görüntüleme %15,4 oranında embriyonik ölüm tespit edildi.

Sonuç olarak; ineklerde gebeliğin 30 ve 50. günlerinde, gebelik tanısı amacıyla kullanılan Fassisi® BoviPreg test kitinden elde edilen bulgulara göre kan serumunda bu testi uygulamanın tam kana göre daha faydalı olabileceği ve 50. gün hem tam kan hem de serum spesifite değerinin en güvenilir gösterge olduğu kanısına varıldı. Erken gebeliklerin tespitinde kullanılan Fassisi® BoviPreg test kiti ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.

**Anahtar kelimeler:** Erken gebelik, Fassisi®, İnek, PAG, Progesteron

**Investigation of Efficacy of Fassisi<sup>®</sup> BoviPreg Test Kit on Early Pregnancy  
Determination from Whole Blood and Blood Serum in Cows**

**SUMMARY**

In this study, it was aimed to primarily reveal efficacy of Fassisi<sup>®</sup> BoviPreg test kit, determining early pregnancy specific glycoprotein (PAG) from whole blood and blood serum at day 30 and 50 of pregnancies in cows, instead of conventional usage of ELISA and RIA methods, in Turkey's field condition. Presented study was carried out on 50 head cows, whose artificial insemination dates had been recorded. Blood samples from *vena cocygea* were collected in sampling tubes containing heparin to obtain whole blood and serum on days 30 and 50 following AI. Pregnancies were controlled with transrectal ultrasonography (Sonosite Titan<sup>®</sup>, Sonosite, USA) immediately after blood sampling. Application of Fassisi<sup>®</sup> BoviPreg Test Kit (Fassisi, Goettingen, Germany) were carried out according to instruction of producer with collected whole blood in field condition at 15-30°C ambient air temperature. Blood in sampling tubes were centrifuged at 3000 rpm for 10 min to obtain serum samples. Then, serum samples were transferred to micro-centrifuge tubes and stored at -20°C until progesterone measurements. Serum samples were simultaneously used to determine pregnancy condition with Fassisi<sup>®</sup> BoviPreg Test Kit. Pregnancy conditions of animals were determined as pregnant or not pregnant from whole blood and serum. Progesterone levels in serum samples were analyzed with Electrochemiluminescent Immunoassay (ECLIA) method in a special biochemical laboratory. Sensitivity, specificity, positive predictive value, negative predictive value and accuracy ratios etc. were determined in current study. Fifty two percent pregnancy rate (26/50) was determined with transrectal ultrasonography at day 30 in current study. Parameters at day 30 were determined as following: sensitivity rates were 61.54 and 50.0%; specificity rates were 79.17 and 75%; accuracy rates were 70.0 and 62.0%; positive predictive values were 76.2 and 68.4%; negative predictive values were 65.5 and 58.1%; incorrect positive diagnoses were 23.8 and 31.6%; incorrect negative diagnoses were 34.5 and 41.9% in serum and whole blood samples, respectively. Sensitivities were 63.64 and 50.0%, specificities were 100.0% in both, accuracies were 75.0 and 65.62% in serum and whole blood at

day 50<sup>th</sup> of pregnancy, respectively. While mean progesterone level in pregnant cows was  $8.3 \pm 3.5$  ng/mL, it was determined as  $2.5 \pm 3.1$  ng/mL in non-pregnant cows ( $P < 0.001$ ). Higher pregnancy rates were obtained with Fassisi<sup>®</sup>BoviPreg Test kit in cows with 5 ng/mL and higher progesterone levels ( $P < 0.001$ ). It was determined that sensitivity rates from serum in Simmental cows were higher than those in Brown Swiss cows. While, serum sensitivity rate was 83.33% in cows with 3 and higher body condition score (BCS), this were determined as 12.5% in cows with BCS lower than 3. Embryonic lost were determined as 15.4% with USG examination at day 50. In conclusion, results obtained from Fassisi<sup>®</sup>BoviPreg test kit at day 30<sup>rd</sup> and 50<sup>th</sup> of pregnancy in cows showed that usage of blood serum in this kit is more accurate and beneficial instead of usage of whole blood. Moreover, it was concluded that specificity is more confidential at day 50<sup>th</sup>. It is needed to carry out new and future studies related with Fassisi<sup>®</sup>BoviPreg test kit, used for determination of early pregnancy.

**Key words:** Cow, Early pregnancy, Fassisi<sup>®</sup>, PAG, Progesterone

## 1. GİRİŞ

İneklerde gebelik durumunun doğru bir şekilde erken dönemde bilinmesi ekonomik açıdan oldukça önemlidir. Böylece gebe olmadığı belirlenen inek çeşitli senkronizasyon protokollerine alınarak daha kısa sürede gebe bırakılabilecektir. İneklerde erken gebelik tanısı daha sonraki seksüel siklusların takibinin yapılması açısından önemlidir. Gebe olmayan ineklerin belirlenmesiyle gebe kalmaları için gerekli tedavi ve girişimlerin uygun zamanda yapılması sağlanmaktadır. Ayrıca sorunlu olduğu tespit edilen ineklerin sürüden çıkarılması sağlanır. Böylece seksüel siklusların gözden kaçırılması sonucu oluşacak ekonomik kayıplar önlenmektedir.

Günümüzde gebelik teşhisinde kullanılan birçok yöntem (rektal muayene, transrektal ultrasonografi ve kan-süt progesteron düzeyinin ölçümü vb.) mevcuttur. Rektal muayene ile gebelik teşhisi özellikle erken dönemler de hatalı negatif-pozitif sonuçlara neden olabilmektedir. Ultrasonografik muayene ise erken dönemde oldukça yüksek doğrulukta bilgi vermesine rağmen ultrasonografi cihazının fiyatına bağlı ekonomik giderin fazla olması ve deneyim gerektirmesi dezavantaj oluşturmaktadır. Kan-süt progesteron düzeylerinin analizleri için laboratuvar ortamının gerekmesi ve ölçümlerinin uzun zaman alması aktif olarak kullanımını sınırlandırmaktadır. Gebelik tespiti için kullanılan hızlı test kitlerinin fiyatının uygun olması, uzun zaman gerektirmemesi, pratik olması ve iş gücünü azaltması gibi pek çok faydasının vardır. Ayrıca bu uygulamalarda radyoimmunoassay (RIA) veya enzim bağlı immunosorbent assay (ELISA) tanı yöntemlerinde olduğu gibi bir araştırma laboratuvarına gerek duyulmamaktadır. Hızlı test kitlerinin yapılışı son derece kolay ve basittir. Ayrıca teknik bilgi gerektiren ve mali anlamda yük getiren transrektal ultrasonografi kullanımına ihtiyaç duyulmamaktadır.

İneklerde erken gebelik spesifik proteini (PAG), erken gebelik tanısı amacıyla kullanılmaktadır. Ancak pratik olarak bu proteinin göstergesi olan Fassisi® BoviPreg Test Kiti Türkiye’de saha koşullarında kullanılmamıştır.



### 1.1. Gebelik Tanısının Ekonomik Önemi

İnek işletmelerinde reproduktif performans çiftliğin karlılığına etki eder. Reprodüktif verimsizlik süt verimi ve doğan yavru sayısını düşürür, veteriner hekim harcamalarını artırır ve sürüden çıkarma oranına etki eder (Gröhn ve ark. 1998). İnek yetiştiriciliğinde gebeliğin erken dönemde belirlenmesi ekonomik anlamda çok önemli bir yer tutmaktadır. Gebe olmayan ineklerin belirlenmesi, sorunların ortaya konularak tespit edilmesi ve tedavi uygulamalarının yapılması ekonomik açıdan önem arz etmektedir. İneklerde çok sayıda gebelik tanı yöntemleri bulunmasına rağmen doğruluk oranı yüksek ve hata payı düşük olan gebelik tanı yöntemleri sınırlıdır (Vural ve ark. 2015). Bir sürüde; ortalama veya kötü bir reproduktif performans, yıllık inek başına 34 Euro ile 231 Euro arasında ekonomik kayba yol açmaktadır (Inchaisri ve ark. 2010). Bir ineğin sürüden çıkarılmasını birçok faktör etkilemektedir. Örneğin; gebe olmayan ineklerin gebe ineklere göre 7 kez daha fazla sürüden çıkarılma ihtimali vardır (Gröhn ve ark. 1998). İneklerde iki buzağılama aralığının 12 aydan 13 aya uzaması günlük 1,5 Euro ekonomik kayba yol açmaktadır (Huirne ve ark. 2002).

### 1.2. İdeal Bir Gebelik Testinin Özellikleri

Süt inekleri için ideal bir erken gebelik testi aşağıdaki kriterleri karşılamalıdır (Fricke ve ark. 2016):

1. Yüksek sensitivite (Gebe hayvanların doğru şekilde tanımlanması)
2. Yüksek spesifite (Gebe olmayan hayvanlara doğru şekilde tanımlanması)
3. Uygulanan yöntemin ucuz olması
4. Arazi koşullarında basit şekilde uygulanması
5. Testin yapıldığı andaki gebelik durumunu belirleme yeteneği

İdeal bir erken gebelik testinin özelliği, testi gerçekleştirmek için inekte herhangi bir fiziksel olarak uygulamaya gerek kalmadan gebelik durumunu belirlenmesidir. Böyle bir test ile süt ineklerinde suni tohumlamadan 28-35 gün sonra gebelik teşhisinin ekonomik olarak uygulanabilirliği bir reproduktif yönetim stratejisi haline getirilebilir (Fricke ve ark. 2016).

Sığır embriyoları, ovulasyondan 15-17 gün sonra sinyal göndererek varlıklarını bildirirler, böylece korpus luteum muhafaza edilir ve yeni bir östrus siklusu engellenir (Zemjanis ve ark. 1969). Doğal östrusa göre çiftleştirilen etçi inek sürülerinde, yetiştiriciler çiftleşmeden sonra ineklerde tekrar östrus belirtileri fark edebilirler. Bu durum, infertil bir boğa, bulaşıcı bir hastalığın varlığı veya infertiliteye yol açan başka bir faktöre işaret eder ve yetiştirme mevsimi sona ermeden önlem alınma şansı vardır. Gebe ineklerin bazılarında hafif östrus belirtileri görülebilmekte ve gebe olmadığı düşünülmektedir. Bu tip gebe ineklerde suni tohumlama sırasında servikal kanaldan tamamen geçildiğinde fetal membranlar bozulursa ineğin gebeliği sonlanabilir (Youngquist 2006).

Suni tohumlamadan 18-32 gün sonra tekrar östrus belirtileri gösteren ineklerin doğru bir şekilde saptanması, suni tohumlamadan sonra erken dönemde gebelik kontrolünün yapılması için kolay ve az maliyetli yöntemler kullanılmalıdır. Amerika Birleşik Devletleri'nde, ineklerde östrus tespitinin %50'den daha az olduğu tahmin edilmektedir (Senger 1994). Bu durum östrojenik sürenin inekler arasında bireysel olarak farklı olmasına bağlanmaktadır (Remnant ve ark. 2015).

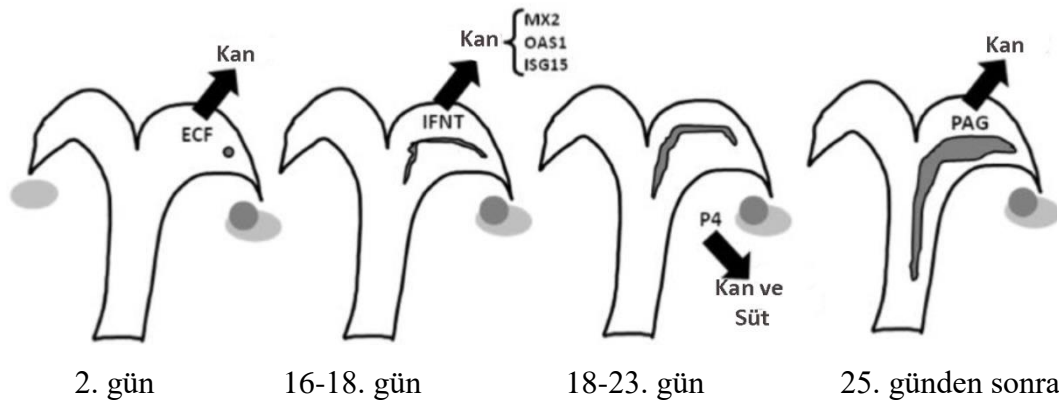
### **1.3. İneklerde Gebelik Tanı Yöntemleri**

İneklerde gebelik tanısı; direkt yöntemleri ve endirekt metotlar kullanılarak yapılabilmektedir. Klinik muayene yöntemleri olarak gözlem, rektal palpasyon ve ultrasonografik muayene kullanılmaktadır. Laboratuvar yöntemleri olarak ise süt/kan, plazma/serum progesteron seviyeleri, erken gebelik faktörü ve gebelik spesifik protein B'nin belirlenmesidir (Tablo 1, Vural ve ark. 2015).

**Tablo 1.** İneklerde gebelik tanı yöntemleri (Vural ve ark. 2015)

Gebelik Tanı Yöntemleri	Gebelik Dönemleri						
	İlk 24 saat	15-18 gün	19-24 gün	35-60 gün	2,5-4,5 ay	4,5-6,5 ay	6,5 ay-doğum
Erken gebelik faktörü	+						
Gebelik spesifik protein B		+	+	+	+	+	+
Gözlem			Gebe şüpheli				
Progesteron			Gebe şüpheli				
Ultrasonografik muayene			+	+	+	+	+
Rektal palpasyon				+	+	+	+

Sığırlarda gebelikle bağlantılı bir dizi molekül bulunmaktadır (Şekil 1). Bu moleküller arasında "erken gebelik faktörü", interferon ile uyarılan genler (ISG), progesteron ve gebelik ilişkili glikoproteinler (PAG) bulunur (Lucy ve ark. 2011).



**Şekil 1.** İneklerde gebelik için dört kimyasal test. Gebelik, suni tohumlamadan sonra kandaki farklı kimyasalları ölçerek farklı aralıklarla tespit edilebilir. Bu şekilde uterus, embriyo (uterus kornusu içindeki gri yapı) ve ovaryum (dairesel korpus luteumlu ovoid yapı) gösterilmektedir. ECF testi (en solda) 2. günde doğru olarak rapor edildi, ancak testin daha sonra herhangi bir zamanda hatalı olduğu gösterildi. Diğer testler, interferon- $\tau$  (16-18 gün), kan veya süttten (18-23. gün) progesteron veya gebeliğe bağlı glikoproteinler (PAG; 25. günden sonra) ölçmektedir (Lucy ve ark. 2011).

### 1.3.1. Direkt Yöntemler

Gebelik tanısında kullanılan direkt yöntemler arasında transrektal palpasyon ve B-mod ultrasonografi bulunmaktadır. Teknik uzmanlık, operatör yeterliliği ve suni tohumlamadan sonra tekniğin uygulanma aşaması testin özgüllüğünü ve duyarlılığını etkileyebilir. Bununla birlikte, deneyimli veteriner hekimler her iki yöntemle de yüksek hassasiyet ve doğruluk sağlayabilirler (Fricke ve ark. 2016).

#### 1.3.1.1. Rektal Palpasyon

Rektal palpasyon son yüzyılın başından beri gebelik tanısında en yaygın yöntem olmuştur (Cowie 1948, Benesch ve Wright 1951, Zemjanis 1970, Roberts 1986, Alaçam 1990, Jephcott ve Norman 2004, Youngquist 2006).

Gebelik ineklerde transrektal palpasyon ile muayene, bazı çalışmalarda iyatrojenik gebelik kaybı riskini artırdığı bildirilirken, bazı araştırmalarda ise gebelik kaybı riskinde azalma olduğu veya rektal palpasyondan sonraki gebeliklere herhangi bir etkisinin olmadığı bildirmiştir. Deneyimli bir veteriner hekim suni tohumlama veya aşımı izleyen 30 gün içerisinde gebelik tanısını gerçekleştirebilir (Studer 1969, Alaçam 1990, Thurmond ve Picanso 1993).

Süt ineklerinde gebelik tanısı için transrektal palpasyon yöntemi, yüksek doğruluk ve düşük maliyeti nedeniyle, daha yeni yöntemler geliştirilinceye kadar gebelik tanısında popüler bir yöntem olmaya devam edecektir (Fricke ve ark. 2016).

Rektal palpasyon yöntemi ile fetal membranların kayması, amniyon kesesinin, plasentomların ve fötusun palpasyonu belirlenmektedir. Fetal membranların kayması gebeliğin 30-35. günleri arasında, amniyon kesesinin kayması gebeliğin 32-35. günleri arasında, plasentomlar gebeliğin 75-80. günlerinde ve fetal ayak, baş ise gebeliğin 65. gününden itibaren tecrübeli bir veteriner hekim tarafından belirlenebilmektedir (Vural ve ark. 2015). Rektal palpasyon yöntemi, muayeneyi yapan kişinin yeteneğine, ineğin yaşı ve büyüklüğüne bağlı olarak, gebeliğin 30. günü gibi erken bir dönemde gebelik teşhisi yapılabilir. Gebelik sırasında uterusun boyutunda, dokusunda, lokasyon ve içeriğinde bir takım değişiklikler meydana

gelmesine rağmen, gebelik tanısı konulmadan önce rektal palpasyon ile saptanabilen gebeliğin sadece dört pozitif belirtisi vardır. Muayene eden kişi bu dört belirtiden en az birisini tespit etmelidir. İneklerde dört pozitif gebelik bulgusu şunlardır:

Amniotik vezikülün palpasyonu, fetal membranların kayması, plasentomların palpasyonu ve fütüsün palpasyonudur (Youngquist 2006).

Amniyon gelişmekte olan konseptusu içeren plasentanın bir parçasıdır ve amniyotik sıvı, düvelerde gebelik sonraki 28. günde ve ineklerde ise 32 ile 35. günleri arasında palpe edilebilir. Kese 28. günde yaklaşık 1 cm çapında küresel, sıvı dolu bir yapı olarak kabul edilir ve gebelik ilerledikçe boyutu artar. Sığır konseptusunda erken gebelikleri saptamaya çalışırken dikkatli olmalı ve amniyotik veziküllere aşırı basınç uygulanmamalıdır. Amniyotik vezikülün kasıtlı olarak yırtılması ineklerde gebeliğin sonlandırılması için bir yöntem olarak kullanılabilir (Vural ve ark. 2015).

Plasentomlar gebeliğin erken dönemlerinden itibaren belirginleşmeye başlar ve rektal muayene ile gebeliğin 75-80. günlerinde belirlenebilir. Plasentomlar en büyük çapa gebe kornu uterinin orta kesimlerinde ulaşır (Vural ve ark. 2015).

Gebeliğin ilk 4 ayı süresince embriyo/fütüs fetal çarpma tekniği ile kolayca hissedilir. Fütüsün ayak ve baş gibi kısımları gebeliğin 65. gününden itibaren ayırt edilebilir. Gebelik ilerledikçe (gebeliğin 5-6. aylarında) fütüs abdominal tabana yerleşir ve rektal palpasyonda fetüsün palpasyonu güçleşebilir (Vural ve ark. 2015).

### **1.3.1.2. Real-time Transrektal Ultrasonografi**

İneklerde gebelik tespiti için transrektal gerçek zamanlı ultrasonografi yaygın olarak kullanılmaktadır (Ginther 1995, Ginther 1998). İneklerde ultrasonografi kullanılmasının avantajları arasında erken dönemde gebelik teşhisinin yapılabilmesi ve gebelik oranının çok yüksek oranda belirlenmesi gösterilmektedir (Dinç 2008). Transrektal ultrasonografi erken gebelik tanısında en pratik uygulama arasında yer almasının yanı sıra, ovaryumların değerlendirilmesi, ikizliklerin tespiti ve fetüsün cinsiyetinin belirlenmesinde de önemli bir yer tutar (Fricke 2002). Transrektal

ultrasonografi ile doğru ve hızlı bir şekilde sonuca ulaşılır (Caraviello ve ark. 2006). Curran ve ark. (1986a,b), embriyonik gelişimi izledikleri bir araştırmada suni tohumlamadan 11,7 gün sonra embriyonik vezikülü, 20,3 gün sonra ise embriyoyu tespit etmişlerdir. İneklerde B Mod ultrasonografi ile suni tohumlamayı izleyen dördüncü hafta sonuna doğru yapılıır. Gebe olmayan hayvanları belirleme oranı 28. günde %95'den fazladır (Dinç 2008). Suni tohumlamadan 26 gün sonra ultrasonografi kullanılarak gebeliğin hızlı ve doğru bir şekilde teşhis edilebileceği bildirilmiştir (Pieterse ve ark. 1990). Embriyonun gebeliğin 25. gününden önce her zaman ve her hayvanda görüntülenmesi mümkün olmayabilir. Embriyo düvelerde daha kolay bulunurken çok doğum yapmış ineklerde gözlenemeyebilir. Gebeliğin 26-30. günleri arasında gebelik teşhisi daha kolay yapılıır. Dönemin başında embriyonik kese 1 cm çapa ulaşmıştır. Gebeliğin 35. gününde embriyo yakınında 0,5 cm çapında plasentomlar gözlenmeye başlanır. Düve ve ineklerde erken gebelik teşhisinde rutin uygulama 27-28. günlerdir. Embriyo, kalp atımı ve bol miktarda sıvının görüldüğü ve teşhisin kolay olduğı dönemdir. Bu dönemde hayvan gebe değilse ovaryumda korpus luteum (CL) vardır ve yeniden seksüel senkronizasyon ile hayvan kısa sürede tekrar tohumlanabilir (Dinç 2008). Birçok deneyimli veteriner hekim transrektal palpasyonla tohumlamadan 35 gün sonra doğru bir şekilde teşhis edebildiğinden, transrektal ultrasonografi ile gebelik muayenesi, suni tohumlama işleminden 28 ile 34 gün sonra yapıldığından, ultrasonografi suni tohumlamadan gebelik tanısına kadar geçen süreyi birkaç gün azaltır (Şekil 1). Suni tohumlama sonrası 45 ya da daha fazla günde yapılan ultrasonografi deneyimli bir veteriner hekim için gebelik tanı doğruluğunu arttırmazsa da, daha az deneyimli bir veteriner hekim için tanısal doğruluğunu artırabilir (Galland ve ark. 1994). Ultrasonografi uygulamasının, gebeliğin 35. gününden önce rektal muayene yönteminden daha az travmatik olduğı, daha doğru sonuç verdiğı ve embriyonik ölüm riskinin daha az olduğı bildirilmektedir (Dinç 2008). Gebelik kaybı oranı ve suni tohumlamadan sonra çeşitli safhalarda ineklerin yeniden kontroledilmesine yönelik stratejilerin etkinliğı, gebelik tanı ve tekrar senkronizasyonu zamanlamasındaki avantaj ve dezavantajların belirlenmesinde de rol oynamaktadır (Fricke ve ark. 2003). Pelvik kanal içerisinde uterusun pozisyonu yanılığlara neden olabilir. Gebeliğin 24-33. günlerinde uterusun pelvisin cranial bölümünde yer alması ve uterusun tamamen taranamamasına bağlı

olarak yanlış negatif sonuçlar artmaktadır. Hayvanın yaşı, kullanılan cihazın tipi ve probun kalitesi sonuçları etkileyebilmektedir (Dinç 2008). Suni tohumlamadan sonraki 26-58. günleri arasında transrektal ultrasonografi ile %82,7 oranında gebelik belirlenirken, rektal palpasyon uygulamasıyla suni tohumlamadan 120 gün sonra tüm ineklerde gebelik tespit edilmiştir (Piechotta ve ark. 2011).



**Şekil 2.** Yirmi sekiz günlük gebeliğin B-Mod ultrasonografi ile belirlenmesi (Anonim 2017)

#### **2.4.2. Endirekt Yöntemler**

Erken gebelik teşhisinde kullanılan endirekt yöntemler, anne vücut sıvılarında bulunan hormon veya konseptusa özgü maddelerin niteliksel veya niceliksel ölçümleri sonucunda yapılan uygulamalardır. Süt ineklerinde gebelik teşhisi için ticari olarak bulunan endirekt yöntemler; kan ve süt progesteron testleri, kan veya sütteki gebelikle ilişkili glikoprotein (PAG) testleridir (Fricke ve ark. 2016).

### 1.3.2.1. Progesteron

Progesteron, sığırlarda biyolojik açıdan en aktif progestagendir. Siklusun luteal evresinde korpus luteum tarafından primer olarak üretilir ve salgılanır. Aynı zamanda gebelik sırasında plasentadan da salınır. Kan veya süt içerisindeki progesteron miktarının ölçümü, laboratuvarında RIA ve ELISA yöntemleri kullanılarak ölçülebilir (Fricke ve ark. 2016). Suni tohumlamadan 18-24 gün sonra düşük progesteron belirlenen inekler gebe değil olarak sınıflandırılırken, suni tohumlamadan 18-24 gün sonra yüksek progesteron belirlenen inekler gebe olabilir olarak sınıflandırılmaktadır. Düşük progesteron düzeyi, gerçekten gebe olmayan ineklerin belirlenmesinde kesin bir sonuç oluşturmasına rağmen, gebe ineğin doğru teşhisi için suni tohumlamadan 18-24 gün sonra yüksek progesteron belirlenmesi gebeliğin doğruluğu açısından zayıftır (Ricci ve ark. 2014). Suni tohumlamadan 18-24 gün sonra inek sütü progesteron testlerinin kullanılması, gebe ineklerin belirlenmesi yerine gebe olmayan ineklerin belirlenmesinde yararlı olacaktır (Fricke ve ark. 2016).

### 1.3.2.2. Gebelikle İlişkili Proteinler

Gebelik sırasında plasenta tarafından erken dönemde üretilen ve salınan proteinler erken gebelik testi için önemlidir. Bununla birlikte, plasenta tarafından üretilen proteinler, memeliler arasında çok çeşitli olabilmektedir. Örneğin, yalnızca primatlar gebelik öncesi dönemde luteal destek için gerekli bir protein olan (insan koryonik gonadotropin) homolog bir koryonik gonadotropin üretirken, geniş getirenler, antiluteolitik bir hormon olan tip I interferon (sığır veya koyun trofoblastik protein gibi) üretmektedir (Xie ve ark. 1996). Sığırlar, koryonik bir gonadotropin üretmediğinden, araştırmalar, döllenme işleminden hemen sonra sığırlarda gebelik durumunun belirlenmesine uygun gebelik özellikli proteinlerin keşfedilmesi ve karakterize edilmesine odaklanmıştır (Cordoba ve ark. 2001).

### 1.3.2.3. Erken Gebelik Faktörü/Erken Konsepsiyon Faktör

Erken gebelik faktörü (EPF) gebelikle ilgili immunosupresif bir proteindir ve gebe hayvanların serumlarında rozet inhibisyon testi ile belirlenir (Laleh ve ark.



2008, Ohnuma ve ark. 2004). Erken gebelik faktörü, çiftleşmeden 4-6 saat sonra gebe farelerin serumunda ilk tespit edilen bir proteindir. EPF iki bileşenden oluşur (EPF-A ve EPF-B). EPF-A, ovaryum ile oviduktan salgılanırken EPF-B yalnızca ovaryumdan salgılanır. EPF-B'nin üretilmesi için, döllenmiş yumurtadan (ovum faktörü) gelecek bir sinyale ihtiyaç vardır. Ovum faktörü, sperm nüfuz ettikten sonra prolaktin varlığında salınır. Gebe kaldıktan sonra saatler içinde ortaya çıkar ve embriyonun ölümünden veya uzaklaştırılmasından sonra hızla kaybolur (Koch ve ark. 1983, Sakanju ve ark. 1993; Fan ve Zhen 1997). Laleh ve ark. (2008), ineklerde erken embriyonik ölümlerin veya gebelik kayıplarının erken gebelik faktörü düzeyinin ölçümüyle belirlenebileceğini bildirmektedirler. Gandy ve ark. (2001) ise ticari kit kullanarak yaptıkları araştırmada erken gebelik bulgularında tatminkâr sonuçlara ulaşamamışlardır.

Yapılan bir çalışmada suni tohumlamadan 24 ile 48 saat sonra ineklerin %94,6'sında gebeliğin olmadığı doğru bir şekilde teşhis edildiği bildirilmiş ve özellikle gebe olmayan ineklerin ayrımı için güvenilir olabileceği belirtilmektedir (Threlfall ve Bilderbeck 1998). Başka bir araştırmada ise erken konsepsiyon faktör (ECF) testinin süt ineklerinde gebelik tanısı veya embriyonik ölümlerin belirlenmesinde uygun bir yöntem olmadığı ve ECF testinin gebe olmayan inekleri doğru bir şekilde tanımlayamadığı belirlenmiştir (Baştan ve ark. 2007).

#### **1.3.2.4. İnsulin Uyarımlı Gen Ekspresyonu (ISGs)**

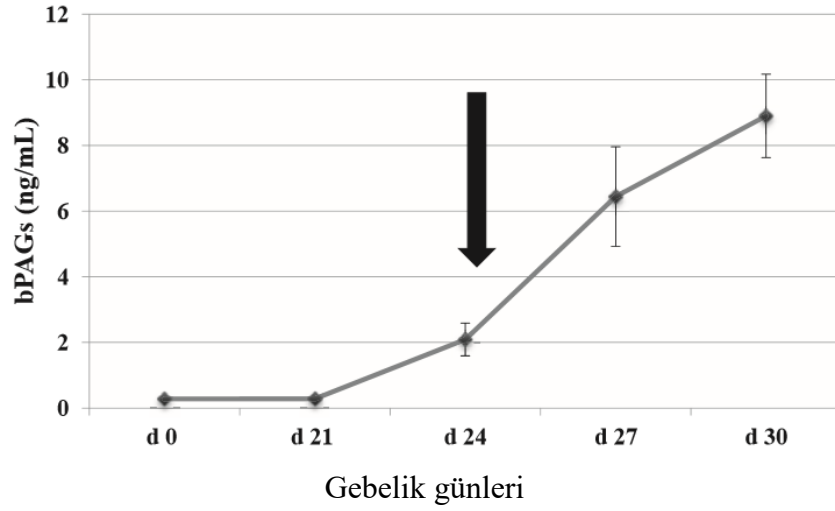
İnterferon tau (IFN- $\tau$ ) gebeliğin 14. gününde anneden gelen sinyallere bağlı olarak embriyo tarafından üretilir ve geçici olarak salgılanır. IFN- $\tau$  üretimi çiftleşmeyi takip eden 20-24. günlerde pik yaparken, 30. günde belirlenemez. IFN- $\tau$  kanda ve idrarda birikmez bu nedenle kan ve idrarda gebelik testi için IFN- $\tau$  kullanılamaz. Fakat dolaylı olarak lökositler üzerine yaptığı uyarıcı etkiyle belirlenebilmektedir. IFN- $\tau$ 'ya cevap olarak lökosit içerisinde interferon uyarımlı gen (ISGs) olarak isimlendirilen ikincil protein ekspresyonu oluşur. Real time PCR kullanılarak ISGs ekspresyonunun belirlenmesi gebelik teşhisinde kullanılabilir (Lucy ve ark. 2011).

### 1.3.2.5. Gebelik İlişkili Glikoproteinler / Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAG)

Gebelik spesifik protein (PSP) A ve B olmak üzere iki protein, sığır fetal membranlarından 1982 yılında izole edilmiştir (Butler ve ark. 1982).

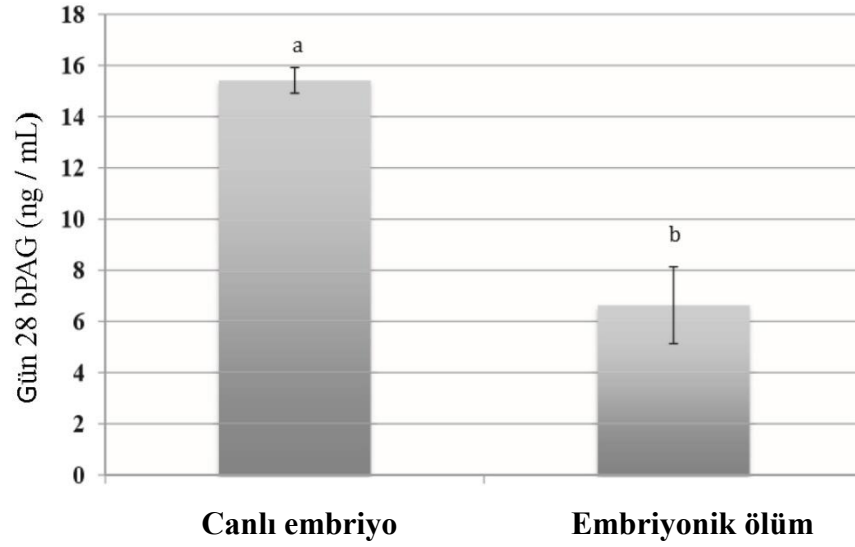
Pregnancy-Associated Glycoproteins (PAG) plasental binükleat hücreler tarafından üretilen inaktif aspartik proteazlardır ve sığırlarda yaklaşık 24-25. günden sonra maternal kan dolaşımına katılır (Zoli ve ark. 1992, Wooding ve ark. 2005, Telugu ve ark. 2009). PAG'ın biyolojik fonksiyonları açık değildir, ancak plasentaya özgü ekspresyonu nedeniyle, sığır, koyun, egzotik ve vahşi türler de dahil olmak üzere diğer pek çok ruminantta gebelik teşhisi için kullanılmaktadır (Gabor ve ark. 2007). Sığır PAG'leri, fetal kotiledonlarda trofoblast binükleat hücrelere ve daha az miktarda da karunküler epitele lokalize olmuştur (Zoli ve ark. 1992). Binükleat hücrelerin ürünleri anne kan dolaşımına bırakıldığından, süt ineklerinde erken gebelik testi için ideal antijen, implantasyon zamanında binükleat hücrelerde eksprese edilen bir PAG'dir. Gebelikte sığırlarda ortalama PAG konsantrasyonları 15 ile 35 gün arasında değişir. Bununla birlikte, ineklerde plazma PAG düzeylerindeki farklılıklar, PAG testinin suni tohumlamadan yaklaşık 26-30 gün sonrasına kadar gebelik için güvenilir bir gösterge olmasını engellemektedir (Zoli ve ark. 1992, Humblot ve ark. 2001).

Zoli ve ark. (1991) gebe ineklerin plasentasından gebeliğin yaklaşık 25. gün civarında PAG ve PAG benzeri proteinlerin üretildiklerini göstermişlerdir. Bu proteinlerin inek ve diğer evcil hayvanlarda erken gebelik tanısı ile embriyonik ölümlerin belirlenmesinde kullanılabileceğini belirtmişlerdir. Suni tohumlamadan 33, 34 ve 44 gün sonra yapılan muayenelerde gebe ineklerdeki serum PAG konsantrasyonunun 1,5 ng/mL, 1,9 ng/mL ve 2,2 ng/mL olduğu tespit edilmiştir. Tüm gebe ineklerdeki serum PAG konsantrasyonunun ise ortalama  $2,7 \pm 1,5$  ng/mL olduğu saptanmıştır. Gebelik kaybı şekillenen ineklerdeki serum PAG konsantrasyonunun 2,5 ng/mL'den düşük olduğu görülmüştür (Piechotta ve ark. 2011). Nelore ırkı ineklerde serum bPAG konsantrasyonunun önemli düzeyde artışı gebeliğin 24. gününde olduğu belirtilmektedir (Grafik 1, Pohler ve ark. 2016a).



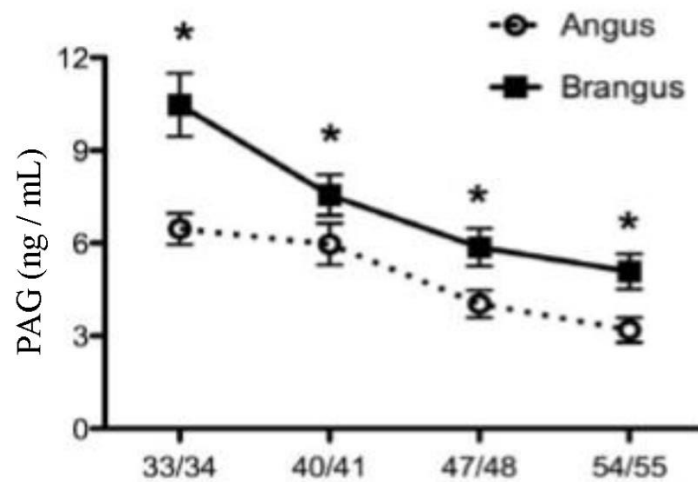
**Grafik 1.** Gebe Nelore ırkı ineklerde gebeliğin 0. gününden 30. gününe kadar (ortalama±SEM; n=22) sığır gebelik ilişkili glikoproteinlerin (bPAG) serum konsantrasyonları. Gebeliğin 24. gününde sirkülasyondaki bPAG konsantrasyonundaki ilk artış, d: gün (P<0,0001; Pohler ve ark. 2016a).

Suni tohumlamadan 28 gün sonra canlı embriyoya sahip ve gebeliğin 100. gününe kadar embriyonik ölüm şekillenmiş etçi Nelore ırkı ineklerin ortalama serum bPAG konsantrasyonu Grafik 2’de sunulmuştur. Elde edilen verilere göre embriyonik ölüm şekillenen ineklerde serum bPAG konsantrasyonunun canlı embriyoya sahip ineklere göre istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük düzeyde olduğu görülmektedir (Pohler ve ark. 2016a).



**Grafik 2.** Suni tohumlamadan 28 gün sonra canlı embriyo ve gebeliğin 100. gününe kadar embriyonik ölüm şekillenen etçi Nelore ırkı ineklerde ortalama serum bPAG konsantrasyonu (Pohler ve ark. 2016a).

Brangus ve Angus ırkı ineklerde gebeliğin 33-34. günleri ile 54-55. günleri arasında PAG konsantrasyonları Mercadante ve ark. (2014) tarafından araştırılmıştır (Grafik 3). Brangus ırkı ineklerde PAG konsantrasyonları Angus ırkı ineklere göre daha yüksek bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Her iki ırk inek grubunda PAG konsantrasyonunun uygulama haftasının başından sonuna kadar azaldığı gözlenmiştir ( $P < 0,01$ ).



**Grafik 3.** Brangus ve Angus ırkı ineklerde gebelik günleri ve bu günlerdeki plazma PAG konsantrasyonu (Mercadante ve ark. 2014).

**Amaç**

Bu araştırmada Türkiye’de ilk defa saha koşullarında, ineklerde gebeliğin 30. ve 50. günlerinde, gebelik tanısı amacıyla ELISA ve RIA yöntemleri kullanılmadan, tam kan ve kan serumunda erken gebelik spesifik proteini göstergesi olan Fassisi® BoviPreg test kitinin etkinliğini ortaya koymak amaçlandı. Bu test kitinin uygulanmasında erken gebelik spesifik proteinin miktarı direkt olarak llmeyecektir, inekler gebe ve gebe değil şeklinde değerlendirilecektir.



## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1. Hayvan Materyali

Sunulan araştırma Kars ilinde suni tohumlama tarihleri kayıtlı, klinik olarak sağlık yönünden herhangi bir sorunu olmayan, en az bir doğum yapmış ve 3-5 yaşları arasında olan 50 baş inekte (18 Simental ve 32 Brown Swiss) yapıldı. İneklerin vücut kondüsyon skoru Edmonson ve ark. (1989) belirlediği 0,25'lik artış gösteren 5'lik sisteme göre değerlendirildi. Simental ineklerin süt verim ortalamaları 15-20 litre, Brown Swiss ineklerin süt verim ortalamaları ise 10-15 litre arasındaydı.

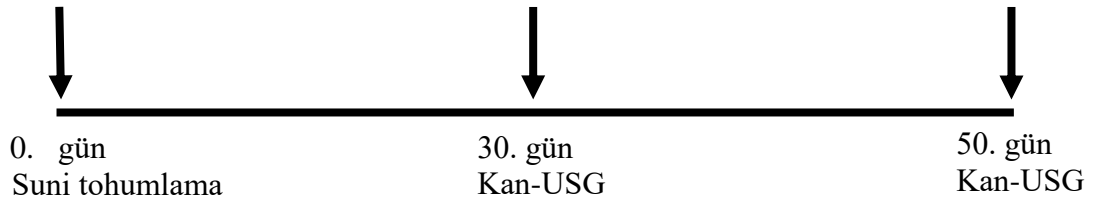
İneklerde yemleme günde 2 öğün olacak şekilde sağımdan önce TMR (Toplam miks rasyon) şeklinde yem karma makinalarıyla hazırlanarak yapıldı. Yemin içeriğinde; konsantre yem olarak, %18 ham protein, 2750 kcal/kg metabolik enerji içerikli pelet süt yemi, kaba yem olarak da çayır otu, korunga ve mısır silajı kullanıldı. Yem karmasına günlük %0,5 oranında tuz ilavesi yapıldı. Su çalışma süresince *ad-libitum* olarak verildi.

### 2.2. Etik Kurul

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan alınan onay (KAÜ-HAYDEK 2015-110) sonrasında yürütülmüştür.

### 2.3. Çalışma Prosedürü

Suni tohumlama uygulaması yapılan inekler kayıt altına alınarak, suni tohumlamadan 30 ve 50 gün sonra heparinli ve boş tüplere *vena cocygeadan* kan örnekleri alındı (Şekil 3). Bu uygulamalardan hemen sonra ultrasonografi (Sonosite Titan<sup>®</sup>, Sonosite, USA) ile gebelik durumları kontrol edildi. Alınan tam kanda hemen saha koşulunda 15-30°C olan bir ortamda gebelik tanısı için Fassisi<sup>®</sup> BoviPreg Test Kiti (Fassisi, Gesellschaft für Veterinärmedizinische Diagnostik und Umweltanalysen mbH, Marie-Curie-Strasse 7, 37079 Goettingen, Germany) uygulaması üretici firmanın belirttiği şekilde yapıldı.



**Şekil 3.** İneklerde çalışmanın uygulama şeması. USG: Ultrasonografi

Boş tüplere alınan kanlar 3000 devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serumlar mikrosantrifüj tüplerine aktarıldı ve progesteron ölçümleri yapılmaya kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de depolandı. Aynı zamanda elde edilen serumlarda aynı gün Fassisi<sup>®</sup>BoviPreg Test Kiti uygulamalarıyla gebelik durumları tespit edildi. Hem serum hem de tam kanda gebelik durumları gebe/gebe değil şeklinde tespit edildi. Ayrıca ineklerde 30. ve 50. günler arasındaki şekillenmiş embriyonik ölümler de belirlendi.

### **Kan Serumunda Fassisi<sup>®</sup>BoviPreg Testinin Yapılışı**

Test üretici firmanın belirttiği şekilde oda sıcaklığında ( $15-25^{\circ}\text{C}$ ) yapıldı. Alüminyum ambalaj açıldı ve test kaseti çıkarıldı. Test kaseti düzgün bir yüzey üzerine yerleştirildi, reaktif şişesi açıldı ve bir tarafa konuldu. Reaktif (A) şişesi açılmadan ve kullanılmadan önce iyice çalkalandı.

1. Serum pipet yardımıyla alındı.
2. İki (2) damla ( $60\ \mu\text{L}$ ) numune materyali numune kuyucuğuna konuldu.
3. İki (2) damla reaktif A şişesinden alındı ve kuyucuğa eklendi.
4. 20 dakika sonra test sonucu görüldü.

Pozitif reaksiyonda T harfi hizasında bir adet kırmızı çizgi belirdi (Şekil 4,5).



Şekil 4. Fassisi® BoviPreg Test Kiti



Şekil 5. İneklerde kan serumunda Fassisi® BoviPreg Test Kiti uygulaması. Gebe ve gebe negatif test kitleri. Gebelik pozitif ineklerde "T" harfi hizasında bir adet kırmızı çizgi belirir.



### Tam Kanda Fassisi® BoviPreg Testinin Yapılışı

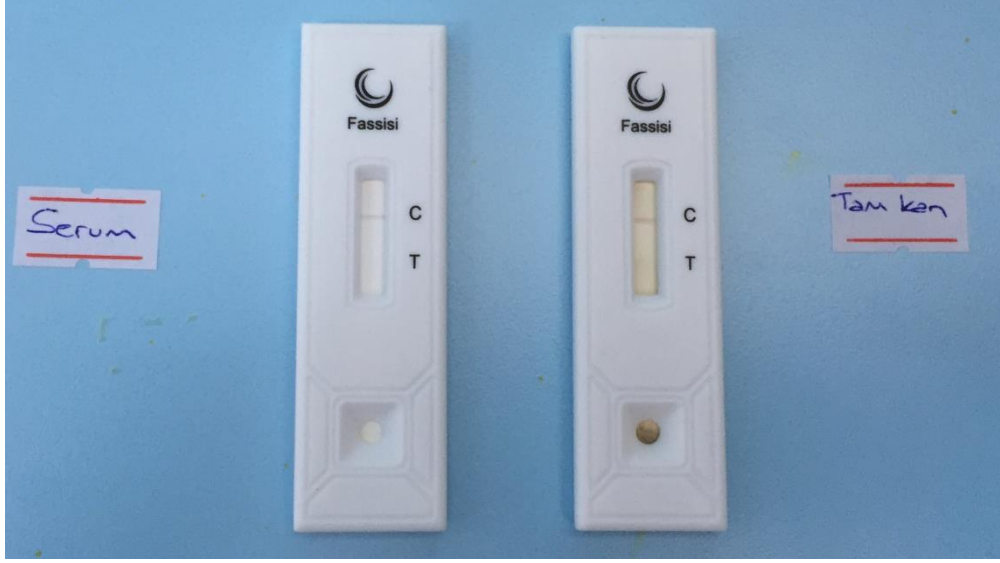
Heparinli tüplere alınan kanlar iyice çalkalandı. Test oda sıcaklığında yapıldı. Alüminyum ambalaj açıldı ve test kaseti çıkarıldı. Test kaseti düzgün bir yüzey üzerine yerleştirildi, reaktif şişesi açıldı ve bir tarafa konuldu. Reaktif (A) şişesi açılmadan ve kullanılmadan önce iyice çalkalandı.

1. Tam kan örneği pipetle alındı.
2. İki (2) damla numune materyali numune kuyucuğuna konuldu ve ivedilikle 3. adıma geçildi.
3. İki (2) damla reaktif (A) şişeden alınarak numune kuyucuğuna konuldu. Yirmi dakika sonra test sonucu değerlendirildi.
4. Reaksiyon alanı kırmızı olduğu takdirde: İki (2) damla reaktif (B) şişeden alınarak doğrudan reaksiyon alanının ortasına konuldu ve 3 dakika beklendi. Bölgede bir köpüklenme oldu. Köpük reaksiyon bölgesinin alt kısmından başlanarak pamuk çubuk yardımıyla silindi.

Pozitif reaksiyonda iki adet kırmızı çizgi belirlendi (Şekil 6), gebe olmayan ineklerde T bölgesinde çizgi oluşumu söz konusu değildir (Şekil 7).



**Şekil 6.** İneklerde tam kanda Fassisi® BoviPreg Test Kiti uygulaması. Gebe ve gebe negatif test kitleri. Gebe ineklerde T harfi hizasında kırmızı çizgi oluşur ve kasette toplam iki çizgi görüntelenir.



**Şekil 7.** İneklerde serum ve tam kanda Fassis<sup>®</sup>BoviPreg Test Kiti uygulaması: Gebelik negatif ineklerde “T” harfi hizasında kırmızı çizgi belirlenmedi.

### **Serum Progesteron Analizi**

Kan serumlarında; progesteron düzeyi analizi özel bir laboratuvarında Electrochemiluminescent Immunoassay (ECLIA) yöntemi ile Test Roche E170 analizatöründe gerçekleştirildi.

### **Sonuçların Değerlendirilmesinde Kullanılan Formüller**

Çalışmada elde edilen sonuçlar literatüre (Commun ve ark. 2011, Sinedino ve ark. 2014, Karen ve ark. 2015) uygun olarak aşağıdaki formüllere göre hesaplandı.

Sensitivite =  $\frac{\text{Doğru Gebe Tanısı}}{\text{Bütün Gebe Hayvanlar}} \times 100$

Spesifite =  $\frac{\text{Doğru Gebe Değil Tanısı}}{\text{Bütün Gebe Olmayanlar}} \times 100$

Pozitif Tanımlama =  $\frac{\text{Doğru Gebe Tanısı}}{\text{Bütün Gebe Tanısı}} \times 100$

Negatif Tanımlama =  $\frac{\text{Doğru Gebe Değil Tanısı}}{\text{Bütün Gebe Değil Tanısı}} \times 100$

Doğruluk Oranı =  $\frac{\text{Doğru Teşhisler (Gebe+Gebe Değil)}}{\text{Bütün Teşhisler}} \times 100$

### 3.4. İstatistiksel Analiz

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi SPSS® (SPSS 18.0, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılarak yapıldı. Elde edilen hormon sonuçları ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi. İneklerde serum progesteron değerlerinin ikili karşılaştırılması t-testi ile değerlendirildi. Gebelik oranlarının karşılaştırılmasında ki-kare testi kullanıldı. Sonuçların değerlendirmesinde  $P < 0,05$  ifadesi istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.



### 3. BULGULAR

Sunulan araştırma 18 Simental ve 32 Brown Swiss ırkı inek olmak üzere toplam 50 inekte yapıldı. Suni tohumlamadan 30 gün sonra transrektal ultrasonografi ile yapılan gebelik muayenesinde %52 oranında gebelik tespit edildi (26/50). İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serum ve tam kanda yapılan testlerde sensitivite oranları sırasıyla %61,54 (alt sınır %40,57-üst sınır %79,77) ve %50,0 (alt sınır %29,93-üst sınır %70,07) olarak belirlendi. Serum spesifite oranı %79,17 (alt sınır %57,85-üst sınır %92,87), tam kanda ise %75,0 (alt sınır %53,29-üst sınır %90,23) oranında belirlendi (Tablo 2).

**Tablo 2.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra yapılan değerlendirmede sensitivite ve spesifite oranları

Parametreler	Serum	Tam kan
Sensitivite (%)	61,54	50,0
Spesifite (%)	79,17	75,0

İneklerde suni tohumlamadan 50 gün sonra serum ve tam kanda yapılan testte sensitivite oranları sırasıyla %63,64 (alt sınır %40,66-üst sınır % 82,80) ve %50,0 (alt sınır %28,22-üst sınır %71,78) oranında belirlendi. Spesifite oranı ise hem serumda %100 (alt sınır %69,15-üst sınır %100,0) ve tam kanda %100 (alt sınır %69,15-üst sınır %100,0) oranında tespit edildi (Tablo 3).

**Tablo 3.** İneklerde suni tohumlamadan 50 gün sonra yapılan değerlendirmede sensitivite ve spesifite oranları

Parametreler	Serum	Tam kan
Sensitivite (%)	63,64	50,0
Spesifite (%)	100	100

Suni tohumlamadan 30 gün sonraki doğruluk oranları serumda %70,0 (alt sınır %55,39-üst sınır %82,14) iken tam kanda %62,0 (alt sınır %47,17-üst sınır %75,35) oranında belirlendi. Aynı şekilde suni tohumlamadan 50 gün sonraki doğruluk oranları serumda %75,0 (alt sınır % 56,60-üst sınır %88,54) iken tam kanda %65,62 (alt sınır % 46,81-üst sınır %81,43) oranında saptandı (Tablo 4).

**Tablo 4.** İneklerde 30 ve 50. günlerdeki doğruluk oranları

Kan Örnekleri	30. gün	50. gün
Serum	%70,0	%75,0
Tam kan	%62,0	%65,62

Suni tohumlamadan 30 gün sonra serumda pozitif tanımlama, negatif tanımlama, yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları sırasıyla %76,2, %65,5, %23,8 ve %34,5 oranında belirlendi. Suni tohumlamadan 30 gün sonra tam kanda pozitif tanımlama, negatif tanımlama, yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları sırasıyla %68,4, %58,1 %31,6 (5 inek) ve %41,9 (10 inek) oranında belirlendi (Tablo 5).

**Tablo 5.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serum ve tam kanda pozitif tanımlama, negatif tanımlama, yanlış pozitif ve yanlış negatif oranları

Parametreler	30. gün	
	Serum	Tam kan
Pozitif tanımlama	%76,2	%68,4
Negatif tanımlama	%65,5	%58,1
Yanlış pozitif	%23,8	%31,6
Yanlış negatif	%34,5	%41,9

Suni tohumlamadan 30 gün sonra gebe ve gebe olmayan ineklerdeki serum progesteron düzeyleri Tablo 6'de gösterilmiştir. Gebe ineklerdeki progesteron düzeyi ortalama  $8,3 \pm 3,2$  ng/mL iken gebe olmayan ineklerde  $2,5 \pm 3,1$  ng/mL tespit edildi (Tablo 6). Gebe ineklerde progesteron değeri istatistiksel olarak anlamlı ve farklı düzeyde belirlendi ( $P < 0,001$ ). Simental ve Brown Swiss ırkı gebe ineklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra progesteron düzeyleri sırasıyla  $7,8 \pm 1,8$  ng/mL ve

10,3±4,3 ng/mL olarak belirlendi. Irklar arasında gebe ineklerde P4 değerleri bakımından istatistiksel bir fark tespit edilmedi ( $P>0,05$ ).

**Tablo 6.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra gebe ve gebe olmayan ineklerde serum progesteron düzeyleri

Gebelik durumu	P4 (ng/mL)	P değeri
Gebe	8,3±3,2	<0,001
Gebe değil	2,5±3,1	

P4: Progesteron

Suni tohumlamadan 30 gün sonra serum progesteron düzeylerine bakılarak yapılan değerlendirmede 5 ng/mL'den yüksek olan ineklerde Fassisi® BoviPreg Test kiti uygulamaları ile daha yüksek gebelik oranlarına ulaşıldığı gözlemlendi ( $P<0,001$ ). Progesteron değeri 5 ng/mL'nin altındaki gruplarda ise gebelik oranlarının oldukça düşük olduğu tespit edildi (Tablo 7).

**Tablo 7.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serum progesteron düzeyleri ile serumdan Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen gebelik oranlarının karşılaştırılması

P4 (ng/mL)	Gebelik Oranı (%)	P Değeri
1-5	25,0	<0,001
>5	76,9	

P4: Progesteron

Suni tohumlamadan 30 gün sonra serum progesteron düzeylerine bakılarak yapılan değerlendirmede serumda Fassisi® BoviPreg Test kiti uygulamaları ile belirlenen spesifite ve sensitifite sonuçları Tablo 8'da verilmiştir.

**Tablo 8.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra serumda Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen parametrelerin serum progesteron düzeyleri ile karşılaştırılması

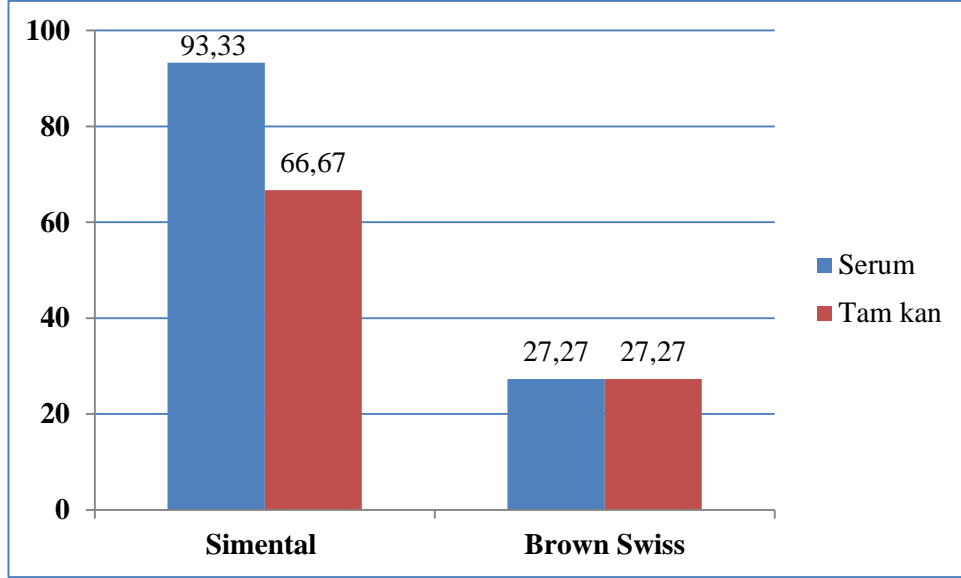
Parametreler	P4 (ng/mL)	
	0-5	>5
Sensitivite (%)	66,66	60,0
Spesifite (%)	77,77	83,33
Doğruluk oranı (%)	75,0	65,38

Suni tohumlamadan 30 gün sonra serum progesteron düzeylerine bakılarak yapılan değerlendirmede 5 ng/mL'den yüksek olan ineklerde tam kanda Fassisi® BoviPreg Test kiti uygulamaları ile daha yüksek spesifite oranlarına ulaşıldığı gözlemlendi (Tablo 9).

**Tablo 9.** İneklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra tam kanda Fassisi® BoviPreg Test kiti ile belirlenen parametrelerin serum progesteron düzeyleri ile karşılaştırılması

Parametreler	P4 (ng/mL)	
	0-5	>5
Sensitivite	50,0	55,0
Spesifite	70,0	83,33
Doğruluk oranı	66,66	61,54

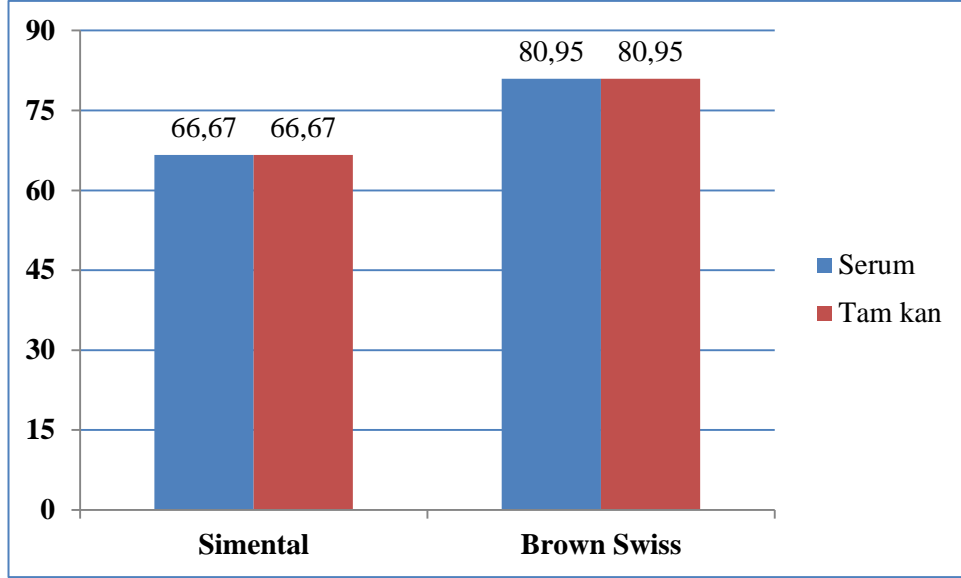
Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda sensitivite oranları Grafik 4'de gösterilmiştir. Simental ineklerin serumunda sensitivite oranları %93,33 (alt sınır %68,05-üst sınır %99,83) iken Brown Swiss ırkı ineklerde bu oran %27,27 (alt sınır %6,02-üst sınır %60,97) düzeyinde belirlendi. Tam kandaki sensitivite oranları Simental ırkı ineklerde %66,67 (alt sınır %38,38- üst sınır %88,18) iken Brown Swiss ırkı ineklerde %27,27 (alt sınır %6,02-üst sınır %60,97) oranında tespit edilmiştir.



**Grafik 4.** Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ırkı ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda sensitivite oranları (%)

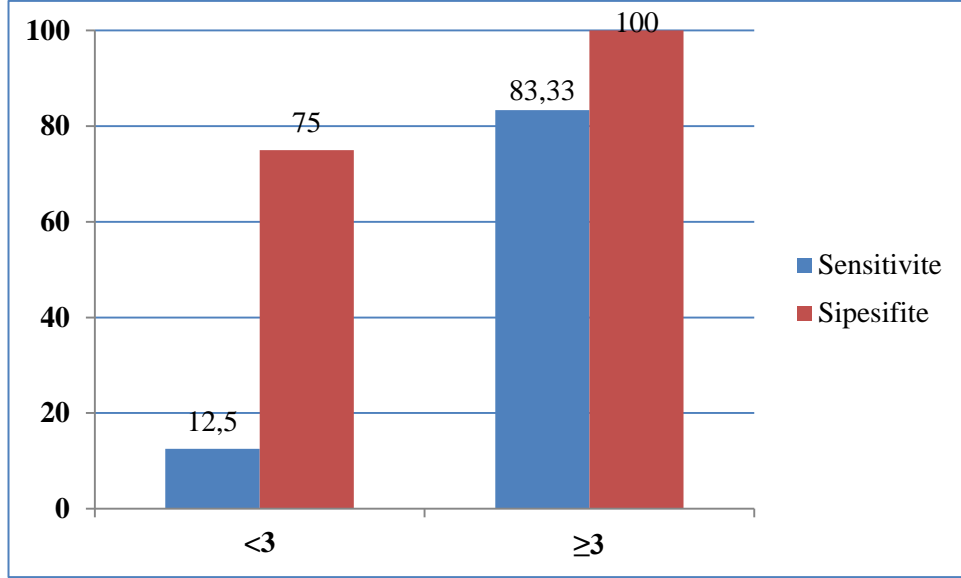
Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda spesifite oranları Grafik 5’de gösterilmiştir. Simental ineklerin serumunda spesifite oranları %66,67 (alt sınır %9,43-üst sınır %99,16) iken Brown Swiss ırkı ineklerde bu oran %80,95 (alt sınır %58,09-üst sınır %94,55) düzeyinde belirlendi. Tam kandaki spesifite oranları Simental ırkı ineklerde %66,67 (alt sınır %9,43- üst sınır %99,16) iken Brown Swiss ırkı ineklerde %80,95 (alt sınır %58,09-üst sınır %94,55) oranında tespit edilmiştir.





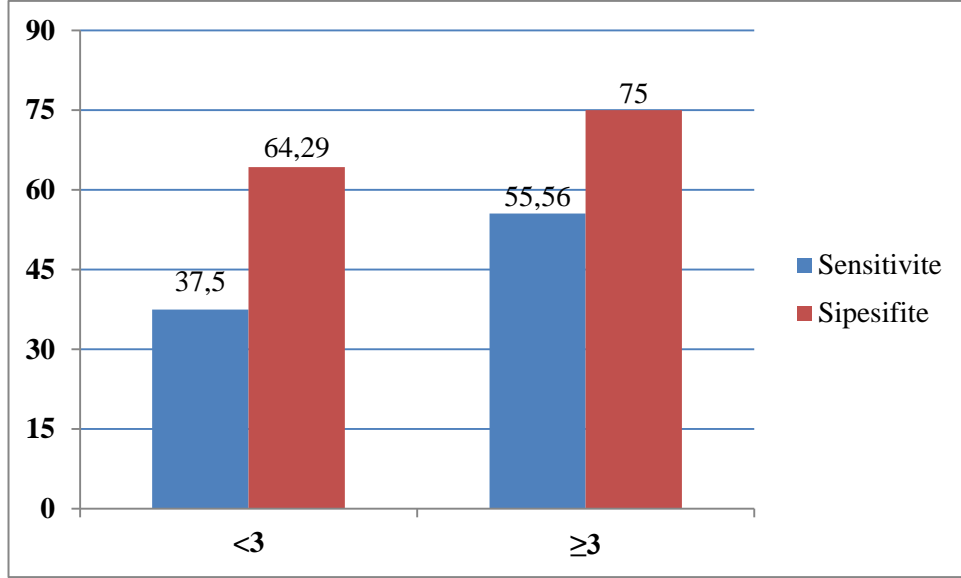
**Grafik 5.** Suni tohumlamadan 30 gün sonra Simental ve Brown Swiss ırkı ineklerde, ırk farklılığına göre serum ve tam kanda spesifite oranları (%)

Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoru 3 ve üzerinde olan ineklerin serumunda sensitivite oranı %83,33 (alt sınır %58,58-üst sınır %96,42) ve vücut kondüsyon skoru 3'ün altında olan ineklerde ise %12,50 (alt sınır %0,32- üst sınır %52,65) oranında tespit edildi. Aynı gruplandırmada spesifite oranları ise %100,0 (alt sınır %39,76-üst sınır %100,0) ve %75,0 olarak belirlendi (alt sınır %50,90-üst sınır %91,34) Bu değerlendirmelerdeki doğruluk oranları sırasıyla %86,36 (alt sınır %65,09- üst sınır %97,09) ve %57,14 (alt sınır % 37,18- üst sınır %75,54) düzeyinde tespit edilmiştir (Grafik 6).



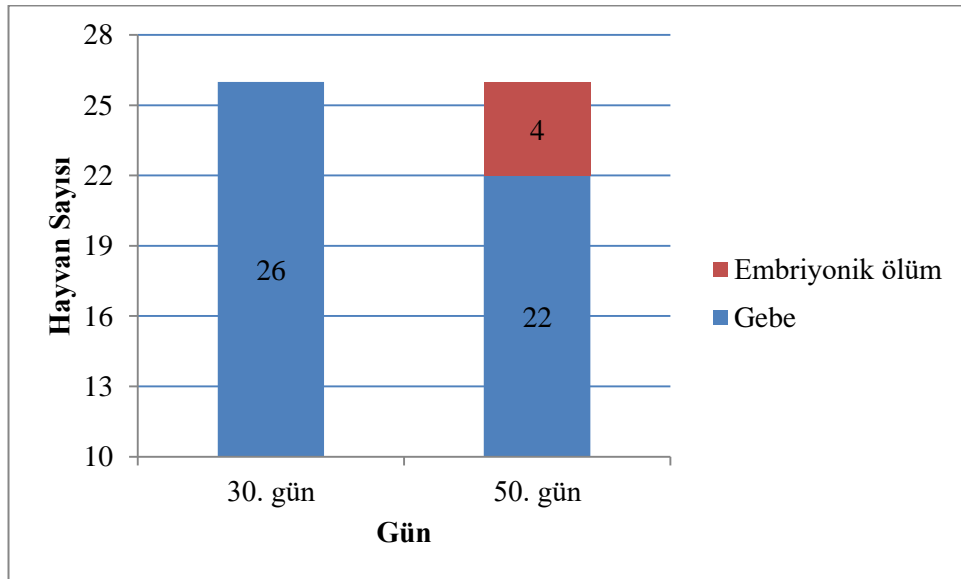
**Grafik 6.** Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoruna göre serumda sensitivite ve spesifite oranı (%)

Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoru 3 ve üzerinde olan ineklerin tam kanda sensitivite oranı %55,56 (alt sınır %30,76-üst sınır %78,47) ve vücut kondüsyon skoru 3'ün altında olan ineklerde ise %37,50 (alt sınır %8,52-üst sınır % 75,51) olarak tespit edilmiştir. Aynı grupta spesifite oranları ise %75,0 (alt sınır % 19,41- üst sınır %99,37) ve %75,0 (alt sınır %50,90-üst sınır %91,34) olarak belirlenmiştir. Bu değerlendirmelerdeki doğruluk oranları sırasıyla %59,09 (alt sınır %36,35-üst sınır %79,29) ve %64,29 (alt sınır %44,07- üst sınır %81,36) düzeyinde tespit edilmiştir (Grafik 7).



**Grafik 7.** Suni tohumlamadan 30 gün sonra vücut kondüsyon skoruna göre tam kanda sensitivite ve spesifite oranı (%)

Suni tohumlamadan 50 gün sonra yapılan ultrasonografik görüntülemelerde, suni tohumlamadan sonraki 30. günde gebe olduğu belirlenen 26 inekten 4 tanesinde embriyonik ölüm (%15,4) gerçekleştiği tespit edildi (Grafik 8). Bu embriyonik ölümlerin 2'si Simental ırkı ineklerde diğer ikisi ise Brown Swiss ırkı ineklerde belirlendi.



**Grafik 8.** Çalışmaki gebe hayvan sayıları ve embriyonik ölümler

#### 4. TARTIŞMA

İneklerde erken gebelik tanısı başarılı bir döl verimi ve sürü yönetimi uygulamalarında kritik öneme sahiptir ve geleneksel olarak transrektal palpasyon ya da ultrasonografi kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Günümüzde bu uygulamaların yanı sıra ineklerde biyokimyasal yöntemler kullanılarak gebelik tanısı yapılmaktadır (Youngquist 2006, Fricke ve ark. 2016).

Piechotta ve ark. (2011), ineklerde erken gebelik tanısı amacıyla suni tohumlamadan 26-58 gün sonra transrektal ultrasonografi ve ELISA yöntemi ile de kan serumunda sığır gebelik spesifik protein B (bPSPB) ve PAG konsantrasyonlarını araştırmışlardır. Araştırmacılar serumda bPSPB konsantrasyonu ile PAG konsantrasyonu arasında sensitivite ve spesifite bakımından istatistiksel bir fark belirlememişlerdir. Sığır gebelik spesifik protein B ve PAG'ın erken gebelik tanısında benzer güvenilirlikte kullanılabilceğini bildirmişlerdir. Son zamanlarda yapılan bir araştırmada resenkronizasyon protokolü uygulanan ineklerde, ELISA testi yardımıyla en yüksek kan PAG konsantrasyonunun, gebeliğin 35. gününden sonra %94,2 oranında pozitif olduğu saptanmıştır (Sinedino ve ark. 2014). Karen ve ark. (2014), ineklerde suni tohumlamadan 28, 42 ve 56 gün sonra serum PAG konsantrasyonunun gebe ineklerde, gebe olmayan ineklere göre daha yüksek olduğunu ve istatistiksel bir fark oluşturduğunu tespit etmişlerdir.

İnek yetiştiriciliğine ekonomik açıdan bakıldığında, gebe olmayanların erken dönemde belirlenme sensitivitesi (gebe ineklerin doğru belirlenmesi), spesifiteden (gebe olmayan ineklerin doğru tanımlanması) daha önemlidir (Ferguson ve Galligan 2011, Giordano ve ark. 2013). Erken dönemde gebe olmayan inekleri tespit etmek için uygulanacak indirekt testlerin ekonomik bir değer oluşturması için, sensitivite oranlarının suni tohumlamadan 24 gün sonra %94 ve suni tohumlamadan 31 gün sonra %96 olması gerekmektedir (Giordano ve ark. 2013). İneklerde PAG seviyelerine bakılarak yapılacak en uygun gebelik tanı zamanı suni tohumlamadan 32 gün sonra olduğu bildirilmektedir (Ricci ve ark. 2015). Ricci ve ark. (2015), gebeliğin 32. gününde plazmada PAG pozitif olarak tespit edilen ineklerde sensitivite %100, spesifiteyi ise %87 oranında bulmuşlardır. Aynı araştırmadaki doğruluk oranı

ise %92 olarak saptanmıştır. LeBlanc (2013), ineklerde süt PAG seviyesine bakılarak yaptıkları araştırmada sensitivite %99,2 ve spesifite % 95,5 olarak saptamıştır. Suni tohumlamadan sonraki 31-35. günleri arasında ELISA ile PAG konsantrasyonu belirlenen ineklerde, gebelik tanısında sensitivite oranı %98,7, spesifite oranı %88,1, doğru pozitif oranı %83,7, doğru negatif oranı %99,1 ve doğruluk oranı %92,2 tespit edilmiştir. Nelore ırkı etçi ineklerde bPAG ile gebelik tanısında %96 doğruluk oranı belirlenmiştir (Pohler ve ark. 2016a). Sunulan araştırmada ise suni tohumlamadan 30 ve 50 gün sonra yapılan değerlendirmede, PAG test kiti Fassisi® Bovi Preg Testi uygulamalarından sonra hem sensitivitenin hem de spesifitenin oldukça düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar daha önce yapılan çalışmaların aksine ticari bir kit ile gebelik durumunun tespitinde yetersiz sonuçlar elde edildiğini göstermektedir.

Genotip ile plazma PAG konsantrasyonu arasında bir bağlantı belirlenmiştir. PAG ve P4 arasında korelasyon tespit edilmemiştir (Mercadante ve ark. 2013). PAG ve P4 üretimi arasındaki biyolojik bağın zayıf olduğu bildirilmektedir (Weems ve ark. 2007). Gebeliğin 33/34. gününden 54/55. gününe ilerledikçe plazma PAG konsantrasyonunun arttığı görülmüştür. (Mercadante ve ark. 2013). Laktasyondaki Holstein ineklerinde plazma PAG konsantrasyonu, gebeliğin 30 ile 32. günlerinde pik düzeye ulaşmış, daha sonra tekrar yükselmeye başlamadan önceki 60. güne kadar pik konsantrasyonlarının yarısına düşmüştür (Thompson ve ark. 2010). Gebe ineklerde suni tohumlamadan sonraki 25. gün ile 102. günlerinde plazma PAG seviyeleri, süt PAG seviyelerine kıyasla yaklaşık 2 kat daha yüksek belirlenmiştir. Plazma ve süt PAG düzeyinin hem suni tohumlamadan sonraki haftalar hem de ineklerin paritesine göre değiştiği bildirilmektedir. Suni tohumlamadan sonraki 25 ve 102. günler arasında ultrasonografi ile gebeliği belirlenen ineklerde plazma ve süt PAG seviyesinin gebeliğin 25. gününden itibaren artarak 32. günde pik yaptığı gözlenmiştir. Daha sonra 53. güne kadar en alt seviyeye düştüğü, 74. günden 102. güne kadar tekrar yükseldiği belirlenmiştir. Primipar ineklerde, multipar ineklere göre daha yüksek plazma ve süt PAG seviyeleri tespit edilmiştir (Pohler ve ark. 2016a, Ricci ve ark. 2015).

İneklerde farklı ırkların PAG konsantrasyonunu etkilediği bildirilmektedir. Serum PAG konsantrasyonu, Boran ve Boran×Holstein-Friesian melezi ineklerde

gebelik sırasında farklılık göstermektedir (Lobago ve ark. 2009). Tüm gebe ineklerde gebeliğin 31. günündeki kan PAG konsantrasyonu ortalama  $9,50 \pm 5,33$  ng/mL olarak tespit edilmiştir. Pohler ve ark. (2016b), Nelore ırkı etçi ineklerde serum bPAGs konsantrasyonunu  $15,11 \pm 9,92$  ng/mL düzeyinde tespit etmişlerdir. Bizim ticari kit kullanarak yaptığımız bu araştırmada, ırk ayırt edilmeksizin gebelik tespiti amacıyla kiti uygulaması ile suni tohumlamadan 30 gün sonra gebe olduğu belirlenen ineklerde progesteron değerinin gebe olmayan ineklerden daha yüksek olduğu ve istatistiksel bir fark oluşturduğu belirlenmiştir. Ayrıca Brown swiss ırkı gebe ineklerde progesteron değerinin Simental ırkı ineklere göre daha yüksek olduğu ve istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir. Sunulan çalışmada Simental ırkı ineklerde sensitivite oranı Brown swiss ineklerden daha yüksek oranda belirlenmiştir. Bu durum daha önceki araştırmacıların (Pohler ve ark. 2016a) ırkın plazma PAG konsantrasyonunu etkilediği şeklinde sonuçlarıyla uyumluluk göstermektedir. Suni tohumlamadan 33 ve 34 gün sonra gebe ineklerde bPSPB ve bPAG1 analizleri ile benzer doğruluk oranları belirlenmiştir, ancak gebe olmayan ineklerin tanısı daha az oranda tespit edilmiştir (Szenci ve ark. 1998).

Koyunlarda farklı ırkların PAG konsantrasyonunu etkilediği bildirilmektedir. Texel ve Suffolk koyunları arasında PAG konsantrasyonlarındaki farklılıklar da vardır (Vandaele ve ark. 2005). Primipar ve multipar gebe ineklerde plazma ve süt PAG düzeylerinin süt üretimiyle negatif bir korelasyon gösterdiği tespit edilmiştir (López-Gatiús ve ark. 2007, Ricci ve ark. 2015). Bu sonuçlar süt üretiminin artmasıyla konseptusun PAG üretimini azalttığı yönünde değerlendirilmiştir. Konseptus tarafından üretilen PAG, erken gebelik sırasında embriyonik büyüme ve gelişme için bir kriter olarak değerlendirildiğinde, süt üretiminin artması ile plazma ve süt PAG düzeylerindeki düşüş, süt veriminin daha yüksek olduğu ineklerde daha yavaş büyüyen embriyoları olabileceğini düşündürmektedir (Ricci ve ark. 2015). Süt verimi yüksek olan ineklerde, erken bir suni tohumlamadan sonra karaciğerde progesteron metabolizmasının artması nedeniyle progesteron konsantrasyonu düşer, embriyonun büyümesi gecikir ve PAG üretiminde bir düşmeye neden olabilir (Ricci ve ark. 2015). Erken embriyonik dönemde progesteron embriyo büyümesi ve gelişiminde rol oynar (Clemente ve ark. 2009).

Suni tohumlama sonrası 32. günde PAG seviyeleri pik yaptıktan sonra, gebe ineklerin PAG düzeylerinde geçici düşme görülmesi ilginç olarak değerlendirilmektedir. PAG üretiminin ve salgılanmasının, gebeliğin erken dönemlerinde diğer hormonlar tarafından düzenlenmesi mümkündür (Ricci ve ark. 2015). Bunun aksine, PAG düzeylerindeki azalma, gebeliğin bu aşamasında plasentada hormonal veya fiziksel bazı değişikliklerle ilişkili olabileceği göz önünde bulundurulmalıdır.

Maternal PAG konsantrasyonundaki düşüşün embriyonik ölümlere neden olduğu birçok çalışmada gösterilmiştir (Thompson ve ark. 2010, Breukelman ve ark. 2012, Pohler ve ark. 2013, Pohler ve ark. 2016a,b). İneklerde ELISA tanı yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada, suni tohumlamadan 27 ve 39 gün sonra kan plazmasında PAG konsantrasyonuna bakılarak yapılan değerlendirmede embriyonik ölüm oranının %19,2 olduğu tespit edilmiştir (Silva ve ark. 2009). Geç embriyonik ölüm gebe kalma zamanının uzamasından dolayı üreme verimliliğini düşüren başlıca faktörlerden biridir (Silke ve ark. 2002). Geç embriyonik ölümler, ineğin ırkı, çevreye ve embriyonun invivo veya invitro olarak üretilip üretilmediğine bağlı olarak %3,2 ila %42,7 arasında değişmektedir (Vasconcelos ve ark. 1997, Cartmill ve ark. 2001a,b, Lamb 2002, Pohler ve ark. 2016a,b).

Pohler ve ark. (2016a), vücut ağırlığı ile bPAG arasında ilişki belirleyememişlerdir. Aynı araştırmacılar gebeliğin 31. gününden sonraki 59. gününde ultrasonografi ile embriyonik ölüm oranını %12 düzeyinde belirlemişlerdir. Bu çalışmada gebeliğin 31. gününden 59. gününe kadar gebeliği devam eden ineklerde PAG konsantrasyonu  $9,58 \pm 0,31$  ng/mL iken gebeliği devam etmeyen ineklerde  $4,15 \pm 0,33$  ng/mL düzeyinde bulunmuştur. Gebeliğin 31. günündeki PAG konsantrasyonundaki azalmanın 59. gündeki embriyonik ölüm oranını arttırdığı gözlenmiştir, fakat gebeliğin 59. günü ile doğuma kadar olan sürede bu durumla karşılaşılmamıştır. Zamanlı embriyo transferi yapılan ineklerde PAG konsantrasyonu gebeliğin 31. gününde  $8,32 \pm 5,65$  ng/mL bulunmuştur. Embriyo transferi yapılan bu gebe ineklerde gebeliğin 59. gününde yapılan ultrasonografik muayene ile %20 oranında embriyonik ölüm tespit edilmiştir. Embriyo transferi ile gebe bırakılan bu ineklerde gebeliğin 31. gününden 59. gününe kadar gebeliği devam eden ineklerde

PAG konsantrasyonu  $8,61 \pm 1,53$  ng/mL iken, gebeliği devam etmeyen ineklerde  $3,78 \pm 0,58$  ng/mL düzeyinde bulunmuştur. Benzer şekilde bu ineklerde gebeliğin 31. günündeki PAG konsantrasyonundaki azalmanın 59. güne kadar olan süreçte embriyonik ölüm oranında artış gözlenmiştir. Gebelik tanısı gebeliğin 31. gününe dayandırılarak yapılan gebelik değerlendirmesinde gebeliğin 24. gününde kan PAG konsantrasyonu ortalama  $3,06 \pm 0,49$  ng/mL iken, gebe olmayan ineklerde bu değer ortalama  $0,94 \pm 0,16$  ng/mL olarak belirlenmiş ve istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bulunmuştur ( $P < 0,05$ ). Gebeliğin 31 gününde maternal PAG konsantrasyonu tüm gebe ineklerde ( $n=80$ )  $9,06 \pm 4,48$  ng/mL ve P4 konsantrasyonu  $8,01 \pm 4,61$  ng/mL olarak saptanmıştır. Süt ineklerinde yapılan bir çalışmada gebelik devam ettiği süreçte PAG düzeylerinin P4 konsantrasyonlarıyla ilişkili olduğu bulunmuştur (Barbato ve ark. 2013). Sunulan çalışmada yüksek progesteron konsantrasyonundaki gebelik oranlarının daha yüksek düzeyde belirlenmesi embriyonun sağlıklı olarak canlılığını devam ettirmesi ve PAG salınımını artırmasına bağlanmaktadır. Gebeliğin 24 ve 31. günlerindeki kan P4 konsantrasyonu ile 31 ve 59. günlerinde embriyonik ölüm arasında bir bağlantı kurulamadı fakat gebeliğin 31. günü ile geç embriyonik ölüm arasında istatistiksel olarak önemli bir ilişki belirlendi ( $P < 0,05$ ) (Pohler ve ark. 2016b). Breukelman ve ark. (2012) geç embriyonik ölüm ile P4 konsantrasyonu arasında ilişki belirleyemediğini fakat embriyo canlılığı ile dolaşımdaki PAG konsantrasyonları arasında pozitif bir ilişki olduğunu göstermişlerdir. Starbuck ve ark. (2004) bu verilerin aksine sütçü ineklerde gebeliğin 5. haftasında P4 konsantrasyonu ile embriyo canlılığı arasında bir bağlantı tespit etmişlerdir. Sunulan çalışmada görülen embriyonik ölümler, daha önceki araştırmalarda bildirilen, gebeliğin 30. gününde pik yapan PAG konsantrasyonunun gebeliğin 50. gününde düşmesiyle bağlantılı olabileceği düşünülmektedir.

Suni tohumlamadan 32 gün sonra gebelik teşhis edilen ineklerde, daha sonra yapılan değerlendirmede embriyonik ölüm oranı %13 olarak tespit edilmiştir. Bu ineklerin bir tanesi hariç plazma PAG pozitif olarak belirlenirken, süt PAG düzeyi tüm ineklerde pozitif bulunmuştur (Ricci ve ark. 2015). Ancak başka bir çalışmada ise sütçü ineklerde suni tohumlamadan 30 gün sonra yapılan uygulamada, gebeliği devam eden ineklerin plazma PAG düzeyinin embriyonik ölüm gerçekleşen ineklere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (Thompson ve ark. 2010). Embriyonik



ölümlerin belirlenmesinde plazma ve süt PAG düzeyleri ultrasonografi ile yapılan teşhis ile karşılaştırıldığında 7-14 günlük bir gecikme olduğu görülmektedir (Ricci ve ark. 2015). Dolaşımdaki PAG'ın yarılanma ömründen dolayı, postpartum 60 gün öncesinde, gebelik tanısı uygulanan ineklerde, önceki gebelikten kalan PAG seviyeleri nedeniyle pozitif sonuçlar çıkabilir (Giordano ve ark. 2012). Bu bilgilere dayanarak PAG temelli kitleri üreten firmalar gebelik testlerini postpartum 60. günden sonra gebe kalan ineklerde uygulanmasını önermektedirler. PGF2 alfa ile gebeliği sonlandırılan ineklerde serum PAG seviyesinin yaklaşık 5-7 gün içerisinde bazal seviyeye düştüğü bildirilmektedir (Giordano ve ark. 2012).



## 5. SONUÇ

Sunulan tez çalışmasında aşağıdaki sonuçlara ulaşılmıştır;

- Çalışmada 30. günde yapılan testte serum ve tam kandaki sırasıyla sensitivite oranları %61,54 ve %50,0, spesifite oranı %79,17 ve %75,0 belirlendi. Yine 30. günde yapılan testte serum ve tam kandaki sırasıyla doğruluk oranı %70,0 ve %62,0, pozitif tanımlama %76,2 ve %68,4, negatif tanımlama %65,5 ve %58,1, yanlış pozitif %23,8 ve %31,6, yanlış negatif %34,5 ve %41,9 olarak belirlendi.
- Çalışmada 50. günde serum ve tam kanda sırasıyla sensitivite %63,64 ve %50,0 spesifite oranı ise hem serum hem de tam kanda %100,0, doğruluk oranı %75,0 ve %65,62 olarak tespit edildi.
- Gebe ineklerdeki progesteron düzeyi ortalama  $8,3\pm 3,2$  ng/mL iken gebe olmayan ineklerde  $2,5\pm 3,1$  ng/mL olarak belirlendi. Gebe ineklerde ırklar arasında istatistiksel olarak P4 değerleri bakımından bir fark bulunmadı. Yine 30. gün serum progesteron düzeyi 5 ng/mL'den yüksek olan ineklerde Fassisi® BoviPreg Test kiti uygulamaları ile daha yüksek gebelik oranları saptandı ( $P<0,001$ ).
- Simental ineklerin serumunda sensitivite oranlarının Brown Swiss ırkı ineklere göre daha yüksek olduğu belirlendi. Otuzuncu gün vücut kondüsyon skoru (VKS) 3 ve üzerinde olanların serumunda sensitivite oranı %83,33 ve VKS 3'ün altında olanlarda ise %12,50 olarak tespit edildi.
- Çalışmadaki 30. gün yapılan gebelik muayenesi sonrası 50. gün yapılan ultrasonografik görüntüleme ortaya konan embriyonik ölüm oranının %15,4 olduğu görüldü.
- Sonuç olarak; ineklerde gebeliğin 30 ve 50. günlerinde, gebelik tanısı amacıyla kullanılan Fassisi® BoviPreg test kitinden elde edilen bulgulara göre kan serumunda bu testi uygulamanın tam kana göre daha faydalı olabileceği ve 50.

gün hem tam kan hem de serum spesifite değerinin en güvenilir gösterge olduğu kanısına varıldı. Yine Simental ırkı ineklerde serumda yapılan testin sensitivite oranının daha yüksek olması, ırklar arasında test sonuçlarının farklılık gösterebileceğini düşündürdü. Ayrıca erken gebeliklerin tespitinde kullanılan Fassisi®BoviPreg test kiti ile ilgili daha detaylı çalışmaların yapılmasına ihtiyaç vardır.



## KAYNAKLAR

Alaçam E: Gebelik tanısı. In: Alaçam E (Editör). Theriogenology, Evcil Hayvanlarda Reprodüksiyon Suni Tohumlama, Obstetrik ve İnfertilite. Birinci Baskı, Ankara, Nurol Matbaacılık, 109-114, 1990.

Anonim. Ultrasound images. Bovine pregnancy at various stages of gestation. Farmtech Solutions. <https://www.farmtechsolutions.com/products/training-support/livestock-ultrasound-images>, Erişim tarihi: 01.08.2017.

Barbato O, Merlo M, Celi P, Sousa NM, Guarneri L, Beckers JF, Gabai G: Relationship between plasma progesterone and pregnancy-associated glycoprotein concentrations during early pregnancy in dairy cows. *Vet J*, 195: 385-387, 2013.

Baştan A, Özenç E, Macun HC, Acar, DB, Güngör Ö: Use of early conception factor test for determining pregnancy and embryonic mortality status of dairy cows. *Med Weter*, 63: 670-673, 2007.

Benesch F, Wright JC: Pregnancy and its detection. In: *Veterinary Obstetrics*, p: 28. Baltimore: Williams and Wilkins, 1951.

Breukelman SP, Perenyi Z, Taverne MA, Jonker H, van der Weijden GC, Vos PL, de Ruigh L, Dieleman SJ, Beckers JF, Szenci O: Characterisation of pregnancy losses after embryo transfer by measuring plasma progesterone and bovine pregnancy-associated glycoprotein-1 concentrations. *Vet J*, 194: 71-76, 2012.

Butler JE, Hamilton WC, Sasser RG, Ruder CA, Hass GM, Williams RJ. Detection and partial characterization of two bovine pregnancy-specific proteins. *Biol Reprod*, 26: 925-933, 1982.

Caraviello DZ, Weigel KA, Fricke PM, Wiltbank MC, Florent MJ, Cook NB, Nordlund KV, Zwald NR, Rawson CL: Survey of management practices on reproductive performance of dairy cattle on large us commercial farms. *J Dairy Sci*, 89: 4723-4735, 2006.

Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Lamb GC, Stevenson JS: Stage of cycle, incidence, and timing of ovulation, and pregnancy rates in dairy cattle after three timed breeding protocols. *J Dairy Sci*, 84: 1051-1059, 2001a.

Cartmill JA, El-Zarkouny SZ, Hensley BA, Rozell TG, Smith JF, Stevenson JS: An alternative AI breeding protocol for dairy cows exposed to elevated ambient temperatures before or after calving or both. *J Dairy Sci*, 84: 799-806, 2001b.

Clemente M, De La Fuente J, Fair T, Al Naib A, Gutierrez-Adan A, Roche JF, Rizos D, Lonergan P: Progesterone and conceptus elongation in cattle: A direct effect on the embryo or an indirect effect via the endometrium? *Reproduction*, 138: 507-517, 2009.

Commun L, Velek K, Barbry JB, Pun S, Rice A, Mestek A, Egli C, Leterme S: Detection of pregnancy-associated glycoproteins in milk and blood as a test for early pregnancy in dairy cows. *J Vet Diagn Invest*, 28: 207-213, 2016.

Cordoba MC, Sartori R, Fricke PM: Assessment of a commercially available early conception factor (ECF) test for determining pregnancy status of dairy cattle. *J Dairy Sci*, 84: 1884-1889, 2001.

Cowie AT: Pregnancy diagnosis tests: A review. *Commonwealth Agricultural Bureaux Joint*, 13: 11-17, 1948.

Curran S, Pierson RA, Ginther OJ: Ultrasonic appearance of the bovine conceptus from days 10 through 20. *J Am Vet Med Assoc*, 189: 1289-1294, 1986a.

Curran S, Pierson RA, Ginther OJ: Ultrasonic appearance of the bovine conceptus from 20 through 60 days. *J Am Vet Med Assoc*, 189: 1295-1302, 1986b.

Dinç DA: *Ultrason Fiziği ve İneklerde Reprodüktif Ultrasonografi*. ATAVET, Konya, 2008.

Edmonson AJ, Lean IJ, Weaver LD, Farver T, Webster G: A body condition scoring chart for Holstein dairy cows. *J Dairy Sci*, 72: 68-78, 1989.

Fan XG, Zhen ZQ: A study of early pregnancy factor activity in preimplantation. *Am J Reprod Immunol*, 37: 359-364, 1997.

Ferguson JD, and Galligan DT: The value of pregnancy diagnosis-A revisit to an old art. *Annual Conference and Symposia, Milwaukee, Theriogenology, WI. August 8-13, 2011.*

Fricke PM, Caraviello DZ, Weigel KA, Welle ML: Fertility of dairy cows after resynchronization of ovulation at three intervals following first timed insemination. *J Dairy Sci*, 86: 3941-3950, 2003.

Fricke PM, Ricci A, Giordano JO, Carvalho PD: Methods for and implementation of pregnancy diagnosis in dairy cows. 32: 165-180, 2016.

Fricke PM: Scanning the future-ultrasonography as a reproductive management tool for dairy cattle. *J Dairy Sci*, 85: 1918-1926, 2002.

Gabor G, Toth F, Ozsvari L, Abonyi-Toth Z, and Sasser RG: Early detection of pregnancy and embryonic loss in dairy cattle by ELISA tests. *Reprod Domest Anim*, 42: 633-636, 2007.

Galland JC, Offenbach LA, Spire MF: Measuring the time needed to confirm fetal age in beef heifers using ultrasonographic examination. *Vet Med*, 795-804, 1994.

Gandy B, Tucker W, Ryan P, Williams A, Tucker A, Moore A, Godfrey R, Willard S: Evaluation of the early conception factor (ECF<sup>TM</sup>) test for the detection of nonpregnancy in dairy cattle. *Theriogenology*, 56: 637-647, 2001.

Ginther OJ: *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Fundamentals*, Book 1. Cross Plains WI; Equiservices, 1995.

Ginther OJ: *Ultrasonic Imaging and Animal Reproduction: Cattle*. Book 3. Cross Plains WI; Equiservices, 1998.

Giordano JO, Fricke PM, Cabrera VE: Economics of resynchronization strategies including chemical tests to identify nonpregnant cows. *J Dairy Sci*, 96: 949-961, 2013.

Giordano JO, Guenther JN, Lopes GJr, and Fricke PM: Changes in plasma pregnancy-associated glycoprotein (PAG) pregnancy specific protein B (PSPB), and progesterone concentrations before and after induction of pregnancy loss in lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 95: 683-697, 2012.

Gröhn YT, Eicker SW, Ducrocq V, Hertl JA: The effect of disease on culling Holstein dairy cows in New York State. *J Dairy Sci*, 81: 966-978, 1998.

Huirne RBM, Saatkamp HW, Bergevoet RHM: Economic analysis of common health problems in dairy cattle. In: Kaske M, Scholz H, Höltershinken M (Eds.) 12<sup>th</sup> World Buiatrics Congress: 18-23 August Hannover, Germany. P. 420-431, 2002.

Humblot P: Use of pregnancy specific proteins and progesterone assays to monitor pregnancy and determine the timing, frequencies and sources of embryonic mortality in ruminants. *Theriogenology*, 56: 1417-1433, 2001.

Inchaisri C, Jorritsma R, Vos PLAM, Van der Weijden GC, Hogeveen H: Economic consequences of reproductive performance in dairy cattle. *Theriogenology*, 74: 835-846, 2010.

Jephcott S, Norman S: *Pregnancy diagnosis in cattle*. Eight Mile Plains, QLD: Australian Association of Cattle Veterinarians, 2004.

Karen A, Bajcsy AC, Minoia Rosa, Kovács R, De Sousa NM, Beckers JF, Tibold J, Mádl I, and Szenci O: Relationship of progesterone, bovine pregnancy-associated glycoprotein-1 and nitric oxide with late embryonic and early fetal mortalities in dairy cows. *J Reprod Dev*, 60: 162-167, 2014.

Karen A, De Sousa NM, Beckers JF, Bajcsy AC, Tibold J, Madl I, Szenci O: Comparison of a commercial bovine pregnancy-associated glycoprotein ELISA test and a pregnancy-associated glycoprotein radiomimmunoassay test for early pregnancy diagnosis in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*, 159: 31-37, 2015.

Koch E, Morton H, Ellendorf F: Early pregnancy factor: Biology and practical application. *Br Vet J*, 139: 52, 1983.

Laleh VG, Ghaffari Laleh R, Pirany N, Ahrabi MM: Measurement of EPF for detection of cow pregnancy using rosette inhibition test. *Theriogenology*, 70: 105-107, 2008.

Lamb GC: Reproductive real-time ultrasound technology: An application for improving calf crop in cattle operations. P: 235-253 in *Factors Affecting Calf Crop: Biotechnology of Reproduction*. M. J. Fields, R. S. Sand, and J. V. Yelich, ed. CRC Press, Boca Raton, FL, 2002.

LeBlanc SJ: Field evaluation of a pregnancy confirmation test using milk samples in dairy cows. *J Dairy Sci*, 96: 2345-2348, 2013.

Lobago F, Bekana M, Gustafsson H, Beckers JF, Yohannes G, Aster Y, and Kindahl H: Serum profiles of pregnancy-associated glycoprotein, oestrone sulphate and progesterone during gestation and some factors influencing the profiles in Ethiopian Borana and crossbred cattle. *Reprod Domest Anim*, 44: 685-692, 2009.

López-Gatius F, Garbayo JM, Santolaria P, Yaniz J, Ayad A, de Sousa NM, Beckers JF: 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. *Domest Anim Endocrinol*, 32: 29-42, 2007.

Lucy M, Green J, Poock S: Pregnancy determination in dattle: A review of available alternatives. *Proceedings, Applied Reproductive Strategies in Beef Cattle*. August 31 – September 1, Joplin, MO, 2011.

Martin SW, Meek AH, Willeberg P: Measurement of disease frequency and production. P: 62-76, *Veterinary Epidemiology: Principles and Methods*. 1st ed. Iowa State Univ Press, Ames, 1987.

Mercadante PM, Waters KM, Mercadante VRG, Lamb GC, Elzo MA, Johnson SE, Rae DO, Yelich JV, Ealy AD: Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle. *J Anim Sci*, 91: 3693-3701, 2014.

Mercadante PM, Waters KM, Mercadante VRG, Lamb GC, Elzo MA, Johnson SE, Rae DO, Yelich JV, Ealy AD: Subspecies differences in early fetal development and plasma pregnancy-associated glycoprotein concentrations in cattle. *J Anim Sci*, 91: 3693-3701, 2013.

Noordhuizen, JPTM, Frankena K, Thrusfield MV, and Graat EAM: Measurement of disease frequency. P: 63-82 in *Application of Quantitative Methods in Veterinary Epidemiology*. 2nd ed. Wageningen Pers, Wageningen, the Netherlands, 2001.

Ohnuma K, Ito K, Takahashi J, Nambo Y, Miyake YI: Partial purification of mare early pregnancy factor. *Am J Reprod Immunol*, 51: 95-101, 2004.

Piechotta M, Bollwein J, Friedrich M, Heilkenbrinker T, Passavant C, Branen J, Sasser G, Hoedemaker M, Bollwein H: Comparison of commercial ELISA blood tests for early pregnancy detection in dairy cows. *J Reprod Dev*, 57: 72-75, 2011.

Pieterse MC, Taverne MAM, Kruip AM, Willemse AH. Detection of corpora lutea and follicles in cows: A comparison of transvaginal ultrasonography and rectal palpation. *Vet Rec*, 126: 552-554, 1990.

Pohler KG, Geary TW, Johnson CL, Atkins JA, Jinks EM, Busch DC, Green JA, MacNeil MD, and Smith MF: Circulating bovine pregnancy associated glycoproteins are associated with late embryonic/fetal survival but not ovulatory follicle size in suckled beef cows. *J Anim Sci*, 91: 4158-4167, 2013.

Pohler KG, Peres RFG, Green JA, Graff H, Martins T, Vasconceles CLM, Smith MF: Use of bovine pregnancy-associated glycoprotein to predict late embryonic mortality in postpartum Nelore beef cows. *Theriogenology*, 85: 1652-1659, 2016a.

Pohler KG, Pereira MHC, Lopes FR, Lawrence JC, Keisler DH, Smith MF, Vasconcelos JLM, and Green JZ: Circulating concentrations of bovine pregnancy-associated glycoproteins and late embryonic mortality in lactating dairy herds. *J Dairy Sci*, 99: 1584-1594, 2016b.

Remnant JG, Green, MJ, Huxley JN, Hudson CD: Variation in the inter service intervals of dairy cows in the United Kingdom. *J Dairy Sci*, 98: 889-897, 2015.

Ricci A, Carvalho PD, Amundson MC, Fourdraine RH, Vincenti L, and Fricke PM: 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. *J Dairy Sci*, 98: 2502-2514, 2015.

Roberts SJ: Examinations for pregnancy. In *Veterinary obstetrics and genital diseases (Theriogenology)*, 3rd ed, p 14. Woodstock VT; published by the author, 1986.

Sakanju I, Enomoto S, Kamimura S, Hamana K: Monitoring bovine embryo viability with early pregnancy factor. *J Vet Med Sci*, 55: 271, 1993.

Senger PL. The estrus detection problem: New concepts, technologies, and possibilities. *J Dairy Sci*, 77: 2745-2753, 1994.

Silke V, Diskin MG, Kenny DA, Boland MP, Dillon P, Mee JF, and Sreenan JM: Extent, pattern and factors associated with late embryonic loss in dairy cows. *Anim Reprod Sci*, 71: 1-12, 2002.

Silva E, Sterry RA, Kolb D, Mathialagan N, Mc Grath MF, Ballam JM, Fricke PM: Effect of interval to resynchronization of ovulation on fertility of lactating Holstein cows when using transrectal ultrasonography or a pregnancy-associated glycoprotein enzyme-linked immunosorbent assay to diagnose pregnancy status. *J Dairy Sci*, 92: 3643-3650, 2009.

Sinedino LDP, Lima FS, Bisinotto RS, Cerri RLA, Santos JEP: Effect of early or late resynchronization based on different methods of pregnancy diagnosis on reproductive performance of dairy cows. *J Dairy Sci*, 97: 4932-4941, 2014.



Smith RD: Evaluation of diagnostic tests. In: *Veterinary Clinical Epidemiology: A Problem-Oriented Approach*. Butterworth-Heinemann, Stoneham, MA, pp: 29-34, 1991.

Starbuck MJ, Dailey RA, Inskeep EK: Factors affecting retention of early pregnancy in dairy cattle. *Anim Reprod Sci*, 84: 27-39, 2004.

Studer E: Early pregnancy diagnosis and fetal death. *VM, SAC*, 64, 7, 613-617, 1969.

Szenci O, Beckers JF, Humblot P, Sulon J, Sasser G, Taverne MAM, Varga J, Baltusen R, Schekk GY: Comparison of ultrasonography, bovine pregnancy-specific protein B, and bovine pregnancy-associated glycoprotein 1 tests for pregnancy detection in dairy cows. *Theriogenology*, 50: 77-88, 1998.

Telugu BP, Walker AM, Green JA: 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, 2009.

Thompson IM, Derri RL, Kim IH, Green JA, Santos JE, Thatcher WW: Effects of resynchronization programs on pregnancy per artificial insemination, progesterone, and pregnancy-associated glycoproteins in plasma of lactating dairy cows. *J Dairy Sci*, 93: 4006-4018, 2010.

Threlfall WH, Bilderbeck GM: Early conception factor (ECF) assay for nonconception determination in cattle. *Proc Soc for Therio Annual Meeting*, Baltimore, MD, p: 157, 1998.

Thurmond MC, Picanso JP: Fetal loss associated with palpation per rectum to diagnose pregnancy in cows. *J Am Vet Med Assoc*, 203: 432-435, 1993.

Zemjanis R: Pregnancy examination. In *Diagnostic and therapeutic techniques in animal reproduction*, 2nd ed, p: 29. Baltimore: Williams and Wilkins, 1970.

Zoli AP, Beckers JF, Ballman PW, Closset J, Falmagne P, Ectors F: Purification and Characterization of a Bovine Pregnancy-Associated Glycoprotein. *Biol Reprod*, 45: 1-10, 1991.

Zoli AP, Guilbault LA, Delahaut P, Ortiz WB, Beckers JF: Radioimmunoassay of a bovine pregnancy-associated glycoprotein in serum: its application for pregnancy diagnosis. *Biol Reprod*, 46: 83-92, 1992.

## ÖZGEÇMİŞ

Balıkesir’de 1985 yılında doğdum ve 2002 yılında Balya Atatürk Lisesinden mezun oldum. Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesinden 2008 yılında mezun oldum. Daha sonra ise 2011 yılında Kara Harp Okulu Subay Temel Askerlik ve Subaylık Anlayışı Kazandırma kursundan Veteriner Hekim Teğmen olarak mezun oldum. Aynı yıl üç ay süreyle Askeri Veteriner Okulu ve Eğitim Merkezi Komutanlığında Veteriner Hekim Subay stajını tamamladım. Askeri Veteriner Okulu Eğitim Merkezi Köpek Üretim ve Eğitim Taburu Köpek Eğitim Bölüğü Arama Kurtarma Takımı Komutanlığında Takım Komutanı ve öğretmeni olarak 2012-2014 yılları arasında çalıştım. Veteriner Hekim Üsteğmen rütbesine 2014 yılında terfi ettim. Dağ ve Komando Tugayı Köpek Eğitim ve Destek Müfreze Komutanlığında Müfreze Komutanı olarak 2014-2016 yılları arasında çalıştım. Halen 4. Mekanize Piyade Tugayı Gıda Kontrol Müfreze Komutanlığında Laboratuvar Kısım Amiri olarak çalışmaktayım. Evliyim ve orta derecede ingilizce bilmekteyim.